



Especialización en Mejoramiento Genético Vegetal

“Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano”

“Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires”

Bases genéticas y estrategias de mejoramiento para lograr resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* Westend. f. sp. tritici Eriks. (*Pst*)) en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.)

Trabajo final presentado para optar al título de

Especialista en Mejoramiento Genético Vegetal

Ariel M. Tuzinkievicz

Tutora

Gabriela Edith Tranquilli

Ingeniera Agrónoma. 1992. Facultad de Agronomía UBA. Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias. 2006. Facultad de Agronomía. UBA. Argentina.

Tutora

Gabriela Edith Tranquilli

Ingeniera Agrónoma. 1992. Facultad de Agronomía UBA. Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias. 2006. Facultad de Agronomía. UBA. Argentina.

Jurado del Trabajo Final

Fernanda Gabriela González

Ingeniera Agrónoma. 1998. Facultad de Agronomía UBA. Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias. 2005. Facultad de Agronomía. UBA. Argentina.

Patricio Javier Lo Valvo

Ingeniero Agrónomo. 2011. Facultad de Agronomía UBA. Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias. 2017. Facultad de Agronomía. UBA. Argentina.

Fecha de Defensa del Trabajo Final: **15/10/2024**

*“El pensamiento condiciona la acción, la acción determina el comportamiento,
el comportamiento repetido crea hábitos, el hábito estructura el carácter,
y el carácter moldea el destino”.*

Aristóteles (Αριστοτέλης): 384 a. C. - 322 a. C.

Con mucho afecto y cariño dedico esta Especialización a mi amada familia:

Boris, Caro y Estefi;

Carlitos[†], Anita, Pedrín y Darío;

Agustina, Annita, Iván y María;

Chango y Marilú

Agradecimientos

Con mucho afecto, orgullo y admiración agradezco enormemente a la Universidad de Buenos Aires y a las personas que han hecho posible poder realizar este posgrado: al Director de la Especialización en Mejoramiento Genético EPG FAUBA Dr. César Gabriel López y a la Codirectora Dra. María Elena Otegui muchas gracias por sus enseñanzas, por recibirme, guiarme y apoyarme en la EMGV; a mi orientadora quien gentilmente ha aceptado ayudarme para poder culminar mi Especialización con este trabajo, Dra. Gabriela Edith Tranquilli, muchas gracias por sus enseñanzas, apoyo y colaboración permanente en todo el proceso de escritura, realizando importantes sugerencias y aportes para que el trabajo sea lo mejor posible; a todos mis profesores de la EMGV EPG FAUBA, mi admiración y respeto a ellos, muchas gracias por todas sus enseñanzas, han sido excelentes; a todos mis compañeros de la EMGV EPG FAUBA muchas gracias por su amistad, cordialidad para estudiar y trabajar juntos, como así también por sus enseñanzas; muchas gracias a mi querida familia por apoyarme y alentarme en esta iniciativa; al jurado Ing. Agr. Dra. Fernanda Gabriela González e Ing. Agr. Dr. Patricio Javier Lo Valvo, por sus comentarios y sugerencias. Finalmente muchas gracias por aceptarme ser parte de esta institución y carrera a la EPG FAUBA “Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano. Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires”; al personal de las Secretarías Técnicas Romina Profumo, Ana Carolina González entre otros, a todos muchas gracias.

Contenido

Agradecimientos	V
Figuras.....	VIII
Tablas	VIII
Resumen.....	9
Abstract	10
1. Introducción	11
1.1. Situación de la roya amarilla del trigo en la región pampeana argentina.....	12
1.2. Objetivos	14
2. Metodología	14
3. Desarrollo de bases teóricas y Propuesta de plan de mejora	15
3.1. Taxonomía y huéspedes de <i>Pst</i>	15
3.2. Ambiente favorable para el desarrollo de <i>Pst</i>	15
3.3. Síntomas de <i>Pst</i>	16
3.4. Ciclo del patógeno <i>Pst</i>	16
3.4.1. Ciclo asexual de <i>Pst</i>	17
3.4.2. Ciclo sexual de <i>Pst</i>	17
3.5. Genética de las enfermedades de las plantas	19
3.5.1. Genética de la resistencia y patogenicidad	19
3.5.2. Resistencia verdadera	20
3.5.2.1. Resistencia vertical.....	21
3.5.2.2. Resistencia horizontal	22
3.5.3. Resistencia Aparente.....	23
3.5.3.1. Tolerancia.....	23
3.5.3.2. Escape	23
3.5.4. El concepto de gen por gen.....	24
3.6. Componentes importantes de la inmunidad de las plantas.....	29
3.6.1. Inmunidad activada por patrón (PTI).....	29
3.6.2. Susceptibilidad desencadenada por efectores (ETS)	30
3.6.3. Inmunidad activada por efectores (ETI)	30
3.6.4. El papel de la ROS durante la ETI.....	31
3.6.5. El modelo de zigzag considerado como un continuo (Thomma et al. 2011).....	32
3.6.6. Modelo de Invasión	33

3.7.	Mecanismos de resistencias a la roya amarilla (<i>Pst</i>).....	33
3.7.1.	Resistencia en todas las etapas (ASR).....	33
3.7.2.	Resistencia de plantas adultas (APR)	34
3.8.	El haustorio de <i>Pst</i>	35
3.8.1.	Producción y secreción de efectores dirigidos al citoplasma del huésped ...	36
3.8.2.	Caracterización funcional de los efectores patogénicos	36
3.8.3.	Efectores candidatos de <i>Pst</i>	37
3.8.3.1.	Efeutor candidato <i>PSTha5a23</i> (Cheng et al. 2017)	37
3.8.3.2.	Efeutor candidato <i>PstGSRE1</i> (Qi et al. 2019).....	38
3.8.3.3.	Uso de que la quitina y flg22 como inductores de la reacción inmune desencadenada por patrones moleculares (PTI) (Su et al. 2021).....	39
3.8.3.4.	Genes efectores haustoriales de <i>Pst</i> clonados (Su et al. 2021)	39
3.9.	Genes de resistencia para roya amarilla en trigo (<i>Yr</i>).....	39
3.10.	Avances sobre el entendimiento de las bases moleculares subyacentes a genes de resistencia <i>Yr</i>	40
3.11.	Caracterización de QTL que confiere resistencia a <i>Pst</i> en hojas de trigo.....	41
4.	Propuesta de un programa de mejoramiento genético para obtener resistencia a la roya amarilla de trigo (<i>Pst</i>) en Argentina. Métodos con hibridación y conducción de segregantes: Método genealógico o pedigree.	42
4.1.	Localización	42
4.2.	Objetivos	42
4.2.1.	Objetivos Generales.....	42
4.2.2.	Objetivos Específicos	42
4.3.	Fundamentos para la elección de los genes <i>Yr5 – Yr15 – Yr17 – Yr36</i>	42
4.4.	Recursos	43
4.5.	Características variedades susceptibles – resistentes	44
4.5.1.	Variedades susceptibles	44
4.5.2.	Variedades resistentes.....	44
4.6.	Metodologías	44
4.7.	Método genealógico o pedigree partiendo de híbridos simples	45
4.8.	Descripción del programa de cruzamientos y selección – Método genealógico o pedigree partiendo de híbridos simples	46
4.9.	Descripción de los ensayos en campo experimental	48
4.10.	Descripción de las pruebas de laboratorio y recursos empleados.....	50
4.11.	Discusión del Método Genealógico (Pedigree) propuesto	52

5. Discusiones y conclusiones finales	52
Bibliografía	54

Figuras

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Pst</i> (W. Chen et al. 2014; Bouvet et al. 2021)	18
Figura 2. Niveles de la resistencia horizontal y vertical de dos variedades vegetales a diez razas de un patógeno (Van Der Plank 1984; Agrios 2005)	22
Figura 3. Interacciones básicas de genes de avirulencia (A)/virulencia (a) de patógenos con genes de resistencia (R)/susceptibilidad (r) del huésped en una relación gen por gen y resultados finales de las interacciones (Agrios 2005)	26
Figura 4. Desarrollo de resistencia a enfermedades (Presello et al. 2021)	27
Figura 5. Modelo de zigzag propuesto por Jones y Dangl (2006)	32
Figura 6. Representación esquemática de las fases de desarrollo de la infección por <i>Pst</i> (Garnica et al. 2014).....	35
Figura 7. Modelo de supresión de la inmunidad del trigo por <i>Pst</i> GSRE1 asociada a ROS al interferir con la localización nuclear de TaLOL2 (Qi et al. 2019).....	38
Figura 8. Cruzamiento de líneas parentales seleccionadas y esquema de selección según método genealógico complementado con MAS	49
Figura 9. Diagrama - Marcadores Polimórficos (Collard et al. 2005)	50
Figura 10. Diagrama - Marcadores Polimórficos (dominantes – codominantes) (Collard et al. 2005).....	51

Tablas

Tabla 1. Comprobación cuadrática de combinaciones de genes y tipos de reacciones a enfermedades en un sistema huésped-patógeno en el que opera el concepto de gen por gen para un solo gen (Agrios 2005)	24
Tabla 2. Interacción complementaria de dos genes de resistencia del hospedante y los dos genes de virulencia correspondientes del patógeno y sus tipos de reacción a la enfermedad (Agrios 2005)	27
Tabla 3. Genes <i>Yr</i> – Cromosomas – Clase de Resistencia - Clonado	43
Tabla 4. Variedades de trigo argentino Susceptibles vs Resistentes.....	45
Tabla 5. Híbridos simples propuestos	46
Tabla 6. Genes de Resistencia <i>Yr5</i> , <i>Yr15</i> , <i>Yr17</i> y <i>Yr36</i> a <i>Pst</i> y Marcadores Moleculares (MASWheat 2023).....	51

Bases genéticas y estrategias de mejoramiento para lograr resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* Westend. f. sp. tritici Eriks. (*Pst*)) en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.)

Autor: Ariel M. Tuzinkievicz

Tutora: Dra. Gabriela Edith Tranquilli

Resumen

La roya amarilla o estriada, causada por el hongo patógeno *Puccinia striiformis* f. sp. tritici (*Pst*), es una enfermedad grave del trigo en el mundo. En Argentina, particularmente, esta enfermedad ha pasado de ser de frecuencia esporádica y de baja importancia relativa, a convertirse en una amenaza para el cultivo ya que su incidencia se ha acentuado desde 2014, debido a la severidad de las nuevas razas difundidas, la adaptabilidad de estas razas a un espectro mayor de condiciones ambientales, incrementando su área de difusión, y el alto nivel de susceptibilidad presente en el germoplasma argentino. Se ha comprobado que cultivares resistentes es el mejor enfoque para el control de la roya amarilla.

Para determinar los genes de resistencia a la roya amarilla en cultivares y líneas de mejoramiento de trigo se han realizado numerosos estudios que van desde el mapeo genético en poblaciones biparentales o multiparentales a estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) fenotipando para la respuesta de *Pst* en la etapa de plántula, utilizando razas específicas, y/o planta adulta bajo infección natural. De este modo se han identificado genes o QTL en líneas de mejoramiento y cultivares desarrollados por programas de mejoramiento. Entre ello, tanto el gen *Yr5* como el *Yr15* e *Yr46*, que son altamente resistentes a la gran mayoría de las razas de *Pst* identificadas en el mundo, se encontraron ausentes en ciertas líneas de mejoramiento y en los cultivares cultivados comercialmente. Los genes identificados o QTL y sus marcadores son útiles en los programas de mejoramiento para mejorar el nivel y la durabilidad de la resistencia a la roya amarilla.

En este trabajo se repasan aspectos vinculados al ciclo de vida de *Pst*, modos de dispersión, diversidad genética, interacción hospedante patógeno y la resistencia genética del trigo. Para ello se integraron en este ejercicio práctico, conocimientos adquiridos en los cursos realizados como parte de la Especialización en Mejoramiento Genético Vegetal. En base a antecedentes disponibles, se propone una estrategia de mejoramiento para lograr resistencia genética estable y durable a la roya amarilla en germoplasma de trigo argentino, combinando genes de resistencia cualitativa con genes de resistencia cuantitativa, a través de la introgresión de los genes *Yr5* – *Yr15* – *Yr17* – *Yr36*.

Palabras claves: QTL, genes *YR*, *Pst*, *Puccinia striiformis*, GWAS.

Genetic basis and breeding strategies to achieve resistance to yellow rust (*Puccinia striiformis* Westend. f. sp. tritici Eriks. (*Pst*)) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)

Author: Ariel M. Tuzinkievicz

Tutor: Dra. Gabriela Edith Tranquilli

Abstract

Yellow or striped rust, caused by the pathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. tritici (*Pst*), is a serious disease of wheat in the world. In Argentina, particularly, this disease has gone from being of sporadic frequency and of low relative importance, to becoming a threat to the crop since its incidence has increased since 2014, due to the severity of the new widespread breeds, the adaptability of these races to a greater spectrum of environmental conditions, increasing their area of diffusion, and the high level of susceptibility present in the Argentine germplasm. It has been proven that resistant cultivars are the best approach for yellow rust control.

To determine the genes for resistance to yellow rust in wheat cultivars and breeding lines, numerous studies have been carried out, ranging from genetic mapping in biparental or multiparental populations to genome-wide association studies (GWAS) phenotyping for the response of *Pst* at the seedling stage, using specific races, and/or adult plant under natural infection. In this way, genes or QTL have been identified in breeding lines and cultivars developed by breeding programs. Among them, both the *Yr5* gene, *Yr15* and *Yr46*, which are highly resistant to the vast majority of *Pst* races identified in the world, were found absent in certain breeding lines and in commercially grown cultivars. The identified genes or QTL and their markers are useful in breeding programs to improve the level and durability of resistance to yellow rust.

In this work, aspects related to the life cycle of *Pst*, modes of dispersal, genetic diversity, host-pathogen interaction and genetic resistance of wheat are reviewed. To this end, knowledge acquired in the courses taken as part of the Specialization in Plant Genetic Improvement was integrated into this practical exercise. Based on available background, a breeding strategy is proposed to achieve stable and durable genetic resistance to yellow rust in Argentine wheat germplasm, combining qualitative resistance genes with quantitative resistance genes, through the introgression of the *Yr5* *Yr15* – *Yr17* – *Yr36* – genes.

Keywords: QTL, YR genes, *Pst*, *Puccinia striiformis*, GWAS.

1. Introducción

La roya amarilla (estriada), causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), es una enfermedad grave del trigo que ocurre en la mayoría de las áreas de cultivo con condiciones climáticas frescas y húmedas durante la temporada de crecimiento. El hongo basidiomiceto es un parásito biotrófico obligado que es difícil de cultivar en medios artificiales. *Pst* es un hongo heteroico macrocíclico que requiere plantas hospedantes tanto primarias (trigo o pastos) como alternativas (*Berberis* o *Mahonia* spp.) para completar su ciclo de vida. Las Urediniosporas tienen la capacidad de dispersión por el viento a largas distancias, que pueden, bajo una alta presión de inóculo, extenderse a miles de kilómetros desde los sitios de infección inicial. La roya amarilla, que se considera la principal roya actual que afecta a la producción de cereales de invierno en todo el mundo, se ha estudiado intensamente durante más de un siglo (W. Chen et al. 2014). La infección por *Pst* se observa más comúnmente en las hojas de trigo, donde el daño resultante a los tejidos fotosintéticos conduce a una reducción de la intercepción de la luz y la eficiencia del uso de la radiación, lo que reduce los rendimientos. Sin embargo, la infección por *Pst* también puede tener lugar en las estructuras de la espiga de trigo, como las glumas, la lemma y la palea, particularmente durante epidemias moderadas a severas, lo que reduce el rendimiento y la calidad del grano (Bouvet et al. 2022; Cromeey 1989; Wellings 2003; Wellings 2009).

Wellings (1986) menciona que se encuentran referencias de las epidemias de roya en los Libros del Antiguo Testamento y en los escritos de los primeros eruditos (Large 1940). Las epidemias de roya notificadas en Inglaterra en 1725 y Suecia en 1794 pueden deberse a la roya amarilla (Chester 1946).

Se han producido epidemias recurrentes de *Pst* en la mayoría de las áreas de cultivo de trigo durante los últimos 60 años (Wellings 2011). Particularmente, en las últimas dos décadas se han visto el surgimiento global de poblaciones de *Pst* más agresivas y genéticamente diversas adaptadas a temperaturas más cálidas (Hovmøller et al. 2016; Hubbard et al. 2015; Milus et al. 2009). Entre ellas puede mencionarse la raza tipo Warrior (por ser virulenta sobre el cultivar con dicho nombre), que en Europa ocasionó pérdidas superiores al 50% de rendimiento en la mayoría de los genotipos de trigo (Singh et al. 2002; X. Chen 2005; Vergara-Díaza et al. 2015; Schwessinger 2017a; X. Chen y Kang 2017a; X. Chen y Kang 2017b; A. Wan et al. 2017; Lan et al. 2017; Carmona y Sautua 2018).

Las interacciones del patógeno *Pst* con plantas de trigo activan una amplia gama de respuestas del huésped. Entre varios genes involucrados en las interacciones planta-patógeno, las expresiones de genes de proteínas particulares relacionadas con la patogénesis (PR) determinan diferentes respuestas de defensa (estos conceptos se amplían en la sección 3.5). Se han reconocido y utilizado diferentes tipos de resistencia para desarrollar cultivares de trigo resistentes a la roya amarilla. Entre ellos, la resistencia en todas las etapas (ASR-por su sigla en inglés -“all stage resistance”) y la resistencia en planta adulta. La ASR se puede detectar en la etapa de plántula y permanece en niveles altos a lo largo de las etapas de crecimiento de la planta. Este tipo

de resistencia resulta efectiva frente a algunas razas del patógeno (resistencia raza-específica) y no es duradera. Por el contrario, las plantas que sólo tienen resistencia en estadio de planta adulta, y particularmente la del tipo inducible por alta temperatura (HTAP - del inglés High temperature adult-plant), son susceptibles en la etapa de plántula, pero se vuelven resistentes cuando las plantas crecen y el clima se vuelve más cálido. La resistencia del tipo HTAP controlada por un solo gen es parcial, pero por lo general no es específica de la raza y es duradera (Farrakh et al. 2018).

En consecuencia, frente al desafío que plantea la evolución de la población del patógeno, las estrategias de mejoramiento de resistencia a enfermedades que históricamente se han utilizado para controlar la roya amarilla, empleando los principales genes de resistencia por separado, ya no son efectivos. Además, las estrategias de reproducción están comenzando a cambiar, requiriendo así fuentes adicionales de resistencia genética que, junto con herramientas genómicas y moleculares adecuadas, están ayudando al desarrollo de variedades de trigo resilientes (Bouvet 2019; Jamil et al. 2020).

1.1. Situación de la roya amarilla del trigo en la región pampeana argentina

En Argentina, la primera epidemia de la roya amarilla o estriada que generó importantes daños y pérdidas y obligó a sustituir a los cultivares de trigo de la época, se registró alrededor de los años 1928-1930 causando daños de alrededor de 2.000.000 toneladas (Lindquist 1982; Carmona y Sautua 2018).

Por otra parte, la ocurrencia epidemiológica de la roya amarilla causada por *P. striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), fue siempre esporádica y recluida a regiones con temperaturas medias más bajas, como el Sudeste de la provincia de Buenos Aires, considerándose así Argentina como zona “marginamente favorable” para la presencia de la enfermedad. Pero por la difusión de variedades de trigo susceptibles, el surgimiento espontáneo de nuevas razas virulentas de *Pst*, y el cambio climático, a partir de la campaña 2017/2018 se han ido registrando epifitias en variedades susceptibles. Actualmente las epifitias se registran en el Sur de Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos y norte de Buenos Aires (Carmona y Sautua 2018). Anualmente se realiza el monitoreo de razas presentes, relevando cultivos desde la zona de Reconquista (Santa Fe) hasta el sur de la provincia de Buenos Aires. La caracterización molecular de un conjunto de aislamientos colectados durante 2017, reveló que las razas presentes pudieron clasificarse en dos grupos, según el nivel de virulencia. Un grupo se correspondió con razas tipo Warrior (aproximadamente un 30% de las muestras) y el otro grupo incluyó razas menos virulentas. Estas observaciones determinan que la roya amarilla sea una amenaza para el cultivo de trigo, en sintonía con lo que ocurre a nivel mundial (Campos et al. 2016; Campos 2017; Campos 2019).

Debido a las condiciones que favorecen en gran parte la ocurrencia epidemiológica entre las que podemos considerar gran capacidad migratoria a grandes distancias (entre continentes), considerable variabilidad y diversidad genética, altas

tasas de mutación de razas avirulentas hacia virulentas, especial adaptación a diferentes ambientes agroecológicos, conjuntamente con los significativos daños (kg/ha) y pérdidas (u\$/ha) que ocasiona, la roya amarilla o estriada es actualmente el principal desafío fitosanitario del cultivo de trigo a nivel mundial (Schwessinger 2017a; Carmona y Sautua 2018).

Según McIntosh et al. (2013) el Catálogo de símbolos genéticos para el trigo y el Suplemento de 2020 (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/wgc>), actualmente hay 83 genes *Yr* designados oficialmente para la resistencia a la roya amarilla y 42 designados temporalmente. Muchos de estos genes se han introducido en variedades de trigo, de parientes del trigo y especies exóticas. Sin embargo, la mayoría de ellos ya son ineficaces contra las nuevas razas *Pst* que aparecieron en los últimos años. Además, se han llevado a cabo numerosos estudios de loci de rasgos cuantitativos (QTL, del inglés Quantitative Traits Loci) identificando > 350 QTL hasta el momento. Sin embargo, la mayoría de los estudios de investigación anteriores se basaron en métodos de mapeo clásicos que son costosos, se caracterizan por una baja resolución en la detección de QTL y restringen la cantidad de alelos muestreados por locus en cada población, lo que dificulta el examen de toda la gama de diversidad genética disponible en el cultivo. De esta forma, considerando que *Pst* constituye una gran amenaza en la región triguera argentina, la identificación y caracterización de nuevas fuentes de resistencia a las razas locales se han vuelto fundamentales para mejorar la resistencia duradera a esta enfermedad (Franco et al. 2022).

