



CARACTERIZACIÓN Y EFECTO DE LA INTROGRESIÓN DE *Leymus racemosus* EN TRIGO HARINERO

CHARACTERIZATION AND EFFECT OF THE INTROGRESSION OF *Leymus racemosus* INTO BREAD WHEAT

Osiris Dinora Flores-Enriquez¹, Julio Huerta-Espino², Ignacio Benítez-Riquelme^{1*},
Susanne Dreisigacker³ y Carmen Gabriela Mendoza-Mendoza¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, PREGEP-Genética, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México. ³Centro Internacional del Mejoramiento de Maíz y Trigo, Laboratorio de Genética Molecular, El Batán, Texcoco, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (riquelme@colpos.mx)

RESUMEN

Derivado de la alta demanda que tiene el trigo en el mundo, actualmente se buscan nuevas tecnologías para aumentar su producción, la resistencia a enfermedades, la tolerancia a diferentes estreses y calidad, entre otras. En esta búsqueda, la introgresión de genes mediante el uso de translocaciones entre parientes silvestres y el trigo, ha sido una de las vías más exitosas de mejoramiento. Los objetivos del presente estudio fueron introgresar y caracterizar, en líneas de trigo harinero, la translocación de *Leymus racemosus* mediante técnicas citogenéticas y marcadores moleculares y determinar el efecto de la translocación sobre la resistencia a la roya de la hoja comparado con el progenitor recurrente. La translocación se ubicó en el brazo largo del cromosoma 5B de trigo harinero Borlaug 100 y fue designada como T5Lr#1L.5BL. El marcador molecular wsnp_Ex_c5915-103 confirmó la presencia de dicha translocación. Las pruebas de resistencia en plántula a la roya de la hoja mostraron que las 38 líneas con la translocación fueron susceptibles, al igual que el progenitor recurrente.

Palabras clave: *Triticum aestivum* L., *Leymus racemosus*, introgresión, translocación.

SUMMARY

Due to the high demand for wheat in the world, new technologies are currently being sought to increase its production, resistance to diseases, tolerance to different stresses and quality, among others. In this search, the introgression of genes through translocations between wild relatives and wheat has been one of the most successful breeding avenues. The objectives of the present study were to introgress and characterize, in lines of bread wheat, the translocation of *Leymus racemosus* using cytogenetic techniques and molecular markers, and to determine the effect of the translocation on leaf rust resistance compared to the recurrent parent. The translocation was located on the long arm of chromosome 5B of bread wheat Borlaug 100 and was designated as T5Lr#1L.5BL. The molecular marker wsnp_Ex_c5915-103 confirmed the presence of such translocation. Resistance tests in seedlings to leaf rust showed that the 38 lines with the translocation were susceptible, as was the recurrent parent.

Index words: *Triticum aestivum* L., *Leymus racemosus*, introgression, translocation.

INTRODUCCIÓN

El trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) es el alimento más consumido en el mundo, alcanzando récord de producción mundial en 2024 con 794 millones de toneladas (FAO, 2024). Con esta creciente demanda, constantemente se están buscando nuevas tecnologías para aumentar su producción.

El trigo presenta amplia adaptabilidad debido a su gran diversidad genética al ser una especie alohexaploide, compuesta por 21 pares de cromosomas organizados en tres subgenomas: A, B y D, y expresados en forma diploide como $2n=6x=42$ debido a la presencia de varios genes de apareamiento homólogo (Sears, 1952). El trigo se originó en el Medio Oriente y fue evolucionando a través de varios cruzamientos naturales entre especies silvestres relacionadas. Este camino evolutivo se ha replicado en distintas formas (Villaseñor-Mir, 2015), convirtiéndose en una de las vías más exitosas de mejoramiento para la obtención de líneas y variedades con mayor producción y resistencia a enfermedades (Mohamed *et al.*, 2014).

Casos de éxito de introgresión genética se han presentado con varias especies de *Aegilops* para aumentar la capacidad del tolerar el estrés por sequía (Baalbaki *et al.*, 2006; Zaharieva *et al.*, 2001) y altas temperaturas (Pradhan *et al.*, 2011). *Ae. cylindrica* (DC), *Ae. caudata* (C) y *T. boeoticum* (Ab) poseen tolerancia al estrés por salinidad (Ahmadi *et al.*, 2018).

En otros campos de la agronomía, tales como el mejoramiento para el uso eficiente de nitrógeno, destacan las especies de *Thinopyrum* y *Secale*. Aquí, varios anfiploides mostraron mejor adaptación en cuanto a rendimiento y biomasa en condiciones de bajo contenido de N con respecto al trigo harinero (Nehe *et al.*, 2022).

Otros parientes silvestres más lejanos del trigo, particularmente del género *Leymus*, parecen ser una fuente de genes que determinan otros caracteres agronómicos de importancia económica, tal es el caso de la especie *Leymus racemosus*, NsNsXmXm, (Fan *et al.*, 2009) tolerante a la sal y la sequía (McGuire y Dvorak, 1981) y resistente a diversas enfermedades (Mujeeb-Kazi, 1983). Se ha encontrado además que esta especie produce un exudado radical relacionado con la inhibición biológica de la nitrificación en el suelo (Subbarao *et al.*, 2021).

La introgresión de caracteres de especies silvestres al trigo cultivado se realiza mediante la creación de anfiploides; primero, incorporando todo el genoma de la especie silvestre para después obtener líneas de adición o inhibición del apareamiento incorporando cromosomas completos o segmentos de cromosoma denominados translocaciones (Qi *et al.*, 1997), que con frecuencia acarrearán efectos negativos o deletéreos. Las translocaciones se han utilizado como herramienta para añadir al genoma, en forma piramidal, genes o grupos de genes a la especie a mejorar, procedimiento que en trigo ha permitido formar variedades con buenas características agronómicas en ambientes donde se cultiva con factores limitantes bióticos y abióticos.

Debido a la importancia de las especies silvestres y parientes del trigo como fuentes de variabilidad genética, en este caso de *Leymus racemosus*, los objetivos del presente estudio fueron introgresar y caracterizar, en líneas de trigo harinero, la translocación de *L. racemosus* mediante técnicas citogenéticas y marcadores moleculares y determinar el efecto de dicha translocación sobre la resistencia a la roya de la hoja en comparación con el progenitor recurrente Borlaug 100.

MATERIALES Y MÉTODOS

Generación de los genotipos de trigo con la translocación de *Leymus racemosus*

Para obtener las líneas con la translocación se realizó un cruzamiento entre una línea de adición disómica de *Leymus* TA7646 = (96-1014 = DA5Lrd1 = NAU504) (Qi *et al.*, 1977) con la línea monosómica Chinese Spring mono 5B (2n-1=41); la translocación se generó al recombinarse con el cromosoma 5B del trigo, que se identificó mediante la hibridación genómica *in situ* por fluorescencia (GISH) y bandeo cromosómico (Kishii *et al.*, 2004). La cruza CSMON05B/TA7646 obtenida se cruzó con el progenitor Borlaug 100. Plantas positivas con la translocación se cruzaron nuevamente con el progenitor recurrente Borlaug 100. Después de cada retrocruza, en la F₁ se analizaron

ocho plantas y se seleccionaron las positivas para realizar la siguiente retrocruza. Después de siete retrocruzas, se seleccionaron ocho plantas con 42 cromosomas, positivas para la translocación. Después de siete retrocruzas (CSMON05B/TA7646//8*BORLAUG 100), la F₁ de la última retrocruza se registró como CA20GHB00059M y posteriormente se dejó segregar y avanzar por el método genealógico, donde se seleccionaron plantas positivas para la translocación hasta obtener líneas uniformes en la F₇.

Análisis de laboratorio

En el laboratorio de Genética Molecular del CIMMYT, se prepararon dos sondas de hibridación, una con oligonucleótidos AAG para marcar el genoma B del trigo y otra con hexanucleótidos para marcar la translocación del ADN de la especie silvestre mediante GISH (Kishii *et al.*, 1999). Una vez que se obtuvieron las preparaciones de "squash" y la sonda de hibridación de ADN, se preparó la solución de hibridación *in situ* (Kishii *et al.*, 1999), se aplicó a las preparaciones y se observó la presencia o ausencia de fluorescencia a través del microscopio de fluorescencia (Axioscope 5, Carl Zeiss®, Oberkochen, Alemania). Este análisis se llevó a cabo en la generación F₁ después de cada retrocruza para confirmar la presencia de la translocación en las familias F₇.