Franco et al. (2022) realizaron un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) utilizando una colección de 245 líneas de trigo harinero genotipadas con 90 K SNP, con el fin de identificar loci que confieren resistencia a las razas locales de *Pst* para su utilización efectiva en futuros programas de mejoramiento. En ensayos de campo durante dos años bajo condiciones naturales de infección se evaluó el panel para la severidad de la enfermedad (DS) y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) para buscar la resistencia de las plantas adultas (APR). En tanto que para evaluar la resistencia en plántulas o en todas las etapas (ASR), se evaluó el panel para determinar el tipo de infección (IT) en condiciones de invernadero contra dos razas prevalentes en Argentina. De acuerdo a los datos fenotípicos se concluyó que el panel poseía suficiente variabilidad genética para buscar fuentes de resistencia a *Pst* observando correlaciones significativas entre años para la respuesta de *Pst* en el campo y con altos valores de heredabilidad para DS ($H^2 = 0.89$) y AUDPC ($H^2 = 0.93$). Con base en GWAS, se identificaron ocho marcadores asociados con la resistencia a *Pst* ($FDR < 0.01$), de estos, cinco estaban asociados con ASR (en los cromosomas 1B, 2A, 3A y 5B) y tres con APR (en los cromosomas 3B y 7A). Estos marcadores explicaron entre el 2% y el 32,62% de la variación fenotípica. Cinco de los marcadores se correspondían con los genes *Yr*/QTL informados anteriormente, mientras que los otros tres (QYr.Bce.1B.sd.1, QYr.Bce.3A.sd y QYr.Bce.3B.APR.2) podrían indicar una nueva resistencia. Estos resultados sumados a la identificación de nuevos loci de resistencia

representaría un avance sustancial para diversificar el conjunto actual de genes de resistencia y avanzar en la mejora de la resistencia duradera a la enfermedad.

1.2. Objetivos

En este trabajo se plantea comprender el ciclo de vida de *Pst*, los modos de dispersión, diversidad genética y la resistencia genética del trigo.

Se busca además identificar variedades en las que se ha reportado resistencia a *Pst* y conocer la diversidad de genes de resistencia descritos en el germoplasma y que podría incorporarse a los programas de mejoramiento.

Proponer un posible plan de mejora, basando este ejercicio práctico en los conocimientos teóricos abordados en los objetivos previos, más los adquiridos en los cursos realizados como parte de la Especialización en Mejoramiento Genético Vegetal y en el planteo del problema presente en programas de mejoramiento.

2. Metodología

La metodología del presente trabajo se basó en un proceso de investigación bibliográfica a partir de una revisión de publicaciones científicas actualizadas en sitios web como google, google académico, recuperando artículos científicos, libros, revistas de divulgación o de investigación científica, tesis de doctorados. El motor de búsqueda se centró exclusivamente en la roya amarilla (*Puccinia striiformis* Westend. f. sp. *tritici* Eriks. (*Pst*.) en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) y los aspectos relacionados a la genética de la enfermedad desde el punto de vista interacción hospedante – patógeno.

3. Desarrollo de bases teóricas y Propuesta de plan de mejora

3.1. Taxonomía y huéspedes de *Pst*

El patógeno de la roya amarilla, *P. striiformis* Westend f. sp. *tritici* Erikss. (*Pst*), se clasifica en el reino Fungi, phylum Basidiomycota, clase Urediniomycetes, orden Uredinales, familia Pucciniaceae, género *Puccinia*. *Pst* se separa por debajo del nivel de especie por la especialización del huésped en varios géneros de gramíneas, que comprende hasta nueve formas especiales, de las cuales *P. striiformis* f. sp. *tritici* Erikss. (*Pst*) causa la roya amarilla o estriada en el trigo. Gama de huéspedes: Huéspedes Uredinial/telial: *Pst* infecta principalmente trigo blando (*Triticum aestivum* L.), trigo duro (*T. turgidum* var. *durum* L.), trigo emmer cultivado (*T. dicoccum* Schrank), trigo emmer salvaje (*T. dicoccoides* Korn) y triticale (Triticosecale). *Pst* puede infectar ciertas cebadas cultivadas (*Hordeum vulgare* L.) y centeno (*Secale cereale* L.), pero generalmente no causa epidemias graves (W. Chen et al. 2014).

Además, *Pst* puede infectar especies de gramíneas de pasto mejoradas y naturalizadas, como *Elymus canadensis* L., *Leymus secalinus* Hochst, *Agropyron* spp. Garetn, *Hordeum* spp. L., *Phalaris* spp. L y *Bromus unioloides* Kunth. Huéspedes picniales/aeciales (alternativos): Agracejo (*Berberis chinensis*, *B. koreana*, *B. holstii*, *B. vulgaris*, *B. shensiana*, *B. potaninii*, *B. dolichobotrys*, *B. heteropoda*, etc.) y uva de Oregón (*Mahonia aquifolium*) (W. Chen et al. 2014).

3.2. Ambiente favorable para el desarrollo de *Pst*

De acuerdo a Wellings (1986) la incidencia de la roya amarilla en áreas de cultivo de trigo del mundo está correlacionada con las condiciones ambientales prevalecientes, particularmente con temperaturas medias inferiores a 20°C y abundante humedad. Por lo tanto, esta enfermedad se considera de gran importancia en el norte de Europa (Zadoks 1979), la región andina de América del Sur (Stakman y Harrar 1957), las provincias del norte y noroeste de China (Johnson y Beemer 1977), en colinas y llanuras del norte de la India (Joshi et al. 1976), Pakistán (Hassan et al. 1979) y Japón (Leonard y Martin 1967). En áreas donde el clima es muy variable, la incidencia estacional de la roya amarilla parece ser más esporádica. Tales áreas incluyen las áreas trigueras del oeste de América del Norte (Leonard y Martin 1967) que se extienden desde California hasta el estado de Washington, y en el norte de Canadá y Alaska (Stakman y Harrar 1957). Los climas mediterráneos tradicionalmente secos, como los experimentados en África del Norte, Egipto y otros países del Cercano Oriente, han sido propicios para la ocurrencia de epidemias de roya amarilla en cultivos de regadío cultivados en invierno (Zadoks 1979). No obstante, este escenario está cambiando dada la presencia de nuevas razas adaptadas a ambientes con mayores temperaturas medias. Se han detectados cambios manifestados por la tolerancia del patógeno a temperaturas más elevadas (mayores de 25 °C) y una capacidad para esporular en un periodo de tiempo más corto. Esto ha determinado que las mayores epidemias se han presentado en

zonas más cálidas, con temperaturas de 12 a 28 °C, donde la enfermedad se consideraba ausente o sin importancia (Hovmøller et al. 2011; Rodríguez-García et al. 2019).

3.3. Síntomas de *Pst*

La roya amarilla aparece como una masa de urediniosporas de color amarillo a naranja que emergen de pústulas dispuestas en franjas largas y estrechas en las hojas (generalmente entre las nervaduras), vainas de las hojas, glumas y aristas en plantas susceptibles. Los cultivares de trigo resistentes se caracterizan por varios tipos de infección, desde la ausencia de síntomas visuales hasta pequeñas manchas hipersensibles y uredinios rodeados de clorosis o necrosis con producción restringida de urediniosporas. En las plántulas, los uredinios producidos por la infección de una sola urediniospora no están confinados por las nervaduras de las hojas, sino que emergen progresivamente del sitio de infección en todas las direcciones, cubriendo potencialmente toda la superficie de la hoja. Las pústulas urediniales individuales son oblongas, de 0,4 a 0,7 mm de largo y 0,1 mm de ancho. Las urediniosporas son ampliamente elipsoidales a ampliamente ovoides, $(16-18-30(-32) \times (15-17-27(-28)) \mu\text{m}$, con una media de $24,5 \times 21,6 \mu\text{m}$, de color amarillo a naranja, equinulado, y con 6–18 poros germinales dispersos. Las urediniosporas pueden germinar rápidamente cuando hay humedad libre (lluvia o rocío) en la superficie de las hojas y cuando la temperatura oscila entre 7 y 12 °C. A temperaturas más altas o durante las últimas etapas de crecimiento del hospedante, a menudo se producen telios negros, que son pulvinados a oblongos, de 0,2 a 0,7 mm de largo y 0,1 mm de ancho. Las teliosporas son predominantemente bicelulares, de color marrón oscuro con paredes gruesas, en su mayoría oblongas-clavadas, $(24-31-56(-65) \times (11-14-25(-29)) \mu\text{m}$ de largo y ancho, y redondeadas o aplanado en el ápice (W. Chen et al. 2014).

3.4. Ciclo del patógeno *Pst*

Las royas son biótroficas, es decir, utilizando la maquinaria fotosintética de la planta huésped para cumplir con sus requisitos dietéticos, pueden crecer y reproducirse en la naturaleza sólo en huéspedes vivos, y se les llama parásitos obligados. Los parásitos obligados (biótrofos) pueden crecer solo en asociación con células vivas, siendo incapaces de alimentarse de células muertas. El micelio crece en contacto con las células y los cuerpos reproductores (esporas) del hongo se producen en la superficie de los tejidos del huésped o muy cerca de la misma para asegurar su diseminación rápida y eficiente (Agrios 2005; X. Chen 2020; Jamil et al. 2020).

Pst completa su ciclo de vida en dos especies huésped diferentes y no relacionadas, es decir, trigo y *Berberis spp.*. Las dos etapas amplias del ciclo de vida de *Pst* se clasifican como: (1) la etapa asexual, que ocurre en el trigo (el huésped principal), y (2) la etapa sexual que ocurre en la especie *Berberis* (el huésped alternativo) (Figura 1). Tres de cinco etapas diferentes en el ciclo de vida de *Pst*, es decir, la fase uredial, telial y basidial, se completan en un huésped primario (trigo),

mientras que las fases picnial y aecial necesita un huésped alternativo (Jie Zhao et al. 2016; Bouvet et al. 2021; X. Chen 2020; Jamil et al. 2020).

3.4.1. Ciclo asexual de *Pst*

En el trigo, la enfermedad causada por *Pst* ocurre durante la etapa asexual del ciclo de vida de *Pst* y es causada por múltiples ciclos de urediniosporas dicarióticas (es decir, dos núcleos en cada célula: $n + n$) que reinfectan al hospedador primario a través de la dispersión por el viento. Durante la etapa inicial de la infección del trigo, las urediniosporas germinan en la superficie de la hoja y eventualmente forman un apresorio desde el cual se desarrollan las hifas y entran al tejido de la hoja a través de los estomas. Las hifas en crecimiento se convierten en una red densa que se extiende entre y dentro de las células mesófilas del huésped. Dentro de esta red, se formarán estructuras de infección por haustorios y se desarrollarán específicamente en las paredes de las células del huésped para extraer nutrientes (Figura 6) (Szabo y Bushnell 2001; Bouvet et al. 2021). En las hojas de las plantas maduras susceptibles, los síntomas de la enfermedad serán visibles entre 12 y 14 días después de la infección y consisten en urediniosporas de color amarillo a naranja que brotan de las pústulas dispuestas en franjas características que siguen las nervaduras del limbo, lo que puede conducir a rondas sucesivas de infecciones secundarias (W. Chen et al. 2014; Bouvet et al. 2021). En las variedades resistentes a levemente susceptibles, los síntomas variarán desde manchas sin esporulación (un signo de hipersensibilidad) hasta parches necróticos y cloróticos sin esporulación o con esporulación limitada. Hacia el final de la temporada de crecimiento del trigo, algunos aislamientos pueden producir teliosporas diploides a través de la cariogamia. Estos germinan fácilmente para producir un promicelio de cuatro células, con la meiosis posteriormente dando como resultado un solo núcleo haploide que forma una basidiospora capaz de infectar al huésped alternativo (Figura 1) (W. Chen et al. 2014; Bouvet et al. 2021).

3.4.2. Ciclo sexual de *Pst*

Si bien el conocimiento sobre la etapa sexual es menor, durante mucho tiempo se especuló que las especies de *Berberis* sustentaban el ciclo de vida sexual de *Pst*, así como las especies de roya relacionadas, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (agente causal de la roya del tallo) (Straib 1937; Hart y Becker 1939; Bouvet et al. 2021). Históricamente, esto resultó en esfuerzos para erradicar especies de *Berberis* en muchos países europeos y norteamericanos (Barnes et al. 2020; Bouvet et al. 2021). Sin embargo, no fue sino hasta 2010 que se confirmó formalmente que la especie *Berberis* sustentaba el desarrollo de *Pst* pycnia y aecia (Jin et al. 2010; Bouvet et al. 2021). Curiosamente, las especies de *Berberis* infectadas con *Pst* rara vez se observan en la naturaleza (J. Zhao et al. 2011; J. Zhao et al. 2013; Bouvet et al. 2021). Esto puede deberse a la dificultad de encontrar un ambiente que ajuste simultáneamente la germinación de teliosporas (parte de la etapa asexual; encerradas en telia que se forman en hojas de trigo hacia el

final de la temporada de infección y producen basidiosporas) y basidiosporas (parte de la etapa sexual que se desarrolla en las hojas de agracejo y que requiere rocío para la germinación), los cuales tienen una viabilidad corta (M. Wang y Chen 2015; Bouvet et al. 2021). Un estudio reciente mostró que las especies de *Berberis* no desempeñan un papel en las epidemias de *Pst* en el noroeste del Pacífico de USA, y se identificó un huésped alternativo adicional, *Mahonia aquifolium* (uva de Oregón) (M. Wang y Chen 2013; M. Wang y Chen 2015; Bouvet et al. 2021). La principal importancia de la etapa *Pst* sexual para la infección del trigo es la generación de combinaciones novedosas de variación genética permanente, lo que da como resultado nuevos aislados genéticamente recombinados que pueden causar epidemias generalizadas y cambios rápidos en los perfiles de resistencia del trigo (Figura 1) (Bouvet et al. 2021).

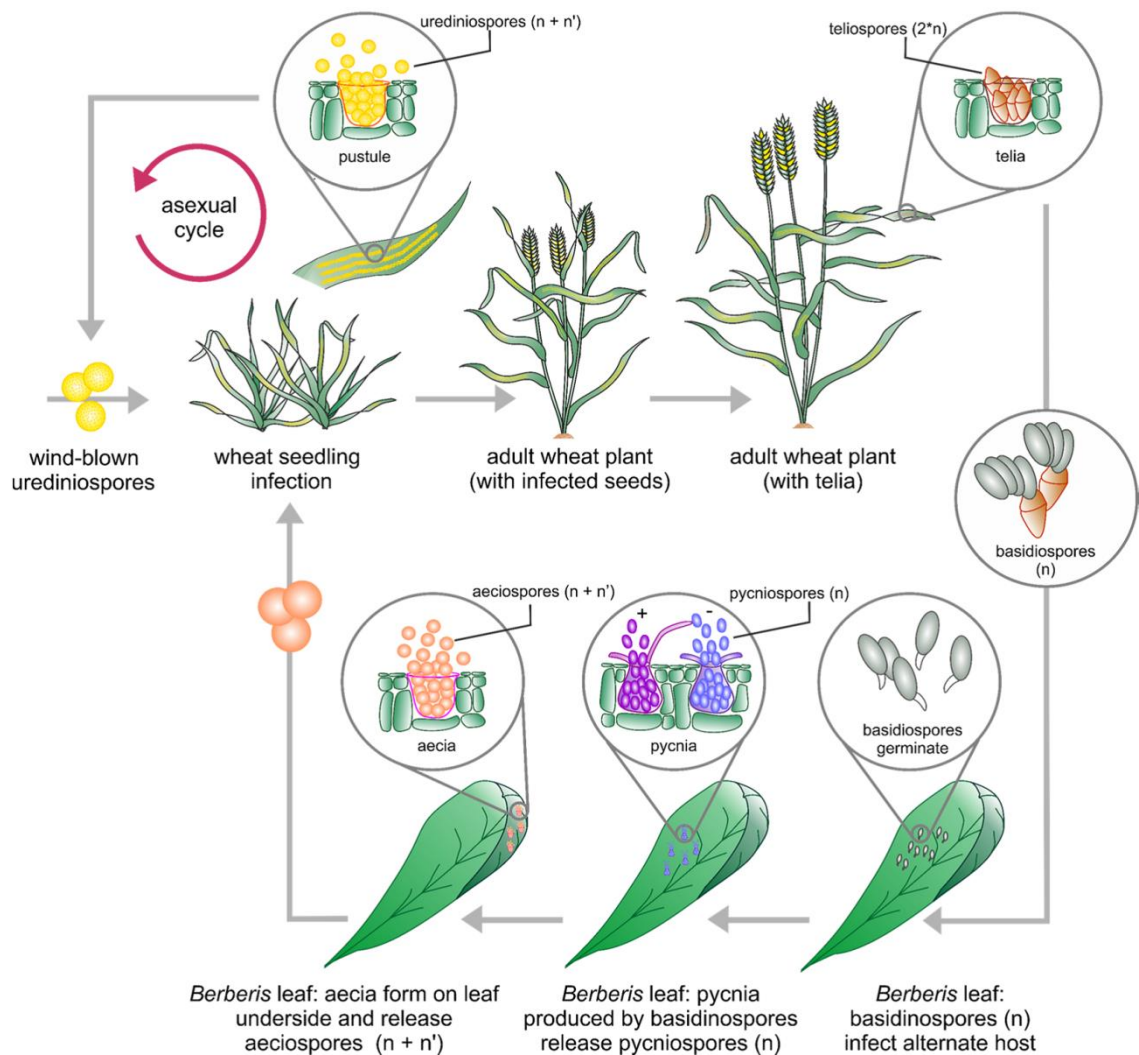


Figura 1. Ciclo de vida de *Pst* (W. Chen et al. 2014; Bouvet et al. 2021)

Diagrama que ilustra las características principales del ciclo de vida de *Pst*. Arriba a la izquierda: las plantas de trigo pueden ser infectadas por (i) urediniosporas dicarióticas dihaploides unicelulares arrastradas por el viento (que contienen una copia del genoma haploide en cada uno de los dos núcleos dentro de la célula: $n + n'$) producidas en el trigo, o (ii) por aeciosporas ($n + n'$) producidas en el huésped alternativo (*Berberis* spp.). La infección por roya amarilla generalmente se observa en la superficie superior de la hoja caliente como filas paralelas de pústulas de color amarillo a naranja que liberan

urediniosporas, lo que resulta en ciclos de reinfección e infección cruzada en el trigo. Parte superior central: al emerger la espiga, puede ocurrir una infección por roya amarilla en espiguillas de la espiga de trigo. Arriba a la derecha: hacia el final de la temporada de trigo, se puede formar telia en la parte inferior de la epidermis, a partir de la cual se producen teliosporas bicelulares diploides doblemente haploides ($2n$) por cariogamia. Las teliosporas germinan fácilmente para producir basidiosporas haploides. Abajo a la derecha: las basidiosporas germinan e infectan las hojas del huésped alternativo. Centro inferior: la infección por basidiosporas conduce a la producción de picnias, normalmente en la parte superior de las hojas, que liberan picniosporas haploides. La fusión de picniosporas con la hifa receptiva de una picnia compatible de tipo de apareamiento conduce a la dicarionización y al desarrollo de aecia en la parte inferior de la hoja. Abajo a la izquierda: Aecia libera aeciosporas vegetativas ($n + n'$) que solo pueden infectar a las especies huésped primarias (predominantemente trigo) (W. Chen et al. 2014; Bouvet et al. 2021).

3.5. Genética de las enfermedades de las plantas

El logro del control genético de la infección de la roya amarilla ha sido el objetivo de los grupos europeos de mejoramiento de trigo desde principios del siglo XX, pero debido a los rápidos ajustes de las poblaciones de patógenos, la resistencia del huésped no se ha mantenido efectiva cuando se basa en genes únicos (resistencia vertical) o en combinaciones de genes simples lo que ha llevado a la búsqueda de resistencias que sigan siendo eficaces contra todas las razas, es decir, la resistencia horizontal (Van Der Plank 1963; T. Johnson et al. 1967; Wellings 1986). Por otra parte Johnson (1978) citado por Wellings (1986) propuso el concepto de resistencia duradera para describir la resistencia que se ha mantenido efectiva después de haber estado ampliamente expuesta a poblaciones de patógenos durante períodos de tiempo considerables.

3.5.1. Genética de la resistencia y patogenicidad

Actualmente reconocemos que existen distintos tipos de resistencias. En este sentido, las plantas pueden ser resistentes a ciertos patógenos por pertenecer a grupos taxonómicos que están fuera del rango de hospedantes de estos patógenos (resistencia no hospedante), por poseer genes de resistencia dirigidos contra los genes de avirulencia del patógeno (resistencia verdadera), o porque, por diversas razones, las plantas escapan o toleran la infección por estos patógenos (resistencia aparente) (Agrios 2005).

Como antecedentes Biffen (1905) informó que la resistencia de dos variedades de trigo a una raza de roya se transmitía a su descendencia en forma mendeliana. Posteriormente Orton en 1909 a partir de sus investigaciones en las respuestas de algodón, sandía y caupí frente al marchitamiento causado por *Fusarium*, distinguió entre el escape de la enfermedad y la resistencia a la enfermedad (tolerancia) (Orton 1909, como se citó en Agrios 2005).

Barrus (1911) y Stakman (1914) ayudaron a explicar por qué una variedad cambiaba su resistencia a de año a año o en diferentes áreas geográficas. Por un lado Barrus en 1911 logró demostrar que dentro de las especies de patógenos existe

variabilidad genética, llamadas razas de un mismo patógeno, vinculadas a ciertas variedades de una especie de hospedante. Y en 1914 Stakman encontró que dentro de una especie de patógeno existen razas fisiológicas morfológicamente idénticas pero que difieren en su capacidad para infectar a diferentes variedades de un mismo hospedante, siendo esto lo que explica la variación en la resistencia / susceptibilidad (Agrios 2005).

La genética de la resistencia y la susceptibilidad a las enfermedades permaneció sin aclarar hasta 1946 cuando Flor, trabajando con la roya del lino, entendió que el tipo de infección era la resultante de la interacción entre genes presentes en el hospedante y genes presentes en patógeno. Así, demostró que para cada gen de resistencia en el huésped había un gen correspondiente de avirulencia en el patógeno y para cada gen de virulencia en el patógeno había un gen de susceptibilidad en la planta huésped (una relación gen por gen) (Flor 1971; Agrios 2005).

Van Der Plank (1963) sugirió que existen dos tipos de resistencia: una, conocida como resistencia vertical, está controlada por unos pocos genes de resistencia "principales" y es fuerte pero efectiva solo contra algunas razas del patógeno, y la otra, conocida como resistencia horizontal, está determinada por muchos genes de resistencia "menores" y es más débil pero es eficaz contra todas las razas de una especie de patógeno (Agrios 2005).