Caracterización por PCR competitivo de alelo específico (KASP™)

El análisis se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología en el CIMMYT. Para la extracción de ADN se usó tejido liofilizado de las 38 líneas y el testigo. Se cuantificó con un espectrómetro (NanoDrop 800® Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) y se validaron utilizando PCR; posteriormente, se validó el polimorfismo de los iniciadores (Dreisigacker *et al.*, 2016).

La tecnología de caracterización de punto final fluorescente homogéneo se utilizó para la confirmación de translocaciones mediante el uso de marcadores moleculares para el cromosoma 5B de trigo: IWA5537 (AE), S5B_47584429, BS00020412, wsnp_Ex_c5915_10378807, Jagger_c505_141, Kukri_c45713_151, 278795963, 278797263, TaGSNE-SNPS1-59, TaGSNE-SNPS2-3889, AX-94539975, Kachu1075 y 5BL-SNP2. En el caso de los marcadores SNP se utilizó la tecnología: "Kompetitive Allele Specific PCR genotyping system", donde se utilizaron muestras control con etiquetas fluorescentes FAM (alelos positivos), VIC (alelos negativos), HET (heterocigotos) y agua como muestra en blanco (Dreisigacker *et al.*, 2016).

Evaluación de las líneas a roya de la hoja

Evaluación de plántula en invernadero

Se evaluó la resistencia en plántula de las líneas y el progenitor Borlaug 100 en el Laboratorio de Royas y Otras Enfermedades de Cereales (LANAREC) del INIFAP-CEVAMEX, bajo condiciones de invernadero en marzo de 2024. Las líneas se sembraron en charolas de plástico de 20 cm de largo × 30 cm de ancho × 6 cm de profundidad en una mezcla de sustrato (tierra + turba peatmoss en proporción 1:1). En cada charola se marcaron 48 orificios de 1.0 cm de diámetro × 2.0 cm de profundidad con una plancha de acero de ocho hileras y seis columnas. Por cada genotipo se sembraron 10 semillas. Las charolas se etiquetaron y colocaron en invernadero a una temperatura de 18 ± 2 °C durante la noche y 20 ± 2 °C durante el día. Las plántulas se fertilizaron con la fórmula 17-17-17 (N-P-K) disuelta en agua y se aplicaron 125 mL por charola. La inoculación se realizó 10 días después de la siembra, cuando se extendió por completo la hoja primaria, mediante aspersión con una suspensión de esporas de la raza MBJ/SP en aceite mineral Soltrol 170® (Chevron Phillips Chemical Company, The Woodlands, Texas, EUA) a una concentración de 1.0×10^6 urediniosporas mL⁻¹. Las plantas inoculadas se dejaron secar por 20 min y luego se colocaron por 16 h en una cámara con un humidificador (Hydrofogger, H2OTEK, Monterrey, México) que permitió alcanzar 100 % de humedad relativa; posteriormente, las plántulas se trasladaron al invernadero y se mantuvieron a una temperatura entre 20 y 24 °C hasta la aparición de los signos de la enfermedad. La infección se evaluó a los 10 días después de la inoculación de acuerdo con la escala de 0 a 4 propuesta por Roelfs *et al.* (1992), donde las plántulas con infección de 0 a 2 se consideraron resistentes, mientras que aquellas con infección 3 a 4 se identificaron como susceptibles.

Evaluación de planta adulta en campo

Las 38 líneas, además de otros genotipos con translocaciones diferentes de 5B y el testigo Borlaug 100 fueron incluidas en un ensayo de rendimiento de 60 entradas con dos repeticiones (Experimento 63782 = L. 2TRANS MONO 5B-LE. MOLLIS) en el Campo Experimental Norman E Borlaug en Cajeme Sonora, México entre el 20 y 25 de noviembre de 2022. El experimento se sembró en camas elevadas espaciadas a intervalos de 80 cm. Se plantaron bordos de la variedad susceptible Moroco a cada lado del experimento. Los bordos se inocularon con urediniosporas del hongo de la raza MBJ/SP el 20 de enero de 2023 usando una suspensión de esporas en aceite mineral Soltrol 170® (Chevron Phillips Chemical Company, The Woodlands, Texas, EUA). La inoculación se repitió tres

veces para asegurar el inicio de la epidemia. Los niveles de infección en la hoja bandera de roya de la hoja de la planta adulta y respuesta a la infección se registraron usando la escala modificada de Cobb que registra el porcentaje de infección del 0 al 100, de acuerdo con Roelfs *et al.* (1992). El desarrollo de la enfermedad en las líneas se registró por primera vez el 10 de marzo de 2014, luego el 22 de marzo y finalmente, el 5 de abril de 2023.

RESULTADOS

Los estudios citológicos, con base en el cariotipo de bandeado cromosómico e hibridación fluorescente *in situ* del genoma, indicaron que todas las líneas CSMON05B/TA7646//*8 BORL100 tienen la translocación con doble terminal, ubicada en el brazo largo del cromosoma 5B, y su origen es el brazo corto del cromosoma 5#LrI de *Leymus racemosus* denominada T5Lr#1L.5BL (Figura 1).

Caracterización por PCR específico de alelo competitivo por Sistema KASP™

Una vez completadas las reacciones KASP, los datos mostraron que con FAM (alelos positivos) y VIC (alelos negativos), ejes X y Y, respectivamente (Figura 2), una muestra que es homocigota para el alelo informado por FAM (azul) durante la reacción KASP se trazó cerca del eje X con una señal alta y ninguna señal VIC (rojo) y una muestra que es homocigota para el alelo informado por VIC solo generó fluorescencia VIC y los puntos se trazaron cerca al eje Y. Una muestra que es heterocigota (HET) presentó tanto el alelo reportado por FAM como el alelo reportado por VIC. La muestra generó la mitad de fluorescencia FAM y la mitad de fluorescencia VIC, lo que indica que las muestras son homocigotas para estos alelos. Los puntos de los datos se ubicaron en el centro de la trama representando mitad señal FAM y mitad señal VIC (datos verdes: Figura 2). Los marcadores que se probaron en este estudio fueron: IWA5537 (AE), S5B_47584429, BS00020412, wsnp_Ex_c5915_10378807, Jagger_c505_141, Kukri_c45713_151, 278795963, 278797263, TaGSNE-SNPS1-59, TaGSNE-SNPS2-3889, AX-94539975, Kachu1075 y 5BL-SNP2; de éstos, los que mostraron presencia de la translocación en el cromosoma 5B de las líneas fueron wsnp_Ex_c5915_10378807, 278795963 y 278797263.

Se observan líneas con la presencia de fluorescencia agrupadas en el lado de las abscisas (X) del plano de color rojo (Figura 2), demostrando que, efectivamente, contienen la translocación, y del lado de las ordenadas (Y) se observan las líneas que no presentan la translocación en este cromosoma (color azul).