La patogenicidad es la capacidad del patógeno para iniciar una enfermedad, y conforme a Van Der Plank (1969) puede ser clasificada en dos clases: virulencia y agresividad. El término «virulencia» hace referencia a las razas del patógeno específicas para un cultivar, mientras que «agresividad» describe la capacidad del patógeno para infectar cualquier cultivar. Por otra parte de acuerdo a Van Der Plank (1969), hablamos de virulencia cuando hay razas del patógeno capaces de infectar unos cultivares y otros no. En cambio, cuando una cepa del patógeno ataca a todos los cultivares hablamos de agresividad. Además Van Der Plank (1969) sostiene que virulencia y agresividad están negativamente correlacionadas, lo que significa que la especialización de una raza patogénica para infectar con gran éxito un determinado cultivar disminuye la capacidad para infectar otros cultivares y sobrevivir. Por otra parte, un patógeno capaz de infectar todos los cultivares tiene mayores chances de sobrevivir, pero, en general, menores probabilidades de infectar con éxito cada cultivar individualmente (Burbano-Figueroa 2020).

3.5.2. Resistencia verdadera

La resistencia a enfermedades que está controlada genéticamente por la presencia de uno, unos pocos o muchos genes de resistencia en la planta se conoce como resistencia verdadera. En la resistencia verdadera, el huésped y el patógeno son más o menos incompatibles entre sí, ya sea por la falta de reconocimiento químico entre el huésped y el patógeno o porque la planta hospedante se defiende a sí misma del patógeno mediante los diferentes mecanismos de defensa que ya tiene, o activados, en

respuesta a la infección, por el patógeno. Hay dos tipos de resistencia verdadera: parcial, también llamada resistencia cuantitativa, poligénica u horizontal, y resistencia asociada a genes R, resistencia de genes mayores, resistencia cualitativa, también llamada resistencia raza-específica, resistencia mediada por reacción de hipersensibilidad, monogénica o vertical (Parlevliet y Zadoks 1977; Nelson 1978; Poland et al. 2009; Van Der Plank 1963; Agrios 2005; Burbano-Figueroa 2020).

En el estudio de *Pst* los genes mayores de resistencia a roya amarilla generalmente se nombran con las letras *Yr* (del inglés Yellow rust, que significa roya amarilla) y un número. A medida que se van conociendo nuevos genes se van añadiendo cifras a los nombres. Así, existen los genes *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, etc. (RICA 2022).

3.5.2.1. Resistencia vertical

En la resistencia vertical muchas variedades vegetales son bastante resistentes a algunas razas de un patógeno pero, en cambio son susceptibles a otras razas del mismo. En otras palabras, dependiendo de la raza del patógeno utilizada para infectar a una variedad vegetal, ésta puede ser resistente a una raza de patógeno y susceptible a otra. Este tipo de resistencia en las plantas permite diferenciar claramente entre las razas de un patógeno, ya que es efectiva contra ciertas razas específicas del mismo e ineficaz contra otras (Agrios 2005).

La resistencia vertical por lo general se controla por uno o algunos genes (de ahí el nombre de resistencia monogénica u oligogénica) (Figura 2). Al parecer, estos genes controlan una etapa importante de la interacción que se establece entre el patógeno y la planta hospedante y, por tanto, tienen una función importante en la expresión de la resistencia vertical (resistencia de genes mayores). En presencia de la resistencia vertical, el hospedante y el patógeno al parecer son incompatibles y el primero generalmente responde desarrollando una reacción de hipersensibilidad y, de esta forma, el patógeno no puede establecerse ni multiplicarse en la planta hospedante. En general, la resistencia vertical inhibe el establecimiento inicial del patógeno que llega al campo proveniente de plantas hospedantes que carecen de (o tienen) genes mayores distintos que confieren resistencia a la planta. La resistencia vertical inhibe el desarrollo de epifitias al limitar el inoculo inicial (Agrios 2005).

La resistencia completa puede ser suministrada por un solo gen, como por ejemplo *R1*, *R2* o *R3*, pero también es posible que más de un gen para la resistencia estén combinados (*R1R2*, *R1R3*, *R1R2R3*) en la misma planta, la cual entonces es resistente a todas las razas del patógeno a las que cada uno de los genes proporciona resistencia. Una especie vegetal puede tener entre 20 y 40 genes de resistencia contra un determinado patógeno, aunque cada variedad puede tener tan sólo uno o algunos de esos genes (Agrios 2005).

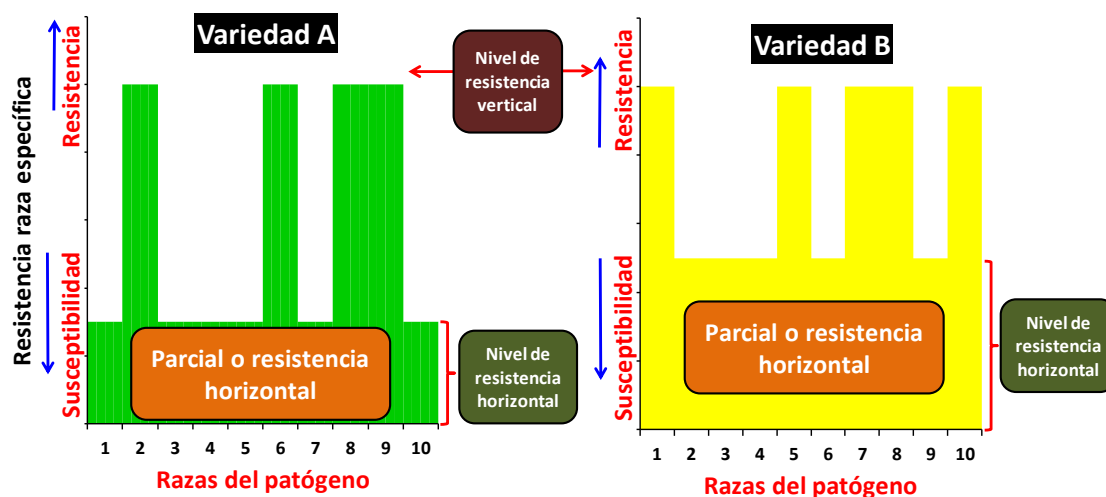


Figura 2. Niveles de la resistencia horizontal y vertical de dos variedades vegetales a diez razas de un patógeno (Van Der Plank 1984; Agrios 2005)

3.5.2.2. Resistencia horizontal

La resistencia a la que Van Der Plank (1963) llamó horizontal, a su vez, ha sido llamada resistencia poligénica, resistencia asociada a genes menores, resistencia cuantitativa o asociada a QTL, resistencia de campo o tolerancia (Parlevliet y Zadoks 1977; Nelson 1978; Poland et al. 2009; Burbano-Figueroa 2020).

La resistencia horizontal (no diferencial) está bajo el control de muchos genes (quizá docenas o cientos de ellos), de ahí el nombre de resistencia poligénica o de genes múltiples (Figura 2). Cada uno de estos genes por separado es ineficaz para contrarrestar el efecto del patógeno y puede tener una función menor en la resistencia horizontal total de la planta (resistencia de genes menores) (Agrios 2005). En su conjunto otorgan una resistencia que es más o menos igualmente efectiva contra todas las "razas" de un patógeno. Se ha postulado que la naturaleza poligénica resulta en una resistencia más duradera que la observada con genes que determinan resistencia vertical.

En términos prácticos, la resistencia horizontal puede ser igualada a la denominada resistencia de campo (field resistance). Los mejores ensayos para la observación de la resistencia horizontal son los experimentos de campo. La resistencia de campo es observada durante la evaluación de progenies o colecciones de cultivares en pruebas de campo, cuando se la considera una característica cuantitativa que exhibe una distribución continua. Se asume que esta resistencia es de carácter poligénico, porque la distribución continua de fenotipos de resistencia solo puede ser explicada por la combinación de varios loci genéticos (resistencia cuantitativa) (Burbano-Figueroa 2020).

3.5.3. Resistencia Aparente

Bajo ciertas condiciones o circunstancias, algunas plantas muy susceptibles o variedades de estos cultivos pueden permanecer libres de infección o síntomas y, por lo tanto, parecer resistentes. La aparente resistencia a la enfermedad de las plantas que se sabe que son susceptibles es generalmente el resultado de la tolerancia a la enfermedad o del escape a la enfermedad (Agrios 2005).

3.5.3.1. Tolerancia

La tolerancia, definida como la capacidad de un cultivo para mantener el rendimiento aun cuando sea infectado por un patógeno, es una característica difícil de medir, y los rasgos que la componen generalmente no están definidos (Schafer 1971; Bingham y Newton 2009; Newton 2016).

La tolerancia, es el resultado de las características hereditarias específicas de la planta hospedante que permiten que el patógeno se desarrolle y propague en ella, mientras que la planta, ya sea por la falta de sitios receptores de las excreciones irritantes del patógeno o al inactivarlas o compensarlas, sobrevive para dar una buena cosecha. Evidentemente, las plantas tolerantes son susceptibles al patógeno pero no son destruidas por él y, en general, muestran pocos daños causados por organismos patógenos (Agrios 2005).

Se ha estudiado como una característica de los genotipos de plantas cultivadas individualmente o en monocultivos. Sin embargo, es igualmente válido como una característica de los ecosistemas, o mezclas/cultivos intercalados en cultivos (Newton 2016).

3.5.3.2. Escape

Sucede cuando las plantas genéticamente susceptibles no son infectadas, ya que los tres factores necesarios para que se desarrolle la enfermedad (hospedante susceptible, patógeno virulento y ambiente favorable) no coincidan e interactúen en el momento oportuno o que tenga una duración suficiente. Las plantas pueden escapar de la enfermedad porque sus semillas germinan más rápido, sus plántulas maduran más rápido que otras y antes de que la temperatura sea favorable para que el patógeno las ataque. Algunas plantas escapan de la enfermedad debido a que son susceptibles a un patógeno sólo en una determinada etapa de crecimiento (hojas, tallos o frutos jóvenes; en los procesos de floración o fructificación; en la madurez y senescencia temprana) y, por tanto, si el patógeno falta o es inactivo en ese período en particular, tales plantas difícilmente van a infectarse. Las plantas pueden escapar también de las enfermedades debido a la distancia que hay entre los campos, a su número, posición y espaciamiento en el campo, etc. (Agrios 2005).

El escape de enfermedades puede deberse a algún carácter anatómico o físico, como la aparición de pelos en las hojas, cutícula gruesa o estomas modificados, o puede ser ambiental, cuando las condiciones no son propicias para el desarrollo de la enfermedad. Aunque el escape de enfermedades basado en alguna característica anatómica es útil ocasionalmente, el escape complica más a menudo el proceso de desarrollo de plantas resistentes a enfermedades (Maloy 2005).

3.5.4. El concepto de gen por gen

La coexistencia de plantas hospedantes y sus patógenos en la naturaleza indica que ambos han evolucionado juntos. Dicha evolución gradual, de resistencia y virulencia, puede explicarse por medio del concepto gen por gen, de acuerdo con el cual, por cada gen que confiere resistencia en el hospedante, hay un gen correspondiente en el patógeno que le confiere virulencia, y viceversa. En todas estas enfermedades, se ha demostrado que siempre que una variedad es resistente a un patógeno como resultado de 1, 2, ó 3 genes de resistencia, el patógeno también tendrá 1, 2 ó 3 genes de virulencia, respectivamente. Cada gen en el hospedante puede detectarse o identificarse sólo por su gen correspondiente en el patógeno, y viceversa (Tabla 1) (Flor 1971; Agrios 2005).

Tabla 1. Comprobación cuadrática de combinaciones de genes y tipos de reacciones a enfermedades en un sistema huésped-patógeno en el que opera el concepto de gen por gen para un solo gen (Agrios 2005)

Genes de virulencia o avirulencia en el patógeno	Genes de resistencia o susceptibilidad en la planta	
	R (resistente) dominante	r (susceptible) recesivo
A (avirulento) dominante	AR (-)	Ar (+)
a (virulento) recesivo	aR (+)	ar (+)
El signo menos indica que la reacción es incompatible (resistente) y, por tanto, no se produce infección. El signo más indica que la reacción es compatible (susceptible) y, por tanto, se produce infección.		

Por regla general, aunque no siempre, los genes de resistencia en el hospedante son dominantes (R), mientras que los genes que confieren susceptibilidad, es decir, la falta de resistencia, son recesivos (r). Por otra parte, en el patógeno, son los genes que determinan su avirulencia, es decir, su incapacidad para causar infección, los genes que en general son dominantes (A), mientras que los que determinan su virulencia son recesivos (a). De esta manera, cuando en dos variedades vegetales, una lleva el gen de resistencia R a un cierto patógeno y la otra lleva el gen de susceptibilidad (r) al mismo patógeno (careciendo del gen R que le confiere su resistencia a este último) son inoculadas con dos razas del patógeno, una de las cuales tiene el gen de virulencia A contra el gen R de resistencia y la otra tiene el gen de virulencia a contra el gen de resistencia R, entonces se hacen posibles las combinaciones genéticas y tipos de reacción (Figura 3) (Agrios 2005).

Cuando un gen específico de resistencia aparece o se cruza en el huésped, el gen permite que el huésped reconozca el producto de un gen particular de virulencia en el patógeno. Entonces se considera que ese gen del patógeno es el gen de "avirulencia" (avrA) del patógeno que corresponde al gen de resistencia de la planta R. El cambio en la función del gen del patógeno se debe a que el reconocimiento posterior del producto del gen avrA (elicitador) por el receptor codificado por el gen R desencadena la reacción de respuesta hipersensible en la planta que la mantiene resistente (Figura 3) (Agrios 2005).

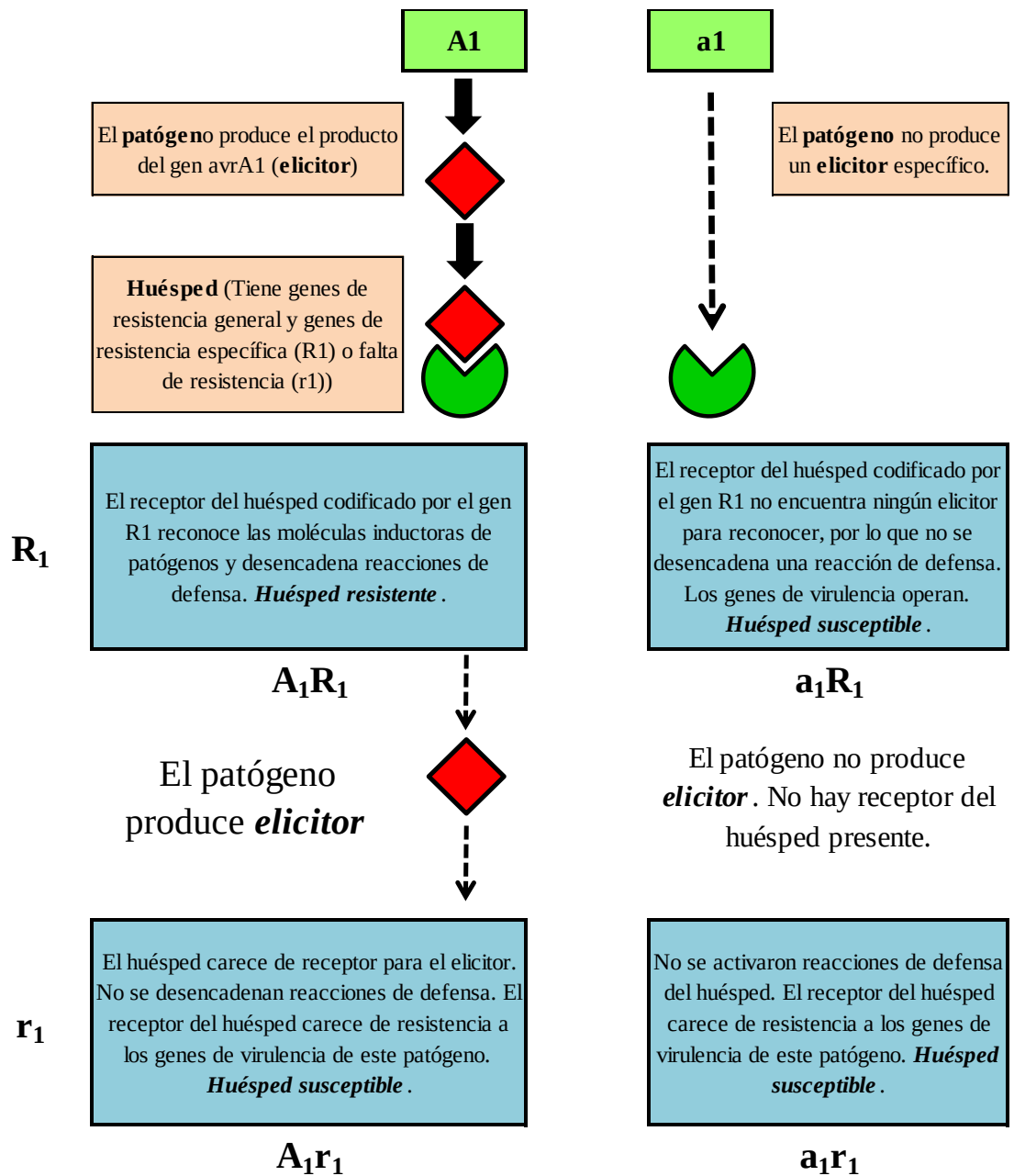


Figura 3. Interacciones básicas de genes de avirulencia (A)/virulencia (a) de patógenos con genes de resistencia (R)/susceptibilidad (r) del huésped en una relación gen por gen y resultados finales de las interacciones (Agrios 2005)

Los genes que confieren resistencia primero aparecen en los hospedantes mediante evolución y después pueden utilizarse en los programas de mejoramiento genético. Los genes que confieren virulencia aparecen en los patógenos una vez que han aparecido ciertos genes de resistencia particulares en el hospedante, y cada uno de ellos actúa específicamente sobre un gen de resistencia en particular. Siempre que aparece un nuevo gen para la virulencia que actúa sobre algún gen de resistencia ya existente, la resistencia de la planta hospedante se interrumpe (Figura 4) (Presello et al. 2021; Agrios 2005).

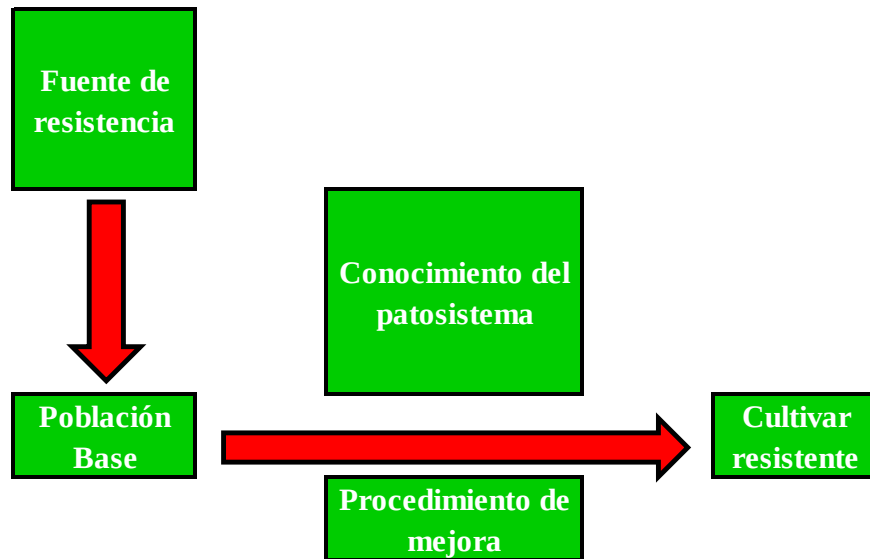


Figura 4. Desarrollo de resistencia a enfermedades (Presello et al. 2021)

Los fitogenetistas introducen en la planta otro gen de resistencia, que extienda la resistencia de la planta hospedante más allá del límite de acción del nuevo gen de virulencia en el patógeno. Esto produce una variedad resistente, hasta que aparezca otro gen para la virulencia en el patógeno. Cuando una variedad vegetal tiene dos o más genes de resistencia (R1 R2, . . .) contra un patógeno en particular, éste debe tener también dos o más genes de virulencia (a1 a2,...), cada uno de los cuales debe actuar específicamente sobre uno de los genes de resistencia en el hospedante para que se produzca la infección (Tabla 2) (Agrios 2005).

Tabla 2. Interacción complementaria de dos genes de resistencia del hospedante y los dos genes de virulencia correspondientes del patógeno y sus tipos de reacción a la enfermedad (Agrios 2005)

		Genes de resistencia (R) o susceptibilidad (r) en la planta			
		R1R2	R1r2	r1R2	r1r2
Genes de virulencia (a) o avirulencia (A) en el patógeno	A1A2	–	–	–	+
	A1a2	–	–	+	+
	a1A2	–	+	–	+
	a1a2	+	+	+	+

En primer lugar, las plantas susceptibles (r1r2) que carecen de genes de resistencia son atacadas por todas las razas del patógeno, independientemente de los

genes de virulencia (aa) o avirulencia (A1A2) que porta el patógeno. En segundo lugar, las razas patógenas o individuos designados a1a2, es decir, que carecen de genes de avirulencia (A1A2) para cada gen de resistencia del huésped (R1R2), pueden infectar todas las plantas que tengan cualquier combinación de estos genes (R1R2, R1r2, r1R2), ya que el patógeno a1a2 no produce moléculas elicitoras capaces de desencadenar la respuesta de defensa del huésped (Figura 3) (Agrios 2005). Es posible observar, además, que basta con una interacción incompatible para un gen, para que la reacción en el hospedante sea de resistencia. Es decir que hay un efecto epistático sobre el resto de los genes (Tabla 2).

El concepto de gen por gen se ha demostrado solo en plantas que poseen tipos de resistencia vertical (monogénica y oligogénica) a una cierta enfermedad. Los fitogenetistas aplican el concepto gen por gen cada vez que incorporan un nuevo gen de resistencia en una variedad conveniente que se vuelve susceptible a una nueva raza del patógeno (Agrios 2005).