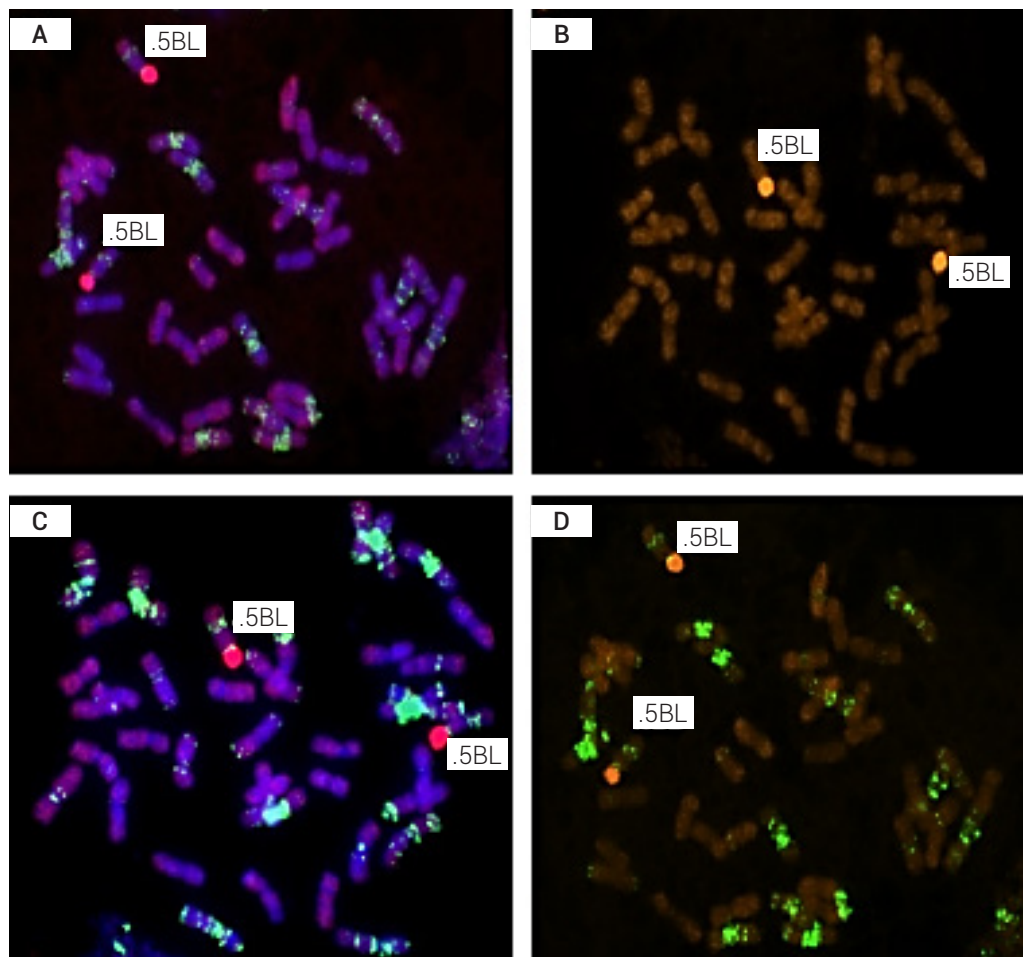


Figura 1. Preparaciones GISH de trigo-*Leymus* de cromosomas en metafase y presencia de la translocación en el cromosoma largo 5B de trigo y el brazo corto de *Leymus racemosus* 5#Lr. A: fluorescencia con DAPI color azul, FITC color verde para el genoma B y rodamina color anaranjado, B: fluorescencia con rodamina color anaranjado, C: fluorescencia con DAPI color azul, FITC color verde y rodamina color anaranjado, D: fluorescencia con rodamina, color rojo y FITC color verde.

Pruebas de resistencia a roya

Las pruebas de resistencia en plántula a la roya de la hoja indicaron que las líneas que poseen la translocación fueron susceptibles, al igual que el progenitor recurrente Borlaug 100, el cual es susceptible a la raza MBJ/SP. En el Cuadro 1 se muestra la calificación a roya de la hoja de cada línea evaluada. En planta adulta en el campo tampoco se observaron diferencias entre las líneas que poseen la translocación y el progenitor recurrente Borlaug 100, siendo todas las líneas resistentes o casi inmunes, con niveles de infección entre 0 y 5 %.

DISCUSIÓN

El proceso de incorporación de segmentos cromosómicos de *Leymus racemosus*, una especie

silvestre muy distante del género *Triticum*, al trigo harinero fue exitoso; en este sentido, las técnicas citogenéticas que se sugieren en primera instancia para generar anfiploides con líneas monosómicas aseguran tal resultado. Este camino de producción de híbridos F_1 intergenéricos con introgresión cromosómica trigo-pariente silvestre ha sido usado de manera recurrente para mejorar cualidades del trigo harinero, que de origen está presente en el pariente silvestre; se pueden citar casos de éxito; por ejemplo, la tolerancia a estreses causados por la sequía, la salinidad del suelo y las enfermedades, entre otros (Edet *et al.*, 2018). Por otro lado, la formación de líneas de adición monosómicas o disómicas para generar anfiploides permite valorar el efecto de los segmentos de cromosomas provenientes de especies silvestres; tal metodología fue utilizada por Mohamed *et al.* (2014), quienes examinaron 12 cromosomas con adiciones de la crucea *Triticum*-L.

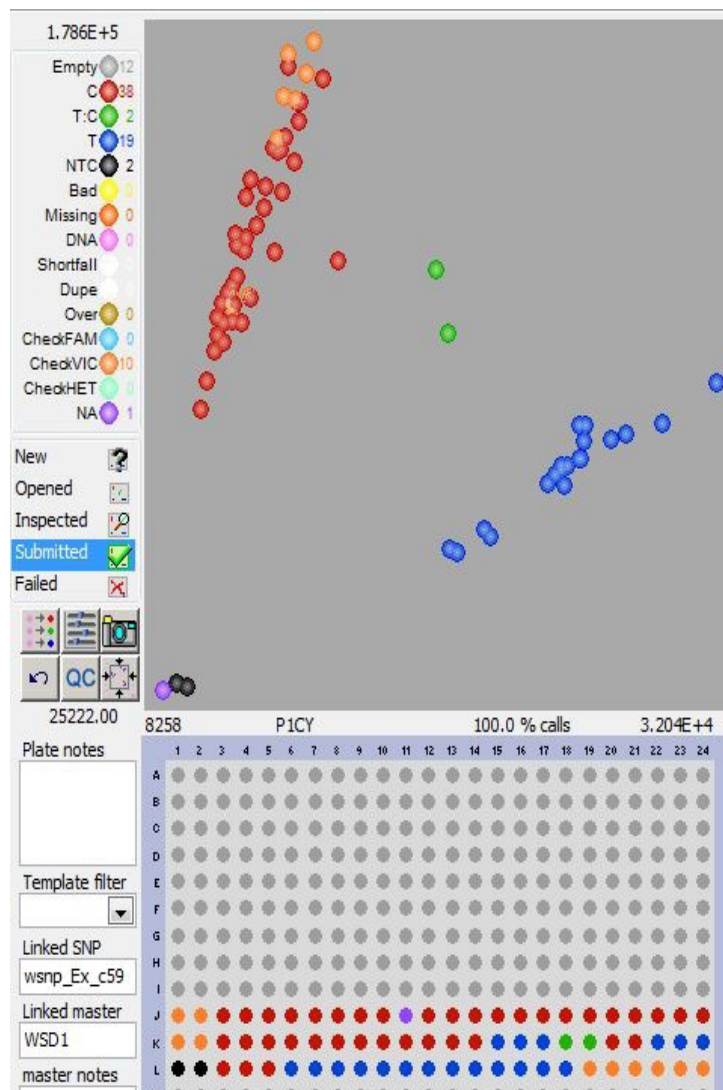


Figura 2. Resultados de fluorescencia KASP Marcador wsnp_Ex_c591510378807.

racemosus y dos líneas con sustitución para tolerancia al estrés térmico. Una vez aseguradas y confirmadas las líneas de adición, el siguiente paso fue obtener translocaciones, cruzando, como en este estudio, con líneas monosómicas. En este caso, para producir la translocación, se cruzó una línea de adición disómica de *Leymus*, la TA7646 (Qi *et al.*, 1977) con la línea monosómica Chinese Spring mono 5B ($2n-1=41$); de esta manera, la translocación se provocó al recombinarse con el cromosoma 5B del trigo. Con un procedimiento similar, se pudo lograr que el gen que confiere resistencia a la fusariosis de la espiga, *Fhb3*, que se derivó de *Leymus racemosus*, se transfiriera al trigo, como la translocación T7AL.7Lr#1S (Qi *et al.*, 2008). Otro ejemplo de éxito fue la translocación de *L. racemosus* a la línea de trigo NAU614, que confiere tolerancia a la sequía, seleccionada de la M₃ de la cruz Mianyang11/DA5Lr#1, con $2n=42$ cromosomas (Chen *et al.*, 2005); esta translocación fue designada como

T6BL.6BS-5LR#1L. En la presente investigación, al realizar la cruz con la línea monosómica Chinese Spring mono 5B ($2n-1=41$), a la que le falta el cromosoma 5B, con la misma fuente de *Leymus -T. aestivum* DA5L#1, la translocación se ubicó en el brazo largo del cromosoma 5B, tal translocación lograda se designó como: T5BS.5BL-5LR#1L. Es posible que el segmento del cromosoma de *L. racemosus* (5Lr#1) sea el mismo que en los ejemplos anteriores, pero ubicado ahora, en el brazo largo del cromosoma 5B.

El desarrollo de las líneas CSMONO5B/ TA7646/ /8*BORL100 con presencia de 5Lr#1 de *Leymus*, fue por siete retrocruzas hacia el progenitor recurrente Borlaug 100; aquí, fue necesario verificar en los segregantes de cada F₁ la presencia de la translocación. Debido a lo laborioso que resulta la identificación citológica de plantas segregantes positivas a la translocación en cada retrocruza, en esta investigación,

Cuadro 1. Infección en plántula y planta adulta a roya de la hoja en líneas CSMON05B/TA7646//*8 BORL100 con la translocación T5Lr#1L.5BL respecto al progenitor recurrente Borlaug 100.