La resistencia horizontal RH puede explicarse por un sistema poligénico donde los genes individuales operan gen por gen con genes de virulencia en el patógeno (Parlevliet y Zadoks 1977). Las frecuencias de los genes de resistencia y virulencia son tales que las frecuencias efectivas de los genes de resistencia tienden a estar negativamente relacionadas con la magnitud del efecto del gen, lo que explica por qué los genes principales a menudo ocurren con bajas frecuencias, mientras que los genes menores parecen ser frecuentes. Es de esta manera que el huésped y el patógeno, ambos como poblaciones extremadamente variables y vigorosas, pueden coexistir. La resistencia horizontal (RH) y vertical RV en el sentido de Van Der Plank (1963), por lo tanto, no representan diferentes tipos de resistencia; representan, más bien, una resistencia poligénica y oligogénica que se basa en los mismos mecanismos fisiológicos subyacentes (Orton 2020).

3.6. Componentes importantes de la inmunidad de las plantas

Los patógenos de las plantas utilizan diversas estrategias de vida. Los hongos pueden entrar directamente en las células epidérmicas de las plantas o extender las hifas encima, entre o a través de las células vegetales. Los hongos de la roya son biótrophos obligados que pueden invaginar las estructuras de infección especializadas llamadas haustorios en la membrana plasmática de la célula huésped. En los haustorios la función de los patógenos es la absorción de nutrientes y también la producción y liberación de efectores (Sección 3.8) (Garnica et al. 2014). De esa manera las membranas plasmáticas haustoriales, la matriz extracelular y las membranas plasmáticas del huésped forman una interfaz íntima en la que se determina el resultado de la interacción. Todas estas diversas clases de patógenos liberan moléculas efectoras (factores de virulencia) en la célula vegetal para mejorar la aptitud microbiana (J. D. G. Jones y Dangl 2006; Qi et al. 2019).

Las plantas carecen de células defensoras móviles y de un sistema inmunitario adaptativo somático tal como lo poseen los mamíferos. En su lugar, se basan en la inmunidad innata de cada célula y en las señales sistémicas que emanan de los sitios de infección. Se presume que muchas proteínas R de las plantas podrían activarse indirectamente por efectores codificados por patógenos, y no por reconocimiento directo. Esta hipótesis de guardia implica que las proteínas R reconocen indirectamente a los efectores al detectar la acción de los mismos sobre la integridad de los objetivos celulares del huésped. El concepto de que las proteínas R reconocen modificaciones inducidas por patógenos es similar al reconocimiento de modificaciones en modelos de señales de peligro del sistema inmunitario de los mamíferos (J. D. G. Jones y Dangl 2006).

3.6.1. Inmunidad activada por patrón (PTI)

Las plantas han desarrollado dos respuestas de defensa superpuestas contra la mayoría de los microbios patógenos. Estas respuestas de defensa incluyen el depósito de calosa, la inducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), el refuerzo de los componentes de la pared celular de la planta y la expresión de genes relacionados con la defensa (J. D. G. Jones y Dangl 2006; Qi et al. 2019).

La visión actual del sistema inmunológico de las plantas según Jones y Dangl (2006), se puede representar como un modelo en zigzag de cuatro fases (Figura 5), en el que introducimos varias abreviaturas importantes. En la fase 1 las defensas se activan y los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) a través de la percepción de patrones moleculares asociados a microbios o patógenos (MAMP o PAMP) producen una respuesta conocida como inmunidad desencadenada por PAMP (PTI) que puede detener una mayor colonización (J. D. G. Jones y Dangl 2006; Qi et al. 2019). Los MAMP o PAMP son elicitores microbianos genéricos (señales o huellas dactilares de

los microorganismos), como la quitina y la flagelina, que pueden ser reconocidos por los (PRR) ubicados en la superficie celular de la planta (Burbano-Figueroa 2020).

3.6.2. Susceptibilidad desencadenada por efectores (ETS)

En la fase 2, para suprimir la PTI los patógenos exitosos despliegan proteínas de virulencia llamadas efectores para modular las respuestas de defensa del huésped, contribuyendo a la virulencia del patógeno logrando así interferir con la PTI (Figura 5). Por consiguiente esto da como resultado una susceptibilidad desencadenada por efectores (ETS) (J. D. G. Jones y Dangl 2006; Qi et al. 2019)

3.6.3. Inmunidad activada por efectores (ETI)

Para combatir los efectores, las plantas han desarrollado proteínas de resistencia (R) que reconocen ciertos efectores, denominados efectores de avirulencia (AVR), y desencadenan una segunda respuesta inmunitaria más rápida, denominada inmunidad activada por efectores (ETI). Esto ocurre en la fase 3 del modelo de zigzag (Figura 5), una de las proteínas NB-LRR reconoce específicamente un efector dado, lo que da como resultado una inmunidad activada por el efector (ETI). El reconocimiento es indirecto o mediante el reconocimiento directo NB-LRR de un efector. La ETI es una respuesta de PTI acelerada y amplificada, que genera resistencia a la enfermedad y, por lo general, una respuesta de muerte celular (HR) hipersensible en el sitio de la infección (Thomma et al. 2011; J. D. G. Jones y Dangl 2006; Qi et al. 2019).

Los patógenos suelen inyectar los efectores directamente en el citoplasma del huésped y durante la evolución, las plantas responden a estos efectores mediante el desarrollo de proteínas R citoplasmáticas que reconocen (la presencia o la actividad de) efectores individuales. La mayoría de estas proteínas R son proteínas receptoras intracelulares del tipo de repetición rica en leucina de unión a nucleótidos (NB-LRR) que activan la llamada inmunidad desencadenada por efectores (ETI). Por lo general, la propensión a desencadenar ETI es específica de la cepa o raza del patógeno y está asociada con la muerte celular programada, una respuesta que se conoce como respuesta hipersensible (HR) y resistencia sistémica adquirida (SAR) en el huésped. Como resultado de la presión de selección, evolucionaron aislados de patógenos que han perdido o alterado el efector que se reconoce o que han ganado nuevos efectores para suprimir la respuesta de ETI. A su vez, evolucionaron nuevos receptores de plantas que reconocen los efectores obvios o los efectores recién adquiridos, lo que nuevamente resultó en ETI. Esta coevolución continúa, con una selección continua de nuevos patógenos aislados que superan la ETI y nuevos genotipos de plantas que resucitan la ETI (Thomma et al. 2011).

3.6.4. El papel de la ROS durante la ETI

Durante la ETI se induce un estallido oxidativo masivo y sostenido, y las ROS parecen actuar como un componente clave del sistema de defensa (Lamb y Dixon 1997; Gupta et al. 2015). La rápida generación de superóxido y la acumulación de H_2O_2 es un rasgo temprano característico de la respuesta hipersensible que sigue a la percepción de señales de avirulencia del patógeno. Los datos emergentes indican que el estallido oxidativo refleja la activación de una NADPH oxidasa unida a la membrana que se parece mucho a la que opera en los neutrófilos activados. Los oxidantes no solo son agentes protectores directos, sino que el H_2O_2 también funciona como sustrato para el entrecruzamiento oxidativo en la pared celular, como desencadenante del umbral para la muerte celular hipersensible (Figura 5) y como señal difusible para la inducción de genes protectores celulares en las células circundantes (Lamb y Dixon 1997).

Las ROS son un componente central de un sistema de señales altamente amplificado e integrado, median diversas respuestas de defensa de las plantas a través de una variedad de vías de señalización, incluidas las cascadas de señalización inducidas por la fosforilación de proteínas y las vías que implican señales químicas (p. ej., óxido nítrico) y que también involucra hormonas vegetales como el ácido salicílico y perturbaciones del Ca^{2+} citosólico, que subyace en la expresión de mecanismos de resistencia a enfermedades. Los reguladores negativos como LSD1 y los reguladores positivos como PAD4 y EDS1 son esenciales para regular la producción de ROS (Rustérucci et al. 2001). (Karpiński et al. 2013; Lamb y Dixon 1997; Rustérucci et al. 2001; Qi et al. 2019).

Hawku et al. (2022) identificaron un factor de transcripción (TF) R2R3 MYB TF de trigo, designado como TaMYB391, y caracterizaron su función funcional durante la interacción trigo-*Pst*. Verificaron que la sobreexpresión de TaMYB391 en el trigo mejoró significativamente la resistencia del trigo al hongo de la roya amarilla a través de la inducción de genes relacionados con la patogénesis (PR), la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la muerte celular hipersensible. Comprobaron que TaMYB391 es inducido por la infección por *Pst* y la aplicación exógena de ácido salicílico (SA) y ácido abscísico (ABA). Por otro lado, descubrieron que el silenciamiento de TaMYB391 mediado por ARNi disminuyó la resistencia del trigo a *Pst* acompañado de un mayor crecimiento del patógeno. Estos hallazgos demuestran que TaMYB391 actúa como un regulador positivo de la muerte celular asociada a HR y contribuye positivamente a la resistencia del trigo al hongo de la roya amarilla al regular ciertos genes PR, posiblemente a través de vías de señalización (SA).

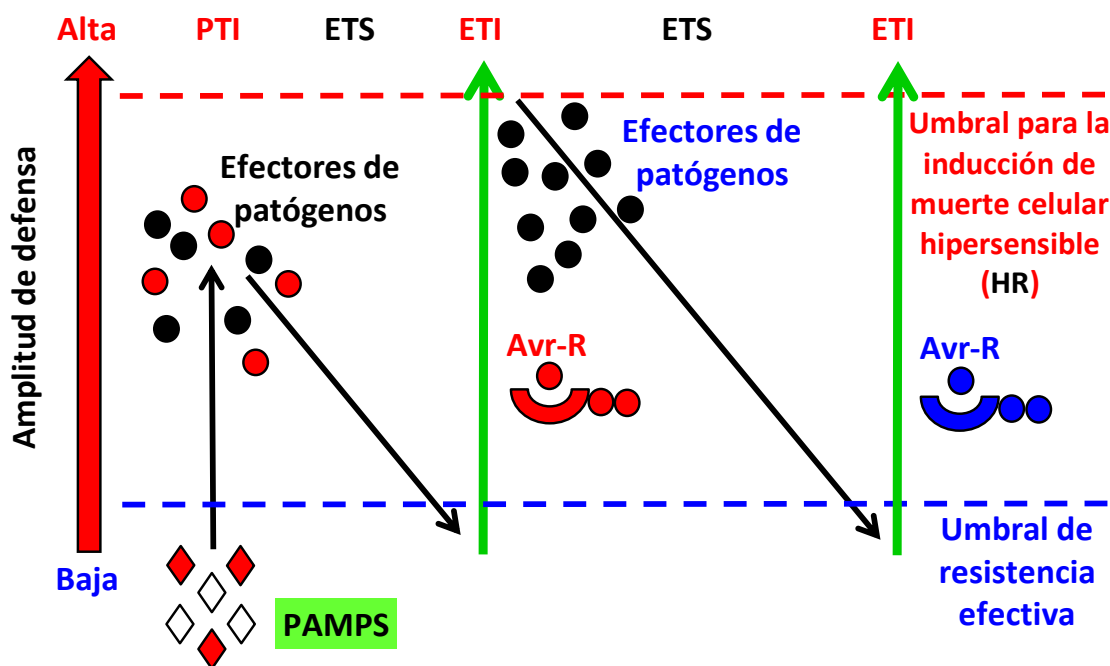


Figura 5. Modelo de zigzag propuesto por Jones y Dangl (2006)

El modelo en zigzag ilustra la producción cuantitativa del sistema inmunitario de la planta. En este esquema, la amplitud final de la resistencia o susceptibilidad a enfermedades es proporcional a $[PTI - ETS + ETI]$. En la fase 1, las plantas detectan patrones moleculares asociados a microbios/patógenos (MAMP/PAMP, diamantes rojos) a través de PRR para activar la inmunidad activada por PAMP (PTI). En la fase 2, los patógenos exitosos liberan efectores que interfieren con la PTI, o permiten la nutrición y dispersión del patógeno, lo que resulta en una susceptibilidad desencadenada por efectores (ETS). En la fase 3, un efector (indicado en rojo) es reconocido por una proteína NB-LRR, activando la inmunidad activada por efector (ETI), una versión amplificadora de PTI que a menudo pasa un umbral para la inducción de muerte celular hipersensible (HR). En la fase 4, se seleccionan aislados de patógenos que han perdido el efector rojo y quizás hayan ganado nuevos efectores a través del flujo de genes horizontal (en azul); estos pueden ayudar a los patógenos a suprimir la ETI. La selección favorece los nuevos alelos NB-LRR de la planta que pueden reconocer uno de los efectores recién adquiridos, dando como resultado nuevamente ETI (J. D. G. Jones y Dangl 2006).

3.6.5. El modelo de zigzag considerado como un continuo (Thomma et al. 2011)

Thomma et al. (2011) argumentan que la resistencia de las plantas está determinada por los receptores inmunes que reconocen los ligandos apropiados para activar la defensa, cuya amplitud probablemente esté determinada por el nivel requerido para una inmunidad efectiva. De acuerdo con estos autores, no todos los activadores de defensa microbianos se ajustan a la distinción común entre PAMP y efectores descrita en las secciones previas. Por ejemplo, algunos efectores muestran una amplia distribución, mientras que algunos PAMP se conservan de forma limitada o contribuyen a la virulencia del patógeno. Dado que los efectores pueden provocar respuestas de defensa y los PAMP pueden ser necesarios para la virulencia, los componentes individuales no pueden denominarse exclusivamente mediante uno de los dos términos.

Por tanto, planteamos que la distinción entre PAMPs y efectores, entre receptores de PAMP y proteínas de resistencia y, por tanto, también entre PTI y ETI, no puede mantenerse estrictamente, más bien existe un continuo entre PTI y ETI (Thomma et al. 2011).

3.6.6. Modelo de Invasión

En el modelo de invasión, los PAMP-MAMP y los efectores son parte de los patrones de invasión (IP) que pueden ser reconocidos por la planta (en general, los IP son moléculas producidas directamente por el patógeno). La planta no solo reconoce los patrones de invasión, sino que también reconoce las moléculas resultantes del daño producido por la infección del patógeno, es decir, los patrones moleculares asociados al daño (DAMP). En resumen, en el modelo de invasión, las plantas reconocen 2 tipos de patrones: los producidos por el patógeno (IP) y los resultantes de la infección por el patógeno (DAMP). Los IP son reconocidos por los receptores activados por IP (IPTR). Los genes R son IPTR activados por los efectores, que actúan como IP (French et al. 2016; Burbano-Figueroa 2020).

3.7. Mecanismos de resistencias a la roya amarilla (*Pst*)

3.7.1. Resistencia en todas las etapas (ASR)

Por un lado se encuentran los genes de resistencia raza-específicos, o genes mayores, que generalmente confieren protección a lo largo del ciclo de crecimiento, por lo que también se los denomina “genes de resistencia en todos los estadios fenológicos” (ASR, acrónimo del inglés all-stage resistance) (Carmona y Sautua 2018). La resistencia en todas las etapas se extiende a lo largo del crecimiento de la planta de trigo y se caracteriza por una respuesta hipersensible y es inicialmente expresada en la etapa de plántula. Por lo general, es eficaz contra algunas, pero no todas, las razas *Pst* y, por lo tanto, también se la conoce como “resistencia raza-específica”. La resistencia en todas las etapas está respaldada por el modelo gen por gen. Esto da como resultado un fenotipo de resistencia cualitativa que puede evaluarse fácilmente y es usado como criterio de selección en los programas de mejoramiento y, más recientemente, para la clonación de genes. La mayoría de los genes *Yr* exhiben este tipo de fenotipo, y muchos se vuelven ineficaces contra las razas *Pst* actuales. Se ha demostrado que este tipo de resistencia es una estrategia a corto plazo para el control de *Pst*. De hecho, el despliegue de variedades con uno o un bajo número de genes *Yr* de resistencia en todas las etapas en grandes extensiones ejerce inevitablemente una alta presión selectiva sobre el patógeno, lo que lo obliga a evolucionar y mutar hasta que se rompe la resistencia del huésped y conduce a nuevos ciclos de la enfermedad (McDonald y Linde 2002; Bouvet et al. 2021).

3.7.2. Resistencia de plantas adultas (APR)

La resistencia de plantas adultas se caracteriza por un período prolongado de infección latente y tamaño de lesión pequeño (conocido como “slow rusting” en inglés) (Guo et al. 2008) o resistencia parcial, que generalmente se manifiesta en la etapa de planta adulta y se ha establecido durante mucho tiempo como una resistencia duradera a *Pst* (Bouvet et al. 2021). Los genes de resistencia raza-inespecíficos, o genes menores, confieren resistencia en plantas adultas (APR, acrónimo del inglés adult plant resistance) y normalmente están presentes junto con otros genes de efectos similares y, por lo tanto, están asociados con herencia cuantitativa (Carmona y Sautua 2018).

Los genes APR también se denominan genes de resistencia de planta adulta efectiva a altas temperaturas (HTAP, acrónimo del inglés high-temperature adult-plant), ya que en general son efectivos cuando las temperaturas son mayores a 25°C en las etapas más avanzadas del ciclo de cultivo; tal es el caso de ciertos genes de raza no específica que confieren resistencia de planta adulta efectiva a temperatura alta (HTAP), como *Yr36* y *Yr39*, pero su efectividad es dudosa a temperaturas por debajo de los 18°C (Uauy et al. 2005; Rodríguez-García et al. 2019). La resistencia de las plantas adultas efectiva a alta temperatura (HTAP) a la roya amarilla no es del tipo raza-específica, se hereda cuantitativamente y es duradera.

La mayoría de los cultivares con múltiples genes para APR son susceptibles en la etapa de plántula, pero luego exhiben resistencia a varias razas (Carmona y Sautua 2018).

Algunos genes APR, pero no todos, proporcionan resistencia a todos los aislamientos de una especie de patógeno de la roya y una subclase de estos proporciona resistencia a varias especies de patógenos fúngicos. Las indicaciones iniciales son que los genes APR codifican una gama más heterogénea de proteínas que las proteínas R. Dos genes APR, *Lr34* (resistencia a roya anaranjada de la hoja) e *Yr36*, han sido clonados a partir de trigo y sus productos son un transportador ABC y una proteína quinasa, respectivamente. *Lr34* y *Sr2* (resistencia a roya del tallo) han proporcionado una resistencia parcial duradera y ampliamente utilizada, principalmente junto con otros genes R y APR para obtener una resistencia adecuada a la roya. Algunos genes APR incluyen genes R débiles específicos de la raza y pueden ser de la clase NB-LRR. Una prioridad de investigación para informar mejor el mejoramiento de la resistencia a la roya es caracterizar más genes APR en el trigo y comprender cómo funcionan y cómo interactúan cuando se apilan múltiples genes APR y R en un solo genotipo mediante el mejoramiento convencional y genéticamente modificado (GM). Un mensaje importante es no ser complaciente con la durabilidad general de todos los genes APR (Ellis et al. 2014).

3.8. El haustorio de *Pst*

Pst tiene un proceso de infección complejo y especializado que incluye la unión de esporas a la planta hospedante, la germinación, la formación de apresorio y la obtención de nutrientes mediante la formación de haustorios y la invasión del hospedante. Los haustorios están rodeados por una "membrana extrahaustorial" especial y una "matriz extrahaustorial", de estructura similar a un gel, dentro del huésped vivo (Garnica et al. 2014; Jamil et al. 2020).

La etapa principal causante de enfermedades del ciclo de vida de la roya es la etapa asexual donde el haustorio tiene un rol determinante. El haustorio de *Pst* es la estructura de infección especializada que sustenta la asociación biotrófica sostenida con *T. aestivum*. Este órgano se forma después de la penetración de la pared de una célula huésped viva, expandiéndose en el lado interno de la pared celular mientras invagina la membrana plasmática circundante del huésped. A través de los haustorios, el patógeno obtiene nutrientes del huésped y secreta proteínas de virulencia denominadas efectores (Figura 6) (Mendgen et al. 2000; Voegelé et al. 2001; Voegelé y Mendgen 2003; Catanzariti et al. 2006; Garnica et al. 2014).

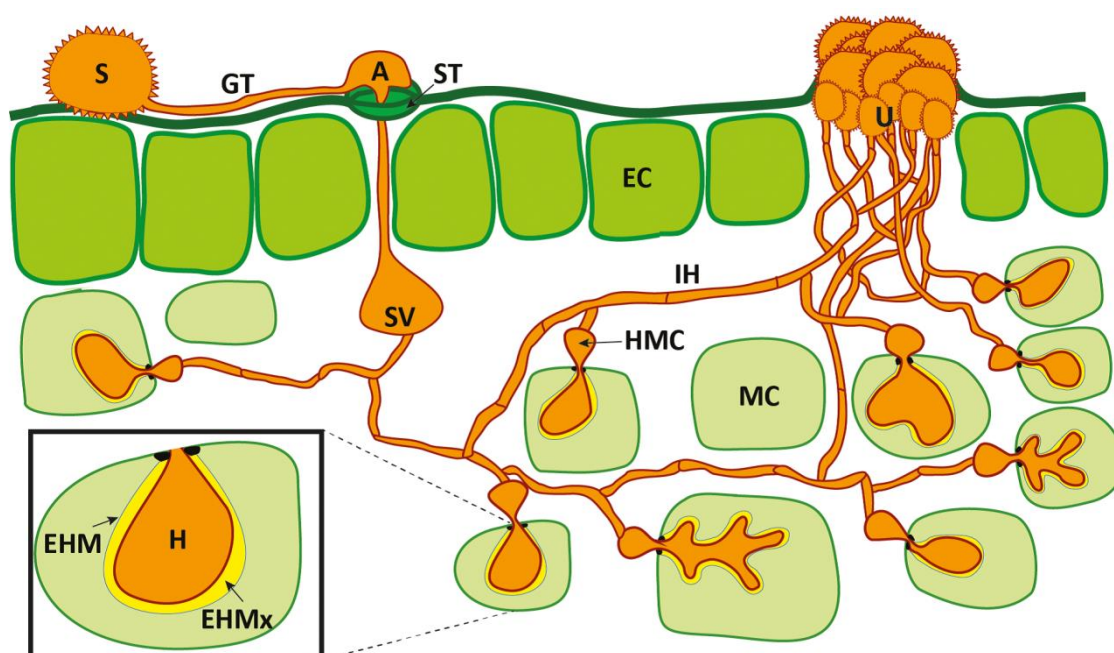


Figura 6. Representación esquemática de las fases de desarrollo de la infección por *Pst* (Garnica et al. 2014)

Representación del ciclo asexual de *Puccinia spp.* sobre trigo. La uredospora dicariótica (S) aterriza en la superficie de la hoja y produce un tubo de germinación (GT) dentro de las 6 horas. Posteriormente, produce un apresorio (A) sobre la apertura estomática y entra al interior de la hoja a través del estoma (ST), donde se diferencia en una vesícula subestomatal (SV). Las hifas de infección primaria (IH) se propagan a través de la hoja y, una vez en contacto con las células del mesófilo, las células madre haustoriales (HMC) se diferencian. Éstas penetran en la pared de la célula mesófila huésped (MC) para formar el haustorio (H). El haustorio permanece separado del citoplasma de la célula huésped por la matriz extrahaustorial (EHMx) y la membrana extrahaustorial derivada del huésped (EHM). Después del establecimiento del primer haustorio, se desarrollan hifas secundarias, colonizan los espacios intercelulares y dan lugar a más HMC y haustorios. El ciclo se completa en 10 a 11 días, cuando las hifas

invasoras forman células basales esporógenas en la uredia (U) y miles de nuevas uredosporas infectivas brotan a través de la epidermis de la hoja.

3.8.1. Producción y secreción de efectores dirigidos al citoplasma del huésped

Los haustorios de *Pst* son responsables de la producción y secreción de efectores, con varias de estas proteínas dirigidas al citoplasma del huésped donde se cree que promueven la infección (Figura 6). Este tipo de interacción biotrófica compatible comparte similitud con los inhibidores de cisteína proteasa y puede inhibir la actividad proteolítica en sobrenadantes de cultivos de levadura, por lo que puede actuar para inhibir las proteasas asociadas a la defensa del huésped. También puede formar agregados y estructuras similares a filamentos dentro de la matriz extrahaustorial y el citoplasma del huésped, que pueden tener un papel estructural en la estabilización de la célula huésped permitiendo la acomodación del haustorio (Hahn y Mendgen 1997; Kemen et al. 2005; Pretsch et al. 2013; Kemen et al. 2013; Garnica et al. 2014).

3.8.2. Caracterización funcional de los efectores patogénicos

Poco se sabe sobre la función efectora en el patógeno biotrófico obligado *P. striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*).

La función de los efectores de patógenos es un tema importante en el estudio de la patología de las plantas, sin embargo se sabe menos sobre la función efectora en los hongos de la roya, particularmente en los hongos de la roya de los cereales (Duplessis et al. 2012). Se cree que el haustorio sirve como una estructura para la entrega de efectores de la roya en las células de la planta huésped (Panstruga y Dodds 2009), y se han identificado algunos efectores de la roya a partir de bibliotecas de ADNc construidas a partir de haustorios de la roya (Figura 6) (Yin et al. 2014; Hahn y Mendgen 1997; Catanzariti et al. 2006; Kemen et al. 2013). En la biblioteca de ADNc de *Pst* haustoria, Yin et al. (2009) identificaron 15 genes que codifican proteínas secretadas, seis de los cuales fueron inducidos durante el proceso de infección, y estos fueron considerados efectores candidatos. Además, se identificaron varios otros efectores candidatos de *Pst* con el avance de la secuenciación del genoma de *Pst* (Cantu et al. 2011; Zheng et al. 2013). Al volver a secuenciar los genomas de cuatro aislamientos de *Pst* de los EE. UU. y el Reino Unido, Cantu et al. (2013) identificaron cinco efectores candidatos a *Pst* que eran proteínas secretadas expresadas polimórficas y haustoriales. Mediante un relevamiento de expresión heteróloga en *Nicotiana benthamiana*, Petre et al. (2016) también identificaron un efector candidato *Pst* que se asocia con complejos proteicos involucrados en el procesamiento del ARN mensajero. Sin embargo, solo hay un informe sobre el papel de los efectores candidatos de *Pst* en la manipulación de la inmunidad de las plantas y la patogenicidad de la roya (Liu et al. 2016). Por lo tanto, la identificación y el análisis funcional de más efectores candidatos de *Pst* conducirá a una mejor comprensión de la función efectora en *Pst*.

Conforme al análisis de Burbano-Figueroa (2020) en lo que respecta al patógeno, los efectores (que son reconocidos por las proteínas R) son polimórficos en la población; esto implica que existen diferencias en un mismo efector para los individuos dentro de la población del patógeno. Estas diferencias son las responsables de las variaciones en la población del patógeno que conocemos como razas. Los receptores de las plantas también son polimórficos y esta variación es la que se observa como diferenciales en el caso de la planta. Entonces, tenemos una variación polimórfica para los genes de resistencia (R) y para los genes de avirulencia (Avr) específica para una interacción entre el patógeno y una especie de planta en particular, pero también mecanismos comunes de defensa a todas las plantas (y animales) mediados por MAMP (por ejemplo, la percepción de fragmentos de quitina provenientes de los hongos) (Ronald y Beutler 2010; French et al. 2016; Burbano-Figueroa 2020).

3.8.3. Efectores candidatos de *Pst*

3.8.3.1. Efector candidato *PSTha5a23* (Cheng et al. 2017)

En los estudios de Cheng et al. (2017) se informa sobre los hallazgos de un efector candidato altamente inducido en planta de *Pst*, *PSTha5a23*. El gen *PSTha5a23* es exclusivo de *Pst* y muestra un bajo nivel de polimorfismo intraespecie. Tiene un péptido señal N-terminal funcional y se transloca al citoplasma del huésped después de la infección. Se descubrió que la sobreexpresión de *PSTha5a23* en *Nicotiana benthamiana* suprime la muerte celular programada desencadenada por BAX, PAMP-INF1 y dos proteínas quinasas activadas por mitógeno relacionadas con la resistencia (MKK1 y NPK1). La sobreexpresión de *PSTha5a23* en el trigo también suprimió la deposición de calosa asociada a la inmunidad desencadenada por patrones (PTI). Además, el silenciamiento de *PSTha5a23* no cambió los fenotipos de virulencia de *Pst*; sin embargo, la sobreexpresión de *PSTha5a23* mejoró significativamente la virulencia de *Pst* en el trigo. Estos resultados indican que el efector candidato de *Pst*, *PSTha5a23*, juega un papel importante en la supresión de las defensas de las plantas y la patogenicidad de la roya, y también resalta la utilidad de la sobreexpresión génica en las plantas como herramienta para estudiar efectores de patógenos biotróficos obligados.

3.8.3.2. Efector candidato *PstGSRE1* (Qi et al. 2019)

Qi et al. (2019) identificaron un gen efector rico en glicina-serina, *PstGSRE1*, que es altamente inducido durante la infección temprana. La expresión transgénica de construcciones de ARNi de *PstGSRE1* en trigo redujo significativamente la virulencia de *Pst* y aumentó la acumulación de H_2O_2 en trigo. Se descubrió que *PstGSRE1* se dirige al factor de transcripción asociado a especies reactivas de oxígeno (ROS) TaLOL2, un regulador positivo de la inmunidad del trigo. *PstGSRE1* interrumpe la localización nuclear de TaLOL2 y suprime la muerte celular mediada por ROS inducida por TaLOL2, comprometiendo así la inmunidad del huésped. El trabajo de Qi et al. (2019) revela una estrategia previamente no reconocida por la cual los hongos de la roya explotan el efector *PstGSRE1* para derrotar la defensa de la planta asociada a ROS mediante la modulación del compartimento subcelular de un regulador inmunológico del huésped y facilitar la infección por patógenos (Figura 7).

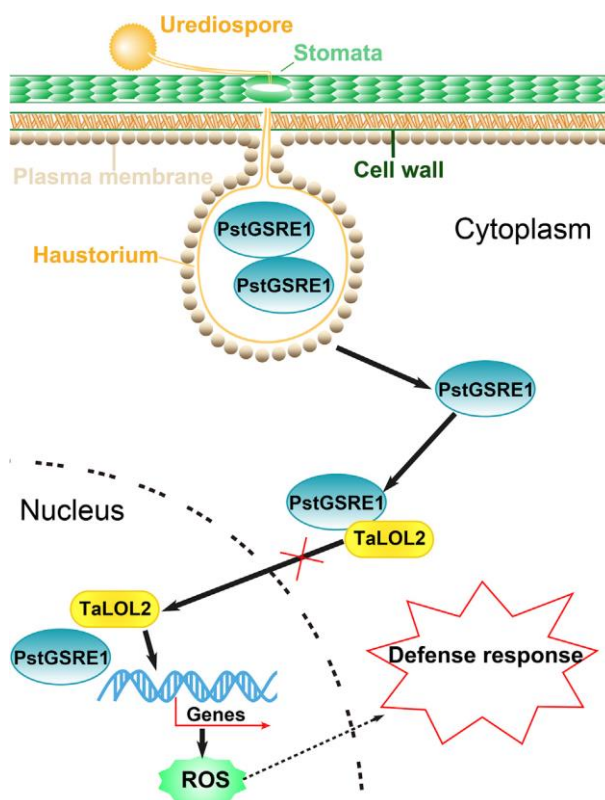


Figura 7. Modelo de supresión de la inmunidad del trigo por *PstGSRE1* asociada a ROS al interferir con la localización nuclear de TaLOL2 (Qi et al. 2019)

Durante la infección, *Pst* produce haustorios, a través de los cuales los efectores son secretados y trasladados a las células huésped. En la fase biotrófica inicial, *PstGSRE1* actúa como un importante factor de virulencia para potenciar la colonización e infección por *Pst*. Cuando la *Pst* secreta *PstGSRE1* y se transloca del haustorio a la célula huésped, se dirige a TaLOL2 y bloquea la localización nuclear de TaLOL2, evitando que TaLOL2 lleve a cabo su función normal de activar la HR mediada por ROS y la resistencia a enfermedades durante la interacción entre trigo y *Pst*.

3.8.3.3. Uso de que la quitina y flg22 como inductores de la reacción inmune desencadenada por patrones moleculares (PTI) (Su et al. 2021)

El estudio de Su et al. (2021) confirmó que la quitina y flg22 (flagelina) podrían usarse como inductores de la reacción inmune desencadenada por patrones moleculares (PTI) asociada a patógenos en hojas de trigo y que TaPr-1-14 podría usarse como un gen marcador para detectar la reacción PTI.

3.8.3.4. Genes efectores haustoriales de *Pst* clonados (Su et al. 2021)

Treinta y nueve genes efectores haustoriales de *Pst* fueron exitosamente clonados y examinados para expresión “in vitro” en protoplastos extraídos de células de trigo por Su et al. (2021). Además se identificaron tres proteínas efectoras haustoriales, PSEC2, PSEC17 y PSEC45, que pueden inhibir la respuesta del trigo a la PTI. En estas condiciones de estudio, estas proteínas se localizaron en el citoplasma somático y el núcleo de los protoplastos de trigo y se expresaron en gran medida durante la infección y el parasitismo del trigo.

3.9. Genes de resistencia para roya amarilla en trigo (*Yr*)

Hasta ahora, se han identificado más de 78 genes para resistencia a la roya amarilla. Por otra parte Wang y Chen (2017) informan que hasta el momento, se han reportado 78 loci con nombre permanente, 67 con designación temporal y 327 loci de rasgos cuantitativos (QTL) en varias variedades de trigo, donde la mayoría de estos genes y QTL se han localizado en cromosomas de trigo. Algunos de los genes o QTL son los mismos, sin embargo estos números indican que hay abundantes genes de resistencia en el germoplasma de trigo, que se puede utilizar para mejorar la resistencia a la roya amarilla en cultivares comerciales.

El mejoramiento convencional juega un papel esencial en la mejora de los cultivos, pero generalmente implica cultivar y examinar grandes poblaciones de cultivos durante varias generaciones, un proceso largo y laborioso (Ellis et al. 2014), mientras que en la era moderna, las técnicas de búsqueda de genes y la comprensión sobre el patrón de virulencia de los patógenos está aumentando. mediante la introducción de genómica moderna y herramientas de mejoramiento (W. Chen et al. 2014; Jamil et al. 2020).

Entre los genes de resistencia identificados, *Yr5* y *Yr15* han sido de gran importancia en los programas de mejoramiento. *Yr5* y *Yr15* se han utilizado ampliamente en los programas de mejoramiento en los Estados Unidos y otros países. Estos dos genes fueron efectivos para todos los aislamientos evaluados en el estudio de McIntosh et al. (1995) y estudios previos de poblaciones de *Pst* de los Estados Unidos y

otros países. Sin embargo se han informado aislamientos virulentos frente al *Yr5* en India y Australia y aislamientos virulentos frente al *Yr15* en Afganistán (Robert Alexander McIntosh et al. 1995). Aunque no se ha detectado virulencia para estos genes en los Estados Unidos, es importante incluir estos genes en los diferenciales para la identificación de razas potenciales virulentas para estos genes en el futuro (A. M. Wan y Chen 2014).

3.10. Avances sobre el entendimiento de las bases moleculares subyacentes a genes de resistencia *Yr*

De los genes mapeados, mencionados en la sección anterior, solo unos pocos han sido clonados. Entre ellos, *Yr15*, *Yr10*, *Yr18/Lr34/Sr57*, *Yr36*, *Yr46/Lr67/Sr55*, *Yr5/YrSP*, *Yr7*, aportando conocimiento sobre posibles roles de las proteínas codificadas. A modo ilustrativo el gen *Yr5*, que como se mencionara es un gen ampliamente difundido, se reporta que Marchal et al. (2018) lo clonaron y demostraron que es alelo de *YrSP* y parálogo de *Yr7*, los cuales han sido superados por múltiples aislamientos de *Pst*. El análisis de secuencia reveló que *Yr5* pertenece a un complejo grupo de genes de resistencia en el cromosoma 2B que codifican proteínas ricas en leucina y de unión a nucleótidos (NLR) con un dominio BED (de unión a ADN) distintivo (MAS 2022). *Yr5* fue descrito por primera vez en 1966 por Macer en *Triticum spelta album* (Macer 1966). Este gen confiere resistencia a todas las razas conocidas en EE. UU. (X. Chen et al. 2003). *Yr5* está ubicado en el brazo cromosómico 2BL, a 21 cM del centrómero (Law 1976). Kema (1992) transfirió este gen a algunos cultivares comerciales y sigue siendo efectivo para una amplia gama de aislamientos de *PST* en todo el mundo.

También ha habido estudios de perfiles de expresión que informaron sobre grupos proteicos asociados a la expresión de genes *Yr*, tal el caso del *Yr39* en el cultivar de trigo primaveral Alpowa, que se localizó en el cromosoma 7BL y explicó el 64,2 % de la variación en la resistencia a HTAP. Para identificar las transcripciones asociadas con la resistencia mediada por *Yr39*, Coram et al. (2008) seleccionaron dos líneas recombinantes endocriadas (RIL) F(7) de un cruce 'Avocet S/Alpowa' que difería en el locus *Yr39* para representar una interacción incompatible (*Yr39*) y otra compatible (*yr39*) con *Pst*. Más de la mitad (50,5 %) de los transcritos anotados inducidos específicamente durante la resistencia a HTAP estuvieron involucrados en la defensa y/o la transducción de señales, incluidos los homólogos del gen R y los transcritos asociados con la producción de proteínas relacionadas con la patogénesis, la biosíntesis de fenilpropanoides y la señalización de proteínas quinasas. El estudio de Coram et al. (2008) representa el primer perfil de transcripción de la resistencia HTAP a la roya amarilla en el trigo, donde se comparan los resultados con otros estudios de transcripción de resistencia raza-específica y no específica.

3.11. Caracterización de QTL que confiere resistencia a *Pst* en hojas de trigo

Los genes de resistencia conocidos ya están presentes en numerosos cultivares en todo el mundo. Sin embargo, su efectividad está limitada a ciertas razas dentro de una población de roya y la aparición de razas de roya amarilla que son virulentas contra genes de resistencia comunes fuerza la demanda de nuevas fuentes de resistencia. Por ello, a nivel mundial, existen numerosas iniciativas destinadas a identificar nuevas bases genéticas para resistencia. Entre ellas, las poblaciones endocriadas de múltiples padres inter cruzados (MAGIC – del inglés Multiparent Advanced Generation Intercross) han demostrado ser una herramienta poderosa para llevar a cabo estudios genéticos sobre características económicamente importantes. Rollar et al. (2021) mapearon QTL para la resistencia a la roya amarilla en la población de trigo Bavarian MAGIC, que comprende 394 F6: 8 líneas endocriadas recombinantes (RIL). La evaluación fenotípica de las RIL se llevó a cabo para la resistencia de plantas adultas en ensayos de campo en tres lugares a lo largo de tres años y para la resistencia de las plántulas en una cámara de crecimiento. En total, detectaron 21 QTL para la resistencia a la roya amarilla correspondientes a 13 regiones cromosómicas distintas, de las cuales dos pueden representar supuestamente nuevos QTL ubicados en los cromosomas 3D y 7D del trigo (Rollar et al. 2021).

Por otra parte Mu et al. (2020) para determinar los genes de resistencia a la roya amarilla en cultivares y líneas de mejoramiento de trigo de invierno de los EE. UU., analizaron un panel de trigo invernal constituido por 857 cultivares y líneas de mejoramiento en un estudio de asociación de todo el genoma (GWAS) usando genotipado por secuenciación multiplexada (GMS) y marcadores moleculares de 18 genes de resistencia a la roya amarilla o QTL importantes. Las accesiones se fenotiparon para la respuesta a la roya amarilla en la etapa de planta adulta bajo infección natural en Pullman y Mount Vernon, Washington en 2018 y 2019, y en la etapa de plántula con seis razas predominantes o más virulentas de *Pst*. Se identificaron un total de 51 loci relacionados con la resistencia a la roya amarilla, y al menos 10 de ellos (*QYrww.wgp.1D-3*, *QYrww.wgp.2B-2*, *QYrww.wgp.2B-3*, *QYrww.wgp.2B-4*, *QYrww.wgp.3A*, *QYrww.wgp.5A*, *QYrww.wgp.5B*, *QYrww.wgp.5D*, *QYrww.wgp.6A-2* y *QYrww.wgp.7B-3*) habían sido reportados previamente. Encontraron que estos genes o QTL estaban presentes en diferentes frecuencias en líneas de mejoramiento y cultivares desarrollados por programas de mejoramiento en varias regiones de cultivo de trigo de invierno. Tanto el *Yr5* como el *Yr15*, que son altamente resistentes a todas las razas identificadas hasta ahora en los EE. UU., así como el *Yr46* que proporciona resistencia a muchas razas, se encontraron ausentes en las líneas de mejoramiento y en los cultivares cultivados comercialmente.

Es importante destacar que todos los estudios de mapeo (gen mayor o QTL) y clonación, además del conocimiento básico, dejan herramientas como los marcadores moleculares que facilitan la incorporación de estos genes en programas de

mejoramiento para mejorar el nivel y la durabilidad de la resistencia a la roya amarilla (Mu et al. 2020).

4. Propuesta de un programa de mejoramiento genético para obtener resistencia a la roya amarilla de trigo (*Pst*) en Argentina. Métodos con hibridación y conducción de segregantes: Método genealógico o pedigree.

4.1. Localización

El presente ejercicio se focaliza en una Empresa de nombre de fantasía Pszenica S.A. localizada en Pergamino, provincia de Buenos Aires, dedicada a la producción de genotipos de trigo para el campo argentino.

4.2. Objetivos

4.2.1. Objetivos Generales

- Obtener genotipos de trigo argentino resistentes a *Pst*.

4.2.2. Objetivos Específicos

Lograr una defensa genética más estable y duradera (RH):

- Implementar el uso de selección asistida por marcadores moleculares (MAS) para lograr combinar sobre una misma planta (piramidización) genes de resistencia a *Pst* (*Yr5* – *Yr15* – *Yr17* – *Yr36*) a través del cruzamiento con variedades resistentes (donantes) en los fondos genéticos de las variedades AGTT 19 - AGTT 23 con la finalidad de acoplar la resistencia al rendimiento (Tabla 4).
- Mantener una base genética diversa y generar germoplasma elite que permita incrementar por un lado la resistencia a *Pst* y concomitantemente el rendimiento y contenido de proteína en grano.

4.3. Fundamentos para la elección de los genes *Yr5* – *Yr15* – *Yr17* – *Yr36*

Todo indica que las estrategias a utilizar para reducir la severidad de los daños ocasionados por *Pst* van por el lado de lograr combinar varios genes de resistencia cualitativa y cuantitativa para aumentar la durabilidad de la resistencia, tal como se propone en este estudio, introgresando los genes *Yr5* – *Yr15* – *Yr17* – *Yr36* (Rodríguez-García et al. 2019). Estos genes han mostrado efectividad frente a razas locales y se encuentran en los cultivares Patwin 515-HP y New Dirkwin (Miralles 2020). Además algunos de ellos han sido clonados (Tabla 3) (Bouvet 2019).

Además de lo mencionado, muestran otras características que resultan de interés para el objetivo planteado. Entre ellas, se encuentran localizados en cromosomas distintos. Esto indica que no hay ligamiento en repulsión, con lo cual la frecuencia esperada de gametas con el genotipo deseado estará determinada por la segregación independiente de los genes.

Otro aspecto de consideración es el ligamiento de algunos de estos genes para resistencia, con otros genes que contribuyen favorablemente para otros rasgos. Así, el gen *Yr36* se encuentra estrechamente ligado al gen *Gpc-B1* que afecta contenido de proteína en grano. En este caso el alelo para resistencia en *Yr36* va ligado con el alelo para alto contenido en grano en *Gpc-B1* (Uauy et al. 2005), característica deseable para mejorar la calidad industrial del trigo. Asimismo, el gen *Yr17* se encuentra estrechamente ligado al gen *Lr37* para resistencia a roya de la hoja y al gen *Sr38*, para resistencia a la roya del tallo de trigo (Helguera et al. 2003).

También es conveniente tener en cuenta el grado de ligamiento reportado entre marcadores y genes. En este caso, como se mencionara en la sección 3.10 los genes *Yr5*, *Yr15*, e *Yr36* han sido clonados, generándose marcadores de alta confiabilidad para el diagnóstico, en tanto que el *Yr17* cuenta con un marcador estrechamente ligado (Tabla 3).

Tabla 3. Genes *Yr* – Cromosomas – Clase de Resistencia - Clonado

Genes <i>Yr</i>	Cromosoma	Clase de Resistencia	Clonado	Referencia
<i>Yr5/YrSP</i>	2B	ASR	Si	(Marchal et al. 2018)
<i>Yr15/YrG303/YrH52</i>	1B	ASR	Si	(Klymiuk et al. 2018)
<i>Yr17</i>	2A	ASR	No	(Milus et al. 2015)
<i>Yr36</i>	6B	APR	Si	(Fu et al. 2009)

4.4. Recursos

- Variedades de trigo resistentes - compartidos por INTA Castelar y Marcos Juárez
- Variedades de trigo locales susceptibles, propiedad de la empresa
- Campo experimental
- Laboratorio para uso de marcadores moleculares

4.5. Características variedades susceptibles – resistentes

4.5.1. Variedades susceptibles

AGTT 19 - AGTT 23

Ambas presentan una buena calidad comercial e industrial con muy buena adaptación en la región triguera, ciclo intermedio-largo con rápida madurez, con buen rendimiento de grano y estabilidad media, pero con un moderado comportamiento frente a enfermedades como son la roya de la hoja, la roya del tallo y la fusariosis de la espiga.