No. de parcela	Historia de selección	Lecturas de infección, raza MBJ/SP®	
		Plántula	Planta adulta
901	CA20GHB00059M-0GHB-8T5B-1GHB	3+	0
902	CA20GHB00059M-0GHB-9T5B-1GHB	3+	0
903	CA20GHB00059M-0GHB-10T5B-1GHB	3+	0
904	CA20GHB00059M-0GHB-11T5B-1GHB	3+	0
905	CA20GHB00059M-0GHB-12T5B-1GHB	3+	0
906	CA20GHB00059M-0GHB-13T5B-1GHB	3+	0
907	CA20GHB00059M-0GHB-14T5B-1GHB	3+	0
908	CA20GHB00059M-0GHB-15T5B-1GHB	3+	0
909	CA20GHB00059M-0GHB-16T5B-1GHB	3+	0
910	CA20GHB00059M-0GHB-17T5B-1GHB	3+	0
911	CA20GHB00059M-0GHB-18T5B-1GHB	3+	0
912	CA20GHB00059M-0GHB-19T5B-1GHB	3+	0
913	CA20GHB00059M-0GHB-21T5B-1GHB	3+	0
914	CA20GHB00059M-0GHB-22T5B-1GHB	3+	0
915	CA20GHB00059M-0GHB-23T5B-1GHB	4	0
916	CA20GHB00059M-0GHB-24T5B-1GHB	4	0
917	CA20GHB00059M-0GHB-25T5B-1GHB	4	0
918	CA20GHB00059M-0GHB-26T5B-1GHB	3+	0
919	CA20GHB00059M-0GHB-27T5B-1GHB	3+	0
920	CA20GHB00059M-0GHB-28T5B-1GHB	3+	0
921	CA20GHB00059M-0GHB-30T5B-1GHB	3+	0
922	CA20GHB00059M-0GHB-31T5B-1GHB	3+	0
923	CA20GHB00059M-0GHB-32T5B-1GHB	3+	0
924	CA20GHB00059M-0GHB-33T5B-1GHB	4	0
925	CA20GHB00059M-0GHB-34T5B-1GHB	3+	0
926	CA20GHB00059M-0GHB-35T5B-1GHB	3+	0
927	CA20GHB00059M-0GHB-36T5B-1GHB	3+	0
928	CA20GHB00059M-0GHB-37T5B-1GHB	3+	0
929	CA20GHB00059M-0GHB-38T5B-1GHB	3+	0

Cuadro 1. Continuación

No. de parcela	Historia de selección	Lecturas de infección, raza MBJ/SP®	
		Plántula	Planta adulta
930	CA20GHB00059M-0GHB-39T5B-1GHB	3+	0
931	CA20GHB00059M-0GHB-40T5B-1GHB	4	0
932	CA20GHB00059M-0GHB-41T5B-1GHB	4	0
933	CA20GHB00059M-0GHB-42T5B-1GHB	4	0
934	CA20GHB00059M-0GHB-43T5B-1GHB	3+	0
938	CA20GHB00059M-0GHB-13B	3+	0
939	CA20GHB00059M-0GHB-14B	3+	0
940	CA20GHB00059M-0GHB-15B	3+	0
941	CA20GHB00059M-0GHB-16B	3+	0
935	Borlaug 100 (Testigo)	4	0

3+: moderadamente susceptible, 4: susceptible.

se propuso facilitar el proceso de identificación, optando por el uso de un marcador molecular asociado con la translocación. Estudios previos han indicado asociación de la translocación T5AS/5LrL con los marcadores PCR: BE591127, BQ168298 y BE591737 (Wang y Zhang, 2019). Otros marcadores sugeridos utilizando PCR-base son BE586744-STS, BE404728-STS y BE586111-STS, específicos para identificar la translocación 7Lr#1S de *Leymus* y así agilizar la selección asistida. (Qi *et al.*, 2008). Partiendo de un universo puntual más amplio de marcadores que muestran la presencia de la translocación en el cromosoma 5B, se encontró y se recomienda, con base en los resultados de este estudio, que para identificar y utilizar la translocación en este grupo de línea específicas, el marcador con la serie wsnp_Ex_c5915_103 es útil.