4.5.2. Variedades resistentes

Patwin 515 HP (HWW)

Es una variedad de trigo Hard White Spring creada por la introducción del gen de alto contenido de proteína de grano en Patwin-515. Patwin-515HP tiene una altura y un rumbo similares a los de Patwin-515 y Blanca Grande-515, con un rendimiento ligeramente mejor y un contenido de proteína de grano significativamente mayor. Patwin515HP tiene una excelente calidad de panificación, es inmune a la roya amarilla y es tolerante a BYDV y *Septoria tritici* blotch (CaliforniaWheatCommission 2018).

New Dirkwin

El nuevo Dirkwin es un trigo sin aristas tanto para heno como para ensilaje. Apto para la producción de fardos de excelente apariencia con valores alimenticios de alta calidad, a su vez que su altura y estructura foliar agregan tonelaje. Para combatir los problemas cada vez más generalizados de la roya en California (USA), se han introducido en la planta genes de resistencia a *Pst*, lo que proporciona una protección máxima al cultivo.

4.6. Metodologías

Consistirá en la aplicación por un lado de (1) principios genéticos clásicos basados en selección por observación de fenotipo, en filiales segregantes (partiendo de F2) generadas por cruzamientos simples entre los parentales detallados (Tabla 4), y utilizando el método genealógico como estrategia de conducción y selección en cada generación. Por otro lado, dicho proceso de selección será apoyado por herramientas biotecnológicas avanzadas a través de (2) MAS Selección Asistida por Marcadores Moleculares, herramientas basadas en el ADN, para asistir a los procesos de desarrollo de nuevas variedades que cumplan el objetivo planteado para este caso. Cabe destacar que estos marcadores moleculares no son influenciados por el ambiente y brindan información sobre las diferencias a nivel genotípico, entre individuos. Este aspecto es relevante para el objetivo planteado ya que, como se mencionara en secciones previas, existen efectos epistáticos entre genes para resistencia a enfermedades, y en consecuencia el apilamiento de varios genes se vuelve complejo si la selección se basa solo en el fenotipo. Además los marcadores moleculares pueden ser aplicados en

múltiples etapas del esquema de mejora brindando información útil para los mejoradores, sirven para identificar los genotipos más adecuados entre las progenies segregantes y son útiles para proteger los derechos de propiedad intelectual, entre otros usos.

4.7. Método genealógico o pedigree partiendo de híbridos simples

En este caso se opta por este método por las siguientes razones. Implica una selección correcta de parentales para lograr una adecuada complementación de caracteres, muchos de los cuales son de herencia compleja y requieren de la evaluación familiar para ser más efectivos en la selección. Es así que arranca con el cruzamiento de los parentales (hibridación) para luego en sucesivas descendencias (desde F₂ hasta F₇₋₈) ir seleccionando los fenotipos resistentes a *Pst*, y con buen potencial agronómico, por lo tanto esto lleva además de la necesidad de muchos recursos, costos, muchos años hasta obtener la variedad resistente que se pretende lograr.

De este modo las etapas a cumplir son:

- Cruzamiento entre variedades locales susceptibles del banco de germoplasma de trigo de la empresa con variedades resistentes, disponibles para ser compartidas por INTA Castelar y Marcos Juárez, que serán utilizadas como donadoras (Tabla 4).
- Puesta a punto en laboratorio de la empresa de los marcadores disponibles para cada uno de los genes de resistencia a incorporar (Tabla 4) y verificación de polimorfismo entre los padres de las cruza para los marcadores selectos. Los marcadores selectos se usarán para corroborar que los individuos F₁ sean heterocigotas, y descartar posibles autofecundaciones que no cumplan con los objetivos planteados de resistencia a *Pst*, y para selección en las generaciones siguientes.
- Como producto final se espera la obtención de materiales elite superiores a los parentales para diferentes caracteres como productividad pero principalmente resistencia estable y duradera a *Pst*.

Tabla 4. Variedades de trigo argentino Susceptibles vs Resistentes

Variedades Susceptibles - Pszenica S.A.	Variedades Resistentes (Donantes) – Genes de resistencia	Genes de Resistencia a <i>Pst</i>
AGTT 19	Patwin 515-HP	Yr5 – Yr15 – Yr17 – Yr36
AGTT 23	New Dirwin	Yr5 – Yr15 – Yr17 – Yr36

Los materiales donantes corresponden a genes disponibles para ser introgresados a las variedades en Argentinas compartidos por INTA Castelar y Marcos Juárez (Dubcovsky 2018; Miralles 2020)

4.8. Descripción del programa de cruzamientos y selección – Método genealógico o pedigree partiendo de híbridos simples

Se planifican los siguientes cruces → Susceptibles x Resistentes (Donador) y evaluación de resistencia a *Pst* como también rendimiento. En primer lugar se comenzará por el cruzamiento sexual o hibridación de las líneas disponibles, que se supone complementarias en cuanto a los genes a reunir, resistencia en las variedades donantes y productividad en las variedades susceptibles (Tabla 4).

A partir de los parentales seleccionados, se realizará la siembra en campo para luego proceder con los respectivos cruzamientos para obtener semilla F1. La obtención de la F1 implica los procedimientos de castración e hibridación de los parentales y luego la siembra masal de F1, aunque no demasiado densa para identificar y eliminar los genotipos provenientes de autofecundación por errores en la castración.

Como son un conjunto de variedades que reúnen los genes a combinar, la generación F1 procederá de cruzamientos simples ($P1 \times P2$) (Tabla 5).

Tabla 5. Híbridos simples propuestos

<i>Híbridos Simples</i>				
N°	Susceptibles		Donantes	F1
1	AGTT 19	X	Patwin 515-HP	F1A
2	AGTT 19	X	New Dirwin	F1B
3	AGTT 23	X	Patwin 515-HP	F1C
4	AGTT 23	X	New Dirwin	F1D

Con la semilla obtenida de la F1 no se realizará selección ya que forman una población de plantas genéticamente idénticas; la F1 se autopoliniza para producir una población F2.

La planificación del avance en el programa de selección requiere tener el conocimiento del tamaño mínimo de la población que permita una asignación eficiente de los recursos a la vez que garantice una alta probabilidad de éxito para el objetivo planteado sin consumir más recursos de los necesarios. Con esta premisa, y teniendo en cuenta que las estrategias que aumentan la frecuencia de los alelos objetivo deberían mejorar la eficiencia de MAS al permitir poblaciones más pequeñas o selección en más loci (Bonnett et al. 2005), a partir de la siembra de plantas F2 comenzarán los ciclos de selección, tomando como criterios la valoración fenotípica para rasgos agronómicos, y el dato de marcadores moleculares para los genes objetivo. En etapas tempranas de selección (F2 y F3) se seleccionarán a individuos portadores de alelos para resistencia en los 4 genes (sean homocigotas o heterocigotas) y descartando el resto. El objetivo es aumentar la frecuencia de esos alelos deseados en el material bajo selección por otros rasgos. De haber seleccionado individuos que simultáneamente muestren homocigosis en los cuatro genes *Pst*, dentro de la población posible de ser manejada, redundaría en

una alta presión de selección, disminuyendo las posibilidades de observar variabilidad para el resto de los rasgos de interés.

Los tamaños de población (N) mínimos necesarios para recuperar los genotipos objetivos, considerando una probabilidad específica de éxito (P) y frecuencias genotípicas (f) se calcularon de acuerdo con la siguiente fórmula (Hanson 1959):

$$N = \log_n(1 - P) / \log_n(1 - f)$$

Donde:

N = tamaño mínimo de la población

P = Probabilidad de éxito deseado (95%)

f = Frecuencia del evento deseado ((75%)⁴)

El cálculo determina que es esperable encontrar con un 95% de probabilidades de éxito 1 individuo portador de alelos para resistencia en los cuatro genes, cada 8 individuos F2. Para cada híbrido se contemplan sembrar 2000 semillas F2, por lo que se esperan detectar alrededor de 250 con el genotipo mencionado. Esta semilla será cosechada por plantas (familias), continuando el proceso a través de la conducción de segregantes: **método genealógico o pedigree**. A partir de F4, se seleccionarán individuos homocigotas en aquellas familias aún segregantes para algunos de los genes de resistencia considerados.

De este modo, en etapas tempranas de selección, la frecuencia de los alelos deseados tomando el conjunto de plantas que quedan luego de cada selección será mayor, y en consecuencia en las sucesivas generaciones segregantes habrá más chances de encontrar homocigotas, y que por lo tanto se manifiesten la complementación de caracteres deseada por resistencia a *Pst* y rendimiento, seleccionando las plantas (familias) de las cuales se cosecharan sus semillas para continuar con el método genealógico y lograr así conseguir líneas homocigotas que combinen las características de resistencia a *Pst* y rendimiento.

4.9. Descripción de los ensayos en campo experimental

La siembra de la F2 deberá ser espaciada, para así poder realizar una selección individual según los caracteres de interés e inicio del registro genealógico. Luego entre la F3 a F5 la siembra también será espaciada, con selección combinada entre y dentro de familias (las mejores familias y dentro de ellas los mejores individuos). Entre F3 – F5 se irán seleccionando las mejores familias y dentro de cada familia seleccionada se seleccionarán (positivamente) las mejores plantas. La semilla de cada planta F3 – F5 seleccionada se cosecha por separado y constituye una familia en la siguiente generación. Las familias F3 – F5 se siembran espaciadamente en surcos o parcelas, y donde cada familia ocupará exclusivamente un surco o parcela. De esa manera y de forma análoga se procede en las generaciones F3 – F5 (Figura 8).

Entre la F6 a F7 siembra espaciada entre líneas y densa dentro de líneas, selección de las mejores líneas y micromultiplicación de semilla de las líneas superiores. A partir de la F8 a F10 se podrá observar que la heterogeneidad dentro de cada familia ya habrá disminuído, lo cual se debe al aumento de la homocigosis como consecuencia de la autofecundación continuada y a que cada familia procede de la autofecundación de una sola planta. Por ende al haber alcanzado un alto grado de homocigosis y homogeneidad, y las plantas seleccionadas darán lugar a una descendencias llamadas genearcas a partir de las cuáles se inician los ECR (ensayos comparativos de rendimiento) de las líneas puras (LP) promisorias. Estos ensayos se realizan en distintos ambientes (diferentes años y diferentes localidades), evaluando principalmente el comportamiento respecto a resistencia a *Pst*, además el rendimiento y contenido de proteína en grano (que por el ligamiento *Yr36/Gpc-B1* mencionado se espera haber mejorado) y variables asociadas a calidad panadera. La nueva variedad será la mejor LP de acuerdo con los objetivos del presente programa de mejoramiento genético diseñado. Finalmente se concluye con la inscripción de la variedad, protección de la propiedad intelectual y multiplicación comercial de semilla.

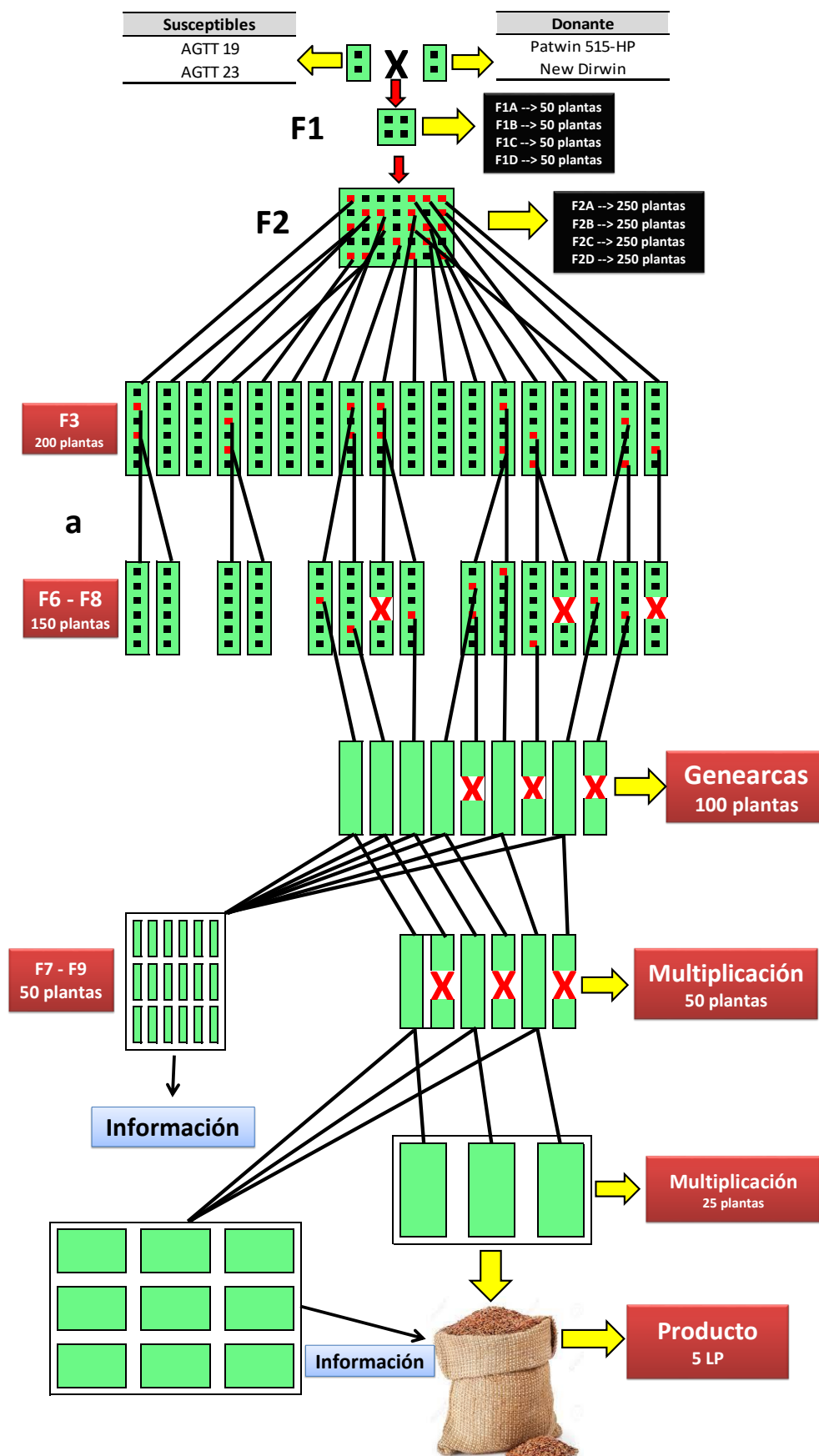


Figura 8. Cruzamiento de líneas parentales seleccionadas y esquema de selección según método genealógico complementado con MAS

4.10. Descripción de las pruebas de laboratorio y recursos empleados

Como se mencionó anteriormente para cada gen de resistencia a *Pst* se describen sus marcadores (Tabla 6). Un buen marcador que discrimine genotipos se denomina polimórfico, mientras que los marcadores que no discriminan entre genotipos se denominan marcadores monomórficos (Figura 9) (Collard et al. 2005).

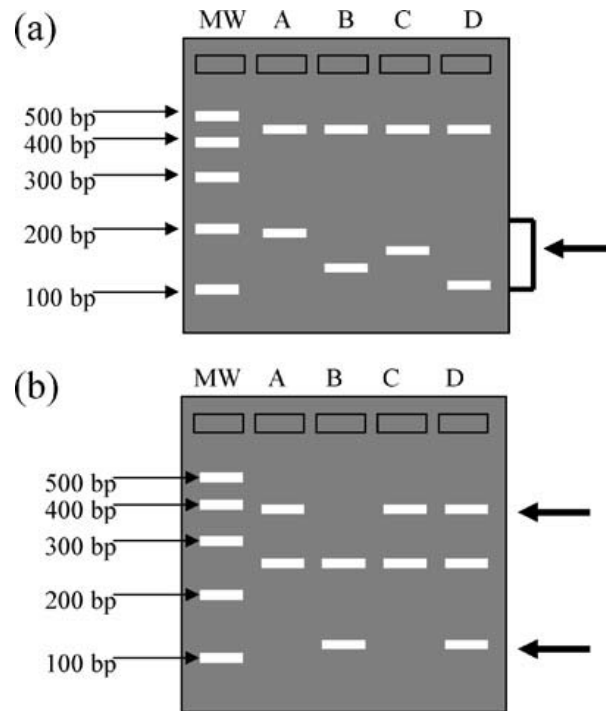


Figura 9. Diagrama - Marcadores Polimórficos (Collard et al. 2005)

Diagrama que representa marcadores moleculares hipotéticos entre los genotipos A, B, C y D. Los marcadores polimórficos se indican mediante flechas. Los marcadores que no discriminan entre genotipos se denominan marcadores monomórficos. (a) Ejemplo de marcadores SSR. El marcador polimórfico revela diferencias de tamaño para los alelos de los cuatro genotipos y representa un solo locus genético. (b) Ejemplos de marcadores generados por la técnica RAPD. Estos marcadores pueden estar presentes o ausentes. Los tamaños de estos marcadores en pares de bases de nucleótidos (pb) se estiman a partir de una escalera de fragmentos de ADN de peso molecular conocido (MW). Para ambos marcadores polimórficos, solo hay dos alelos diferentes.

Los marcadores polimórficos también pueden describirse como codominantes o dominantes. Esta descripción se basa en si los marcadores pueden discriminar entre homocigotos y heterocigotos (Figura 10). Los marcadores codominantes indican diferencias de tamaño, mientras que los marcadores dominantes están presentes o ausentes. Estrictamente hablando, las diferentes formas de un marcador de ADN (por ejemplo, bandas de diferentes tamaños en geles) se denominan "alelos" del marcador. Los marcadores codominantes pueden tener muchos alelos diferentes, mientras que un marcador dominante solo tiene dos alelos.

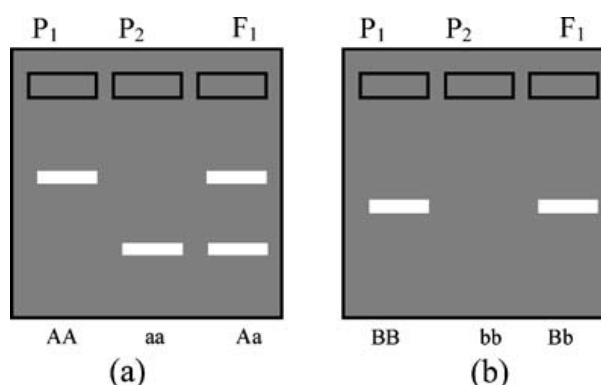


Figura 10. Diagrama - Marcadores Polimórficos (dominantes – codominantes) (Collard et al. 2005)

Comparación entre marcadores (a) codominante y (b) dominante. Los marcadores codominantes pueden discriminar claramente entre homocigotos y heterocigotos mientras que los marcadores dominantes no lo hacen. Los genotipos para el locus de cada marcador (A y B) se indican debajo de los diagramas de gel.

Cabe mencionar que ciertos genes asociados a la roya amarilla presentan marcadores morfológicos que permiten determinar su presencia. Tal es el caso de la necrosis en la punta de hoja (Ltn= Leaf tip necrosis), un marcador morfológico que se manifiesta al encontrarse el gen *Yr18*, un gen que combinado a otros genes ayuda a reducir la severidad de la enfermedad, pero individualmente es insuficiente. Este mismo marcador permite identificar los genes de la roya de la hoja *Lr34* ligado al *Lr46* (Julio et al. 2012). En este caso, el gen *Lr34* es el mismo que condiciona resistencia a roya amarilla y se denomina como *Yr18* (Krattinger et al. 2009). En tanto que las líneas portadoras de los genes *Yr5a* y *Yr15* no se pueden diferenciar fenotípicamente, por lo que es necesario el uso de marcadores moleculares para poder detectarlos en forma individual o en conjunto (Valdez-Rodríguez et al. 2020).

Tabla 6. Genes de Resistencia *Yr5*, *Yr15*, *Yr17* y *Yr36* a *Pst* y Marcadores Moleculares (MASWheat 2023)

Marcadores Moleculares	Genes de Resitencia a <i>Pst</i>		Herencia
CAPS markers	Yr5	Yr15	Codominante
CAPS markers for Lr37-Yr17-Sr38		Yr17	Codominante
KASP markers	Yr5	Yr15	Codominante
PCR markers for Lr37-Yr17-Sr38		Yr17	Dominante
PCR markers for Gpc-B1 and Yr36		Yr36	Codominante
RGAP markers	Yr5		Dominante / Codominante
SSR markers		Yr15	Codominante
STS markers	Yr5		Codominante

Los marcadores moleculares son generalmente neutros debido a que usualmente se localizan en regiones no codificantes del ADN (Collard et al. 2005) y además revelan sitios de variación en el ADN (N. Jones et al. 1997). Al ser abundantes son los más utilizados en el análisis del germoplasma vegetal siendo generados por diferentes tipos de mutaciones en el ADN así como mutaciones por substitución (puntuales), reordenamientos (inserciones o deleciones) o errores en la replicación del ADN en tándem (Paterson 1996).

4.11. Discusión del Método Genealógico (Pedigree) propuesto

Una vez concluido el método de pedigree se espera haber logrado la eliminación de evaluaciones fenotípica no confiable asociada con los ensayos de campo debido a los efectos ambientales; la selección de genotipos en etapa de plántula; y la piramidación de genes o combinación de múltiples genes simultáneamente (*Yr5 – Yr15 – Yr17 – Yr36*).

Con pruebas moleculares a través de la selección por MAS se espera haber logrado una nueva variedad o variedades caracterizadas y a su vez diferenciadas de otras variedades mediante la descripción comparativa de caracteres fisiológicos resistencia a *Pst* y además estables (alta heredabilidad), como así también con la seguridad y confiabilidad sobre la identificación y diferenciación por caracterización molecular comparada con otra/otras variedades de referencia previamente inscriptas.

5. Discusiones y conclusiones finales

Más de 15 genomas de referencia de *Pst* están disponibles públicamente. Las predicciones bioinformáticas han indicado que existen más de 1000 proteínas efectoras en el genoma de *Pst*; sin embargo, aún no se ha explorado su papel específico durante el proceso de infección. Los avances en el campo de la bioinformática y la genómica ayudarán a comprender el proceso de patogenicidad y la evolución racial de *Pst*. También está disponible el borrador del genoma del trigo, que también debe explorarse para NBS-LRR y otras familias de genes utilizando herramientas bioinformáticas para descubrir genes de resistencia a *Pst* putativos para el desarrollo de cultivares de trigo duraderos resistentes a *Pst* (Schwessinger 2017b; Li et al. 2019; Z. Wang et al. 2019; Eversole et al. 2020; Jamil et al. 2020).

Desde el punto de vista del mejoramiento, y uso de genes *YR*, en general, se sabe que el gen *Yr5* en el trigo confiere resistencia a *Pst* en todo el mundo. Sin embargo, algunos informes indicaron que algunos aislamientos del patógeno de la roya amarilla fueron virulentos en los genotipos de trigo con *Yr5* en India, Australia y China (Nagarajan 1986; Wellings y McIntosh 1990; Zhang et al. 2020). Asimismo, en abril de 2020, Tekin et al. (2021) observaron una infección por roya amarilla en *Triticum spelta* 'Album' (TSA), el donante *Yr5*, proporcionado por Turkey Seed Gene Bank, en un campo de cultivo de trigo en la estación experimental de la Universidad de Akdeniz en

la provincia de Antalya en Turquía. La muestra se analizó en las plántulas de las líneas de un solo gen *Yr* en el fondo Avocet S (AvS) (líneas diferenciales), incluida la línea casi isogénica *Yr5* (AvSYr5NIL), TSA y la variedad de trigo harinero susceptible 'Morocco' de acuerdo con el procedimiento informado por A. M. Wan y Chen (2014), y se encontró que era altamente virulento sobre "Morocco" con el tipo de infección (IT) 9 y virulento en AvSYr5NIL y TSA con IT 7. Para confirmar este hallazgo novedoso, se obtuvieron aislados de pústula única derivados de esta muestra de TSA y nuevamente probados en los diferenciales y TSA. Los aislamientos se identificaron como una nueva raza y se denominaron temporalmente TRVR20-5 según su patrón *Avr/Vr* (Tekin et al. 2021).

Del mismo modo Zhang et al. (2020) en junio de 2017, obtuvieron una muestra de roya amarilla del campo de trigo de invierno (cultivar desconocido) de un agricultor en la etapa de crecimiento de la planta adulta en Guancun, ciudad de Xinjie, Baoji, Shaanxi, China. Cuando la muestra se probó en plántulas del conjunto chino de 19 diferenciales, incluido *Triticum spelta* 'Album' (TSA), el donante *Yr5* (Chen et al. 2009), más líneas de un solo gen *Yr* en el fondo Avocet S (AvS) que incluye la línea casi isogénica *Yr5* (AvSYr5NIL) y los genotipos que poseen uno o más genes *Yr* utilizando los procedimientos estándar (Wang et al. 2016), fue virulenta con el tipo de infección (IT) 9 en AvSYr5NIL y también virulenta con IT 7 en TSA. Tal virulencia de *Yr5* nunca se había visto con aislamientos anteriores de *Pst* recolectados en China. Se obtuvieron varios aislados de uredinio simple de TSA o AvSYr5NIL y se probaron en los genotipos de trigo anteriores; todos produjeron resultados similares y confirmaron la virulencia de *Yr5*.

Estas evidencias sugieren que no debe descuidarse el riesgo que implica la posibilidad de quiebre de resistencia del *Yr5*, aumentando la vulnerabilidad del cultivo si esta base genética no se combina con otros genes en variedades a difundir, o si no se procura diversificar en los genes para resistencia a explotar en los programas de mejoramiento. Para generar una resistencia estable y duradera a la roya lineal, es necesario descubrir más y nuevos loci de resistencia que a su vez muestren resistencia estable de alto nivel en los ambientes que se prueben. Por ello será importante identificar las accesiones que alberguen los genes de resistencia a partir de los resultados de un enfoque analítico GWAS que puedan revelar los QTL asociados con los marcadores SNP y a los fenotipos, encontrando a su vez los alelos favorables para la resistencia a la roya amarilla. Por otra parte los marcadores SNP con grandes efectos fenotípicos tanto para resistencia en todas las etapas como para APR se pueden convertir en marcadores KASP o STARP para usar en programas de mejoramiento y premejoramiento asistidos por marcadores (Xueling et al. 2019; Mahmood et al. 2022).

Bibliografía

- Agrios, George N. (2005), «**Plant Pathology. Fifth Edition.**», Elsevier. Academic Press. Department of Plant Pathology. University of Florida. 5th ed. (ISBN 0-12-044565-4 (hardcover: alk. paper)): pp.:1-948.
- Barnes, Gerry, Diane G. O. Saunders, y Tom Williamson (2020), «**Banishing barberry: The history of *Berberis vulgaris* prevalence and wheat stem rust incidence across Britain**», *Plant Pathology* 69 (7): pp.:1193-1202. doi:<https://doi.org/10.1111/ppa.13231>.
- Barrus, M. F. (1911), «**Variation in varieties of bean in their susceptibility to anthracnose**», *Phytopathology* 1: pp.:190–195.
- Biffen, Rowland Harry (1905), «**Mendel's Laws of Inheritance and Wheat Breeding**», *The Journal of Agricultural Science* 1 (1): pp.:4-48. doi:[10.1017/s0021859600000137](https://doi.org/10.1017/s0021859600000137).
- Bingham, I. J., y Adrian C. Newton (2009), «**Crop tolerance of foliar pathogens: possible mechanisms and potential for exploitation, in Disease Control**», In: *Crops – Biological and Environmentally Friendly Approaches*, ed D. Walters (Chichester, UK: Wiley-Blackwell): pp.:142–161. doi:[10.1002/9781444312157.ch7](https://doi.org/10.1002/9781444312157.ch7).
- Bonnett, D.G., G.J. Rebetzke, y W. Spielmeyer (2005), «**Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding**», *Molecular Breeding* 15: pp.:75–85.
- Bouvet, Laura Carmen Suzanne (2019), «**Dissecting the genetic basis of wheat yellow rust resistance in the NIAB Elite MAGIC population**», *Lucy Cavendish College. National Institute of Agricultural Botany. University of Cambridge. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy.*: pp.:1-236.
- Bouvet, Laura Carmen Suzanne, Sarah Holdgate, Lucy James, Jane Thomas, Ian J. Mackay, y James Cockram (2021), «**The evolving battle between yellow rust and wheat: implications for global food security**», *Theoretical and Applied Genetics*: pp.:1-14. doi:<https://doi.org/10.1007/s00122-021-03983-z>.
- Bouvet, Laura Carmen Suzanne, Lawrence Percival-Alwyn, Simon Berry, Paul Fenwick, Camila Campos Mantello, Rajiv Sharma, Sarah Holdgate, Ian J. Mackay, y James Cockram (2022), «**Wheat genetic loci conferring resistance to stripe rust in the face of genetically diverse races of the fungus *Puccinia striiformis* f. sp. tritici**», *Theoretical and Applied Genetics* 135: pp.:301–319. doi:<https://doi.org/10.1007/s00122-021-03967-z>.
- Burbano-Figueroa, Óscar (2020), «**Resistencia de plantas a patógenos: una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal**», *Revista Argentina de Microbiología. Elsevier (España).*: pp.:245-255. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.006>.
- CaliforniaWheatCommission (2018), «**Informe de Calidad de Cultivos de 2018 HR / HW. 2018 Hard Red Trigo / Hard White Trigo**», *California Wheat Commission*.

Web: *californiawheat.org*: pp.:1-9.

Campos, Pablo Eduardo (2017), «**Identificación de razas exóticas de roya amarilla en región triguera argentina**», *EEA INTA Bordenave*: pp.:1-6.

——— (2019), «**Estado de Situación de las royas de trigo en Argentina. Campaña 2019**», *EEA INTA Bordenave*: pp.:1-5.

Campos, Pablo Eduardo, Norma Formento, Lucrecia Couretot, y Enrique Alberione (2016), «**Aparición epifítica de roya amarilla del trigo en la región pampeana argentina**», *EEA Bordenave - EEA Paraná - EEA Pergamino - EEA Marcos Juárez*: pp.:1-5.

Cantu, Dario, Manjula Govindarajulu, Alex Kozik, Meinan Wang, Xianming Chen, Kenji K. Kojima, Jerzy Jurka, Richard W. Michelmore, y Jorge Dubcovsky (2011), «**Next Generation Sequencing Provides Rapid Access to the Genome of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici, the Causal Agent of Wheat Stripe Rust**», *PLoS One* 6 (8): e24230. doi:10.1371/journal.pone.0024230.

Cantu, Dario, Vanesa Segovia, Daniel MacLean, Rosemary Bayles, Xianming Chen, Sophien Kamoun, Jorge Dubcovsky, Diane G.O. Saunders, y Cristobal Uauy (2013), «**Genome analyses of the wheat yellow (stripe) rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. tritici reveal polymorphic and haustorial expressed secreted proteins as candidate effectors**», *BMC Genomics* 14 (270). doi:10.1186/1471-2164-14-270.

Carmona, Marcelo, y Francisco Sautua (2017), «**Roya amarilla del trigo. Nuevas razas en el mundo, monitoreo y uso de fungicidas**», *Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología.*: pp.:1-15.

——— (2018), «**Epidemias de roya amarilla del trigo. nuevas razas en el mundo, monitoreo y decisión de uso de fungicidas**», *agronomía&ambiente. Rev. Facultad de Agronomía UBA* 38 (1): pp.:37-58.

Catanzariti, Ann-Maree, Peter N. Dodds, Gregory J. Lawrence, Michael A. Ayliffe, y Jeffrey G. Ellis (2006), «**Hauatorially expressed secreted proteins from flax rust are highly enriched for avirulence elicitors**», *The Plant Cell* 18 (1): pp.:243-256. doi:10.1105/tpc.105.035980. Epub 2005 Dec 2.

Chen, Wanquan, Colin Ross Wellings, Xianming Chen, Zhengsheng Kang, y Taiguo Liu (2014), «**Pathogen profile. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. tritici**», *Molecular Plant Pathology* 15 (5): pp.:433–446. doi:10.1111/mp.12116.

Chen, Xianming (2005), «**Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. tritici] on wheat**», *Canadian Journal of Plant Pathology* 27 (3): pp.:314–337. doi:https://doi.org/10.1080/07060660509507230.

——— (2020), «**Pathogens which threaten food security: *Puccinia striiformis*, the wheat stripe rust pathogen**», *Food Security* 12: pp.:239–251. doi:10.1007/s12571-020-01016-z.

Chen, Xianming, y Z. Kang (2017a), «**Integrated Control of Stripe Rust.**», In: Chen, X. M. and Z. Zang (Eds.). *Stripe Rust. Springer Netherlands.*: pp.:559-599.

doi:10.1007/978-94-024-1111-9.

- (2017b), «**Stripe Rust Research and Control: Conclusions and Perspectives.**», In: *Chen, X. M. and Z. Zang (Eds.). Stripe Rust. Springer Netherlands.*: pp.:601-630. doi:10.1007/978-94-024-1111-9.
- Chen, Xianming, Marcelo A. Soria, Guiping Yan, Jun Sun, y Jorge Dubcovsky (2003), «**Development of Sequence Tagged Site and Cleaved Amplified Polymorphic Sequence Markers for Wheat Stripe Rust Resistance Gene Yr5**», *Crop Science* 43: pp.:2058-2064. doi:10.2135/cropsci2003.2058.
- Cheng, Yulin, Kuan Wu, Juanni Yao, Shumin Li, Xiaojie Wang, Lili Huang, y Zhensheng Kang (2017), «**PSTha5a23, a candidate effector from the obligate biotrophic pathogen Puccinia striiformis f. sp. tritici, is involved in plant defense suppression and rust pathogenicity**», *Environmental Microbiology* 19 (5): pp.:1717–1729. doi:10.1111/1462-2920.13610.
- Chester, K.S. (1946), «**The Nature and Prevention of the Cereal Rusts as Exemplified in the Leaf Rust of Wheat**», *Chronica Botanica*: pp.:1-269.
- Collard, B. C. Y., M. Z. Z. Jahufer, J. B. Brouwer, y E. C. K. Pang (2005), «**An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts**», *Euphytica* 142: pp.:169–196. doi:https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5.
- Coram, Tristan E., Matthew L. Settles, y Xianming Chen (2008), «**Transcriptome analysis of high-temperature adult-plant resistance conditioned by Yr39 during the wheat-Puccinia striiformis f. sp. tritici interaction**», *Molecular Plant Pathology* 9 (4): pp.:479-493. doi:10.1111/j.1364-3703.2008.00476.x.
- Cromey, MG (1989), «**Infection and control of stripe rust in wheat spikes.**», *N Z J Crop Hortic Sci* 17: pp.:159–164.
- Dubcovsky, Jorge (2018), «**Herramientas biotecnológicas aplicadas al mejoramiento de la producción**», *Herramientas biotecnológicas aplicadas al mejoramiento de la producción. Ph.D. Jorge Dubcovsky. En: A todo trigo 04/03/2023* <https://www.agrositio.com.ar/videoconferencias/atodotrigo2018/diferido.php>.
- Duplessis, S., D.L. Joly, y P.N. Dodds (2012), «**Rust effectors**», In *Effectors in Plant-Microbe Interactions. Martin, F. and Kamoun, S.. (Eds.). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.*: pp.:155–193.
- Ellis, Jeffrey G., Evans S. Lagudah, Wolfgang Spielmeier, y Peter N. Dodds (2014), «**The past, present and future of breeding rust resistant wheat**», *Frontiers in Plant Science* 5: pp.:641. doi:10.3389/fpls.2014.00641.
- Eversole, K., J. Rogers, y I. Caugant (2020), «**The international wheat genome sequencing consortium**», In: *Plant and Animal Genome XXVI Conference*: pp.:13-17.
- Farrakh, Sumaira, Meinan Wang, y Xianming Chen (2018), «**Pathogenesis-related protein genes involved in race-specific allstage resistance and non-race specific high-temperature adultplant resistance to Puccinia striiformis f. sp. tritici in wheat**», *Journal of Integrative Agriculture* 17 (11): pp.:2478–2491.

- Flor, H.H. (1971), «**Current status of the gene-for-gene concept**», *Annu Rev Phytopathol* 9: pp.96-275.
- Franco, M. F., A. N. Polacco, P. E. Campos, A. C. Pontaroli, y L. S. Vanzetti (2022), «**Genome-wide association study for resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) races in Argentina**», *BMC Plant Biology* 22 (543): pp.:1-17. doi:https://doi.org/10.1186/s12870-022-03916-y.
- French, Elizabeth, Bong-Suk Kim, y Anjali S. Iyer-Pascuzzi (2016), «**Mechanisms of quantitative disease resistance in plants**», *Seminars in Cell & Developmental Biology* 56: pp.:201-208. doi:https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.05.015.
- Fu, Daolin, Cristobal Uauy, Assaf Distelfeld, Ann Blechl, Lynn Epstein, Xianming Chen, Hanan Sela, Tzion Fahima, y Jorge Dubcovsky (2009), «**A kinase-START gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust**», *Science* 323 (5919): pp.:1357-1360. doi:10.1126/science.1166289.
- Garnica, Diana P., Adnane Nemri, Narayana M. Upadhyaya, John P. Rathjen, y Peter N Dodds (2014), «**The Ins and Outs of Rust Haustoria**», *PLoS Pathogens* 10 (9 e1004329): e1004329. doi:https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004329.
- Guo, Q., Z. J. Zhang, Y. B. Xu, G. H. Li, J. Feng, y Y. Zhou (2008), «**Quantitative trait loci for high-temperature adult-plant and slow-rusting resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in wheat cultivars**», *Phytopathology* 98 (7): pp.:803-809. doi:10.1094/PHYTO-98-7-0803.
- Gupta, Dharmendra K., José M. Palma, y Francisco J. Corpas (2015), «**Production Sites of Reactive Oxygen Species (ROS) in Organelles from Plant Cells**», *In book: Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress*: pp.:1-22. doi:10.1007/978-3-319-20421-5_1.
- Hahn, Matthias, y Kurt Mendgen (1997), «**Characterization of in planta-induced rust genes isolated from a haustorium-specific cDNA library**», *Mol Plant Microbe Interact* 10 (4): pp.:427-437. doi:10.1094/MPMI.1997.10.4.427.
- Hanson, W. D. (1959), «**Minimum Family Sizes for the Planning of Genetic Experiments**», *Agronomy Journal* 51: pp.:711-715. doi:https://doi.org/10.2134/agronj1959.00021962005100120005x.
- Hart, H., y H. Becker (1939), «**Beitrage zur Frage des Zwischenwirtes für *Puccinia glumarum* Z. pflanzenkr**», (*Pflanzenpathol.*) *Pflanzenschutz* 49: pp.:559-566.
- Hassan, S.F., M. Hussain, y S.A. Rizvi (1979), «**Wheat disease situation in Pakistan**», *Proceedings National Seminar on Wheat Research and Production, Islamabad*: pp.:231-234.
- Hawku, Mehari Desta, Fuxin He, Xingxuan Bai, Md Ashraful Islam, Xueling Huang, Zhensheng Kang, y Jun Guo (2022), «**A R2R3 MYB Transcription Factor, TaMYB391, Is Positively Involved in Wheat Resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici***», *International Journal of Molecular Sciences* 23 (22): pp.:1-18. doi:https://doi.org/10.3390/ijms232214070.
- Helguera, M., I. A. Khan, J. Kolmer, D. Lijavetzky, L. Zhong-qi, y J. Dubcovsky

- (2003), «**PCR Assays for the Lr37-Yr17-Sr38 Cluster of Rust Resistance Genes and Their Use to Develop Isogenic Hard Red Spring Wheat Lines**», *Crop Science Society of America* 43: pp.:1839–1847. doi:<https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1839>.
- Hovmøller, Mogens Støvring, Chris K. Sørensen, Stephanie Walter, y Annemarie F. Justesen (2011), «**Diversity of Puccinia striiformis on cereals and grasses**», *Annual Review of Phytopathology* 49: pp.:197-217. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095230>.
- Hovmøller, Mogens Støvring, S Walter, RA Bayles, A Hubbard, K Flath, N Sommerfeldt, M Leconte, et al. (2016), «**Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the centre of diversity in the near-Himalayan region.**», *Plant Pathology* 65: pp.:402–411. doi:10.1111/ppa.12433.
- Hubbard, A, C Lewis, K Yoshida, R Ramirez-Gonzalez, Claude de Vallavieille-Pope, y J Thomas (2015), «**Field pathogenomics reveals the emergence of a diverse wheat yellow rust population.**», *Genome Biol*: pp.:16:23.
- Jamil, Shakra, Rahil Shahzad, Shakeel Ahmad, Rida Fatima, Rameesha Zahid, Madiha Anwar, Muhammad Zaffar Iqbal, y Xiukang Wang (2020), «**Role of Genetics, Genomics, and Breeding Approaches to Combat Stripe Rust of Wheat**», *Frontiers in Nutrition* Volumen 7 (Article 580715): pp.:1-12. doi:10.3389/fnut.2020.580715.
- Jin, Yue, Les J Szabo, y Martin Carson (2010), «**Century-old mystery of Puccinia striiformis life history solved with the identification of Berberis as an alternate host**», *Phytopathology* 100 (5): pp.:432-435. doi:10.1094/PHYTO-100-5-0432.
- Johnson, R. (1978), «**Practical breeding for durable resistance to rust diseases in self-pollinating cereals**», *Euphytica. Author Affiliation: Pl. Breeding Inst., Cambridge, UK.* 27 (2-ISSN: 0014-2336): pp.:529-540 ref.44. doi:10.1007/BF00043179.
- Johnson, T., G. J. Green, y D. J. Samborski (1967), «**The World Situation of the Cereal Rusts**», *Annual Review of Phytopathology* 5: pp.:183-200. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev.py.05.090167.001151>.
- Johnson, V.A., y H.L. Beemer (1977), «**Wheat in the people's republic of China**», *National Academy of Sciences, Washington*: pp.:1-190.
- Jones, Jonathan D. G., y Jeffery L. Dangl (2006), «**The plant immune system**», *Nature* 444: pp:323-329. doi:10.1038/nature05286.
- Jones, Neil, Helen Ougham, y Howard Thomas (1997), «**Markers and mapping: We are all geneticists now**», *New Phytologist* 137 (1): pp.:165-177. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00826.x>.
- Joshi, L.M., L.B. Goel, y V.C. Sinha (1976), «**Role of the Western Himalayas in the annual recurrence of yellow rust in northern India**», *Cereal Rusts Bulletin* 4: pp.:27-30.
- Julio, Huerta Espino, Torres García1 Rocío, Rodríguez García María Florencia, Villaseñor Mir Héctor Eduardo, Leyva Mir Santos Gerardo, y Solís Moya Ernesto

- (2012), «**Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) cultivadas en Bajío**», *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3 (5): pp.:879-891. doi:10.29312/remexca.v3i5.1381.
- Karpiński, Stanisław, Magdalena Szechyńska-Hebda, Weronika Wituszyńska, y Paweł Burdiak (2013), «**Light acclimation, retrograde signalling, cell death and immune defences in plants**», *Plant, Cell and Environment* 36 (4): pp.:736-744. doi:https://doi.org/10.1111/pce.12018Citations: 120.
- Kema, G. H. J. (1992), «**Resistance in spelt wheat to yellow rust I. Formal analysis and variation for gliadin patterns**», In: *Euphytica* 63: pp.:207-217.
- Kemen, Eric, Ariane C. Kemen, Maryam Rafiqi, Uta Hempel, Kurt Mendgen, Matthias Hahn, y Ralf T. Voegelé (2005), «**Identification of a protein from rust fungi transferred from haustoria into infected plant cells**», *Molecular Plant Microbe Interactions* 18 (11): pp.:1130-1139. doi:10.1094/MPMI-18-1130.
- Kemen, Eric, Ariane Kemen, Andreas Ehlers, Ralf Voegelé, y Kurt Mendgen (2013), «**A novel structural effector from rust fungi is capable of fibril formation**», *The Plant Journal* 75 (5): pp.:767-780. doi:10.1111/tpj.12237. Epub 2013 Jun 10.
- Klymiuk, Valentina, Elitsur Yaniv, Lin Huang, Dina Raats, Andrii Fatiukha, Shisheng Chen, Lihua Feng, et al. (2018), «**Cloning of the wheat Yr15 resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family**», *Nature Communications* 9 (1): pp.:3735. doi:10.1038/s41467-018-06138-9.
- Krattinger, Simon G., Evans S. Lagudah, Wolfgang Spielmeier, Ravi P. Singh, Julio Huerta-Espino, Helen McFadden, Eligio Bossolini, Liselotte L. Selter, y Beat Keller (2009), «**A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat**», *Science* 323 (5919): pp.:1360-1363. doi:10.1126/science.1166453.
- Lamb, Chris, y Richard A. Dixon (1997), «**The Oxidative Burst In Plant Disease Resistance**», *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: pp.:251-275. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.251.
- Lan, C., M. S. Randhawa, J. Huerta-Espino, y R. P. Singh (2017), «**Genetic Analysis of Resistance to Wheat Rusts.**», In: Periyannan S. (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (New York, NY: Humana Press): pp.:137-149.
- Large, E.C. (1940), «**The Advance of the Fungi**», Jonathan Cape, London: pp.:1-488.
- Law, C. N. (1976), «**Genetic control of yellow rust resistance in *T. spelta album***», In: *Plant Breeding Institute, Cambridge, Annual Report*: pp.:108-109.
- Leonard, W.H., y J.H. Martin (1967), «**Cereal Crops**», Macmillan Company, New York.: pp.:1-824.
- Li, Yuxiang, Chongjing Xia, Meinan Wang, Chuntao Yin, y Xianming Chen (2019), «**Genome Sequence Resource of a *Puccinia striiformis* Isolate Infecting Wheatgrass**», *Phytopathology* 109 (9): pp.:1509-1512. doi:10.1094/PHYTO-02-19-0054-A.

- Lindquist, J. C. (1982), «**Royas de la República Argentina y zonas limítrofes**», *Colección científica del INTA*: pp.1-574.
- Liu, Changhai, Carsten Pedersen, Torsten Schultz-Larsen, Geziel B. Aguilar, Kenneth Madriz-Ordeñana, Mogens Støvring Hovmøller, y Hans Thordal-Christensen (2016), «**The stripe rust fungal effector PEC6 suppresses pattern-triggered immunity in a host species independent manner and interacts with adenosine kinases**», *New Phytologist*: pp.:1-13. doi:10.1111/nph.14034.
- Macer, R. C. F. (1966), «**The formal and monosomic genetic analysis of stripe rust (*Puccinia striiformis*) resistance in wheat**», In: *IJ. Mackey (ed.) Proc. of 2nd Int. Wheat Genet. Symp. Lund, Sweden 1963. Hereditas Suppl. 2*: pp.:127-142.
- Mahmood, Zahid, Mohsin Ali, Javed Iqbal Mirza, Muhammad Fayyaz, Khawar Majeed, Muhammad Kashif Naeem, Abdul Aziz, et al. (2022), «**Genome-Wide Association and Genomic Prediction for Stripe Rust Resistance in Synthetic-Derived Wheats**», *Frontiers in Plant Science* | www.frontiersin.org 13: pp.:1-19. doi:10.3389/fpls.2022.788593.
- Maloy, Otis C. (2005), «**Plant Disease Management**», *APS Education Center - American Phytopathological Society*: pp.:1-11. doi:10.1094/PHI-I-2005-0202-01.
- Marchal, Clémence, Jianping Zhang, Peng Zhang, Paul Fenwick, Burkhard Steuernagel, Nikolai M. Adamski, Lesley Boyd, et al. (2018), «**BED-domain-containing immune receptors confer diverse resistance spectra to yellow rust**», *Nature Plants* 4 (9): pp.:662–668. doi:10.1038/s41477-018-0236-4.
- MAS, Wheat (2022), «**Stripe rust resistance gene Yr5**», *Marker Assisted Selection in Wheat. Recuperado en: (30/05/2022)* <https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Yr5>.
- (2023), «**Stripe rust resistance genes. Protocols.**», *The complete list of protocols available on MASWheat. Recuperado (12/05/2023) en: https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stripe_rust_protocols*.
- McDonald, Bruce A., y Celeste Linde (2002), «**Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance**», *Annual Review of Phytopathology* 40: pp.:349-379. doi:10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443.
- McIntosh, R.A., Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, J. Rogers, C. Morris, R. Appels, y X.C. Xia (2013), «**Catalogue of gene symbols for wheat in 12th international wheat genetics symposium**», *Recuperado (03/02/2023) en: https://wheat.pw.usda.gov/GG3/wgc*.
- McIntosh, Robert Alexander, Colin Ross Wellings, y Robert Fraser Park (1995), «**Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes**», *CSIRO Publications, Victoria, Australia*: pp.:200. doi:10.1071/9780643101463.
- Mendgenf, Kurt, Christine Struck, Ralf T. Voegelé, y Matthias Hahn (2000), «**Biotrophy and rust haustoria**», *Physiological and Molecular Plant Pathology* 56 (4): pp.: 141-145. doi:https://doi.org/10.1006/pmpp.2000.0264.
- Milus, Eugene A., K. Kristensen, y Mogens Støvring Hovmøller (2009), «**Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici causing stripe rust of wheat.**», *Phytopathology* 99: pp.:89–94.

- Milus, Eugene A., Kevin D. Lee, y Gina Brown-Guedira (2015), «**Characterization of Stripe Rust Resistance in Wheat Lines with Resistance Gene Yr17 and Implications for Evaluating Resistance and Virulence**», *Phytopathology* 105 (8): pp.:1123-30. doi:10.1094/PHYTO-11-14-0304-R.
- Miralles, Daniel J. (2020), «**Herramientas genómicas y fisiológicas aplicadas al manejo de los cereales de invierno**», En: 04/03/2023 *Presentación de Daniel Miralles. Facultad de Agronomía UBA, CONICET e IFEVA. Av San Martin 4453 Buenos Aires ARGENTINA. miralles@agro.uba.ar https://creasudoeste.org.ar/wp-content/uploads/2020/08/Herramientas-genomicas-y-fisiologicas-aplica*: pp.:1-49.
- Mu, Jingmei, Lu Liu, Yan Liu, Meinan Wang, Deven R See, Dejun Han, y Xianming Chen (2020), «**Genome-Wide Association Study and Gene Specific Markers Identified 51 Genes or QTL for Resistance to Stripe Rust in U.S. Winter Wheat Cultivars and Breeding Lines**», *Frontiers in Plant Science* 11: pp:998. doi:10.3389/fpls.2020.00998.
- Nagarajan, S. (1986), «**Race 13 (67S8) of Puccinia striiformis Virulent on Triticum spelta var. album in India**», *Plant Disease - APS Journals. Disease Note*. 70: pp.:173. doi:10.1094/PD-70-173d.
- Nelson, R. R. (1978), «**Genetics of Horizontal Resistance to Plant Diseases**», *Annual Review of Phytopathology* 16: pp.:359-378. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.py.16.090178.002043.
- Newton, Adrian C. (2016), «**Exploitation of Diversity with in Crops — the Key to Disease Tolerance?**», *Hypothesis And Theory. Frontiers in Plant Science* 7 (665): pp.:1-12. doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00665.
- Orton, Thomas J. (2020), «**Chapter 19 - Breeding for Disease and Insect Resistance**», In: *Horticultural Plant Breeding. Academic Press 1st Editio* (eBook ISBN: 9780128155707): pp.:345-382.
- Panstruga, R., y P.N. Dodds (2009), «**Terrific protein traffic: the mystery of effector protein delivery by filamentous plant pathogens**», *Science* 324: pp.:748–750.
- Parlevliet, J. E., y J. C. Zadoks (1977), «**The integrated concept of disease resistance: A new view including horizontal and vertical resistance in plants**», *Euphytica* 26: pp.:5–21.
- Paterson, A.H. (1996), «**Making genetic maps**», In: A.H. Paterson (ed.). *Genome mapping in plants. Austin, Texas, USA. 330 p.*: pp.:41-54.
- Petre, Benjamin, Diane G. O. Saunders, Jan Sklenar, Cécile Lorrain, Ksenia V. Krasileva, Joe Win, Sébastien Duplessis, y Sophien Kamoun (2016), «**Heterologous Expression Screens in Nicotiana benthamiana Identify a Candidate Effector of the Wheat Yellow Rust Pathogen that Associates with Processing Bodies**», *PLoS One* 11 (2): pp.:1-16. doi:10.1371/journal.pone.0149035.
- Van Der Plank, James Edward (1963), «**Plant diseases: epidemics and control.**», *Academic Press, New York, London.*: pp.1-349. doi:https://doi.org/10.1016/C2013-0-11642-X.

- (1969), «**Pathogenic races, host resistance, and an analysis of pathogenicity.**», *Netherlands Journal of Plant Pathology* 75: pp.:45–52. doi:<https://doi.org/10.1007/BF02137192>.
- (1984), «**Disease resistance in plants**», *Academic Press Inc. Orlando*. 2.ed. (eBook ISBN: 9780323161985): pp.:1-194.
- Poland, Jesse A., Peter J. Balint-Kurti, Randall J. Wisser, Richard C. Pratt, y Rebecca J. Nelson (2009), «**Shades of gray: the world of quantitative disease resistance**», *Trends Plant Sci* 14 (1): pp.:21-29. doi:10.1016/j.tplants.2008.10.006.
- Presello, Daniel Alberto, Juliana Iglesias, y María Belén Kistner (2021), «**Genética de la resistencia a enfermedades en plantas**», *En curso de posgrado: Mejoramiento para resistencia a factores bióticos. EMGV EPG FAUBA. Especialización en Mejoramiento Genético Vegetal. Escuela para Graduados Ingeniero Agrónomo Alberto Soriano. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires*. 29, 3.
- Pretsch, Klara, Ariane Kemen, Eric Kemen, Matthias Geiger, Kurt Mendgen, y Ralf Voegelé (2013), «**The rust transferred proteins-a new family of effector proteins exhibiting protease inhibitor function**», *Molecular Plant Pathology* 14 (1): pp.:96-107.
- Qi, Tuo, Jia Guo, Peng Liu, Fuxin He, Cuiping Wan, Md Ashrafu Islam, Brett M. Tyler, Zhensheng Kang, y Jun Guo (2019), «**Stripe Rust Effector PstGSRE1 Disrupts Nuclear Localization of ROS-Promoting Transcription Factor TaLOL2 to Defeat ROS-Induced Defense in Wheat**», *Molecular Plant* 12: pp.:1624–1638. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.09.010>.
- RICA (2022), «**Razas de roya amarilla y del tallo en trigo e implicaciones para su control**», *Recuperado (19/09/2022) en: red de intercambio de conocimiento agroalimentario (rica) <https://chilorg.chil.me/post/392919/razas-de-roya-amarilla-y-del-tallo-en-trigo-e-implicaciones-para-su-control>*.
- Rodríguez-García, María F., Reyna I. Rojas-Martínez, Julio Huerta-Espino, Héctor E. Villaseñor-Mir, Emma Zavaleta-Mejía, José S. Sandoval-Islas, y José F. Crossa-Hiriart (2019), «**Genética de la resistencia a roya amarilla causada por Puccinia striiformis f. sp. tritici W. en tres genotipos de trigo (Triticum aestivum L.)**», *Revista Fitotecnia Mexicana* 42 (1): pp.:31-38.
- Rollar, Sandra, Manuel Geyer, Lorenz Hartl, Volker Mohler, Frank Ordon, y Albrecht Serfling (2021), «**Quantitative Trait Loci Mapping of Adult Plant and Seedling Resistance to Stripe Rust (Puccinia striiformis Westend.) in a Multiparent Advanced Generation Intercross Wheat Population**», *Frontiers in Plant Science* 12: pp.:1-15. doi:10.3389/fpls.2021.684671.
- Ronald, Pamela C., y Bruce Beutler (2010), «**Plant and Animal Sensors of Conserved Microbial Signatures**», *Science* 330 (6007): pp.:1061-1064. doi:10.1126/science.1189468.
- Rustérucci, C., D. H. Aviv, B. F. Holt 3rd, J. L. Dangl, y J. E. Parker (2001), «**The disease resistance signaling components EDS1 and PAD4 are essential regulators of the cell death pathway controlled by LSD1 in Arabidopsis**», *Plant Cell* 13 (10): pp.:2211-2224. doi:10.1105/tpc.010085.

- Schafer, J. F. (1971), «**Tolerance to plant disease**», *Annual Review of Phytopathology* 9: pp.:235–252. doi:10.1146/annurev.py.09.090171.001315.
- Schwessinger, Benjamin (2017a), «**Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century**», *New Phytologist* 213 (4): pp.:1625–1631. doi:10.1111/nph.14159.
- (2017b), «**Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century**», *New Phytologist* 213 (4): pp.:1625–1631. doi:https://doi.org/10.1111/nph.14159.
- Singh, R.P., J. Huerta-Espino, y A.P. Roelfs (2002), «**The wheat rusts**», In: Curtis, B.C.; S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (Eds.), *Bread Wheat. Food And Agriculture Organization Of The United Nations, Rome. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/Y4011E/y4011e00.htm#Contents>*.
- Stakman, E. C. (1914), «**A study in cereal rusts. Physiological races**», *Minnesota Agricultural Experiment Station* 138: pp.:1–56.
- Stakman, E. C., y J. G Harrar (1957), «**Principles of plant pathology**», *New York, Ronald Press Co.* (19581100262): pp.:1–581.
- Straib, W. (1937), «**Untersuchungen über das Vorkommen physiologischer Rassen des Gelbrostes (*Puccinia glumarum*) in den Jahren 1935–1936 und über die Agressivitt einiger neuer Formen auf Getreide und Gräsern**», *Arb Biol Reichsanst Landforstwirtschaft Berlin-Dahlem* 22: pp.:91–119.
- Su, Yongying, Yanger Chen, Jing Chen, Zijin Zhang, Jinya Guo, Yi Cai, Chaoyang Zhu, Zhongyuan Li, y Huaiyu Zhang (2021), «**Effectors of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici Suppressing the Pathogenic-Associated Molecular Pattern-Triggered Immune Response Were Screened by Transient Expression of Wheat Protoplasts**», *International Journal of Molecular Sciences* 22 (9): pp.:1–18(4985). doi:10.3390/ijms22094985.
- Szabo, Les J., y William R. Bushnell (2001), «**Hidden robbers: The role of fungal haustoria in parasitism of plants**», *PNAS. Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 98 (14): pp.:7654–7655. doi:10.1073/pnas.151262398.
- Tekin, Mehmet, Ahmet Cat, Kadir Akan, Mursel Catal, y Taner Akar (2021), «**A New Virulent Race of Wheat Stripe Rust Pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. tritici) on the Resistance Gene Yr5 in Turkey**», *Plant Disease - APS Journals* 105 (10): pp.:3292. doi:10.1094/PDIS-03-21-0629-PDN.
- Thomma, Bart P.H.J., Thorsten Nürnberger, y Matthieu H.A.J. Joosten (2011), «**Of PAMPs and Effectors: The Blurred PTI-ETI Dichotomy**», *The Plant Cell, Volume. American Society of Plant Biologists.* 23 (1): pp.:4–15. doi:https://doi.org/10.1105/tpc.110.082602.
- Uauy, Cristobal, Juan Carlos Brevis, Xianming Chen, Imtiaz Khan, Lee Jackson, Oswaldo Chicaiza, Assaf Distelfeld, Tzion Fahima, y Jorge Dubcovsky (2005), «**High-temperature adult-plant (HTAP) stripe rust resistance gene Yr36 from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* is closely linked to the grain protein content locus Gpc-B1**», *Theoretical and Applied Genetics* 112 (1): pp.:97–105. doi:10.1007/s00122-005-0109-x.
- Valdez-Rodríguez, Yeric R Renata, Julio Huerta-Espino, J. Sergio Sandoval-Islas,

- Héctor E. Villaseñor-Mir, y Olga Gómez-Rodríguez (2020), «**Introgresión de los genes de resistencia a roya amarilla Yr5a y Yr15 en el cultivar de trigo harinero Borlaug 100**», *Revista Fitotecnia Mexicana* 43 (3): pp.:275-282.
- Vergara-Díaz, O., S. C. Kefauver, A. Elazaba, M. T. Nieto-Taladriz, y J. L. Araus (2015), «**Grain yield losses in yellow rusted durum wheat estimated using digital and conventional parameters under field conditions**», *The Crop Journal* 3: pp.:200-210. doi:10.1016/j.cj.2015.03.003.
- Voegelé, Ralf T., y Kurt Mendgen (2003), «**Rust haustoria: nutrient uptake and beyond**», *New Phytologist* 159 (1): pp.:93-100. doi:https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00761.x.
- Voegelé, Ralf T., Christine Struck, Matthias Hahn, y Kurt Mendgen (2001), «**The role of haustoria in sugar supply during infection of broad bean by the rust fungus *Uromyces fabae***», *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (14): pp.:8133-8138. doi:https://doi.org/10.1073/pnas.131186798.
- Wan, A. M., y X. M. Chen (2014), «**Virulence Characterization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Using a New Set of Yr Single-Gene Line Differentials in the United States in 2010**», *Plant Disease - APS Journals* 98 (11): pp.:1534-1542. doi:http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-01-14-0071-RE.
- Wan, A., X. Wang, Z. Kang, y X. Chen (2017), «**Variability of the Stripe Rust Pathogen**», In: *Stripe Rust*. Springer Netherlands.: pp.:35-154. doi:10.1007/978-94-024-1111-9.
- Wang, Meinan, y Xianming Chen (2013), «**First Report of Oregon Grape (*Mahonia aquifolium*) as an Alternate Host for the Wheat Stripe Rust Pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) Under Artificial Inoculation**», *Plant Disease* 97 (6): pp.:839. doi:10.1094/PDIS-09-12-0864-PDN.
- (2015), «**Barberry Does Not Function as an Alternate Host for *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the U. S. Pacific Northwest Due to Teliospore Degradation and Barberry Phenology**», *Plant Disease* 99 (11): pp.:1500-1506. doi:10.1094/PDIS-12-14-1280-RE.
- (2017), «**Stripe Rust Resistance**», In: *Xianming Chen, Zhensheng Kang (eds) Stripe Rust*. Dordrecht: Springer: pp.:353-558. doi:https://doi.org/10.1007/978-94-024-1111-9_5.
- Wang, Zhen, Junda Ren, Ziyi Du, Mingzhe Che, Yibin Zhang, Wei Quan, Xu Jiang, Yuan Ma, Yin Zhao, y Zhongjun Zhang (2019), «**Identification of a major QTL on chromosome arm 2AL for reducing yellow rust severity from a Chinese wheat landrace with evidence for durable resistance**», *Theoretical and Applied Genetics* 132 (2): pp.:457-471. doi:10.1007/s00122-018-3232-1.
- Wellings, Colin Ross (1986), «**Host: Pathogen Studies Of Wheat Stripe Rust In Australia**», A thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. The University of Sydney. Department of Agricultural Genetics and Biometry.: pp.:1-249.
- (2003), «**Stripe rust head infection.**», *Cereal Rust Rep* 1: pp.:1-2.

- (2009), «**Late season stripe rust damage: head infection and unpredicted variety responses.**», *Cereal Rust Report* 7: pp.:1–4.
- (2011), «**Global status of stripe rust: a review of historical and current threats.**», *Euphytica* 179: pp.:129–141.
- Wellings, Colin Ross, y Robert Alexander McIntosh (1990), «**Puccinia striiformis f.sp. tritici in Australasia: pathogenic changes during the first 10 years**», *The Plant Pathology Journal* 39 (2): pp.:316-325. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1990.tb02509.x>.
- Xueling, Ye, Li Jian, Cheng Yukun, Yao Fangjie, Long LI, Yu Can, Wang Yuqi, et al. (2019), «**Genome-wide association study of resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. tritici) in Sichuan wheat**», *BMC Plant Biology* 19 (147): pp.:1-15. doi:<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1764-4>.
- Yin, Chuntao, Xianming Chen, Xiaojie Wang, Qingmei Han, Zhensheng Kang, y Scot H. Hulbert (2009), «**Generation and analysis of expression sequence tags from haustoria of the wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. Tritici**», *BMC Genomics* 10: pp.:1-626. doi:10.1186/1471-2164-10-626.
- Yin, Chuntao, Jeong-Jin Park, David R. Gang, y Scot H. Hulbert (2014), «**Characterization of a tryptophan 2-monooxygenase gene from *Puccinia graminis* f. sp. tritici involved in auxin biosynthesis and rust pathogenicity**», *Mol Plant Microbe Interact* 27 (3): pp.:227-235. doi:10.1094/MPMI-09-13-0289-FI.
- Zadoks, J.C. (1979), «**Strategies in combating cereal diseases in Europe, with special reference to yellow rust of wheat**», *Proceedings of Rice Blast Workshop, I.R.R.I., Philippines*: pp.:183-198.
- Zhang, G. S., Y. Y. Zhao, Z. S. Kang, y J. Zhao (2020), «**First Report of a *Puccinia striiformis* f. sp. tritici Race Virulent to Wheat Stripe Rust Resistance Gene Yr5 in China**», *Plant Disease - APS Journals* 104 (1): pp.:284-284. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-0901-PDN>.
- Zhao, J., L. Wang, Z. Wang, X. Chen, H. Zhang, J. Yao, G. Zhan, W. Chen, L. Huang, y Z. Kang (2013), «**Identification of eighteen *Berberis* species as alternate hosts of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici and virulence variation in the pathogen isolates from natural infection of barberry plants in China**», *Phytopathology* 103: pp.:927–934.
- Zhao, J., H. Zhang, J. Yao, L. Huang, y Z. Kang (2011), «**Confirmation of *Berberis* spp. as alternate hosts of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici on wheat in China**», *Mycosystema* 30: pp.:1-895.
- Zhao, Jie, Meinan Wang, Xianming Chen, y Zhensheng Kang (2016), «**Role of Alternate Hosts in Epidemiology and Pathogen Variation of Cereal Rusts**», *Annual Review of Phytopathology* 54: pp.:207-228. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-095851.
- Zheng, Wenming, Lili Huang, Jinqun Huang, Xiaojie Wang, Xianming Chen, Jie Zhao, Jun Guo, et al. (2013), «**High genome heterozygosity and endemic genetic**

recombination in the wheat stripe rust fungus», *Nat Commun* 4 (2673).
doi:10.1038/ncomms3673.