Durante cada ciclo de recuperación de las líneas positivas para la translocación, la identificación-selección citológica-citogenética de plantas fue por la presencia de la translocación, y no por su comportamiento agronómico, por lo que pruebas preliminares de rendimiento durante el ciclo OI22-23 indicaron que los genotipos 925 y 901 del Cuadro 1 mostraron rendimientos superiores al testigo Borlaug 100 de 7.5 y 6.5 % respectivamente, pero también se identificaron líneas con rendimientos menores que el progenitor recurrente en 21 y 31 % en los genotipos 910 y 938 del Cuadro 1, respectivamente (datos sin publicar). Lo anterior indica que la translocación T5BS.5BL-5Lr#1L no tiene efectos negativos en el rendimiento como se ha reportado en el caso de otras translocaciones como en la

línea portadora de Sr26 (Australian Eagle Sr26) que mostró un efecto negativo en el rendimiento de grano de 12 %. (Rai *et al.*, 2019).

La translocación T5Lr#1L.5BL tampoco manifestó efectos altamente positivos como es el caso de otras translocaciones más pequeñas; por ejemplo, el brazo completo de una translocación (T4DL-4JsS) de *Thinopyrum intermedium* muy eficaz contra el Virus del Mosaico de las Venas del Trigo (WSMV), pero conllevaba una disminución sustancial del rendimiento en ausencia del virus; sin embargo, un genotipo recombinante más corto de esta translocación (rec213) tuvo un efecto favorable ($\leq 12.6\%$) sobre el rendimiento de grano (Guttieri *et al.*, 2023), o la translocación de 2NvS de *Ae. ventricosa* que confiere resistencia a múltiples enfermedades, está dando beneficios de rendimiento *per se*, incluso en la ausencia de la enfermedad (Gao *et al.*, 2021).

La obtención de líneas F₆ con rendimientos numéricos superiores o iguales al testigo Borlaug 100, sugiere la posibilidad de mejora si durante la identificación de plantas con la translocación, citogenéticamente o con el marcador aquí identificado, realizar selección en variedades o líneas avanzadas (F₈, F₉) para rendimiento o con base en los caracteres propios que aporta el género *Leymus*, tales como tolerancia a la sal y la sequía (McGuire y Dvorak, 1981), resistencia a diversas enfermedades (Mujeeb-Kazi *et al.*, 1983), entre otros.

Numerosas evidencias indican que una selección adicional conduce a mejores resultados (Li *et al.*, 2007), tal es el caso con las introgresiones que incluyen *Sr36/Pm6* de *T. timopheevii*, *Lr28* de *Ae. esveltoides* y *Sr38/Lr37/Yr17* de *Ae. ventricosa*, ampliamente utilizadas en todo el mundo en variedades comerciales; o con la translocación 1RS.1BL, que en un tiempo se encontró en el 10 % de la diversidad genética mundial de trigo (Balfourier *et al.*, 2019). Igual situación ocurre para calidad; en este caso, destaca la translocación de *T. aestivum*-*H. villosa* 6VS.6AL (Li *et al.*, 2007).

Las líneas obtenidas de Borlaug 100 con la translocación presentaron la misma calificación de susceptibilidad a roya de la hoja que el progenitor recurrente; es decir, para este caso particular la translocación no tuvo efecto en los niveles de resistencia en estado de plántula, y lo mismo ocurrió en planta adulta debido a que los genes de resistencia que Borlaug 100 posee (Ye *et al.*, 2022) son efectivos en planta adulta, por lo que Borlaug 100 y las líneas con la translocación fueron altamente resistentes en condiciones de campo.

Queda pendiente la exploración de la resistencia para otros casos de enfermedades propias del trigo harinero, en el entendido de que existen ejemplos de translocaciones provenientes de especies silvestres que confieren resistencia a plagas y enfermedades en algunos casos y no para otros (Mohler *et al.*, 2023). Se cita el caso de las introgresiones T01 (T4BS·4BL-7Lr#1S+T4BL-7Lr#1S·5Lr#1S) y T14 (T6BS·6BL-7Lr#1S+T6BL·5Lr#1S) que fueron evaluadas para resistencia a fusarium de la espiga (*Fusarium* spp.), donde con la adición disómica 7Lr#1 fueron consistentemente resistentes, mientras que la adición disómica 5Lr#1 fueron susceptibles a la cenicienta polvoriento (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) (Qi *et al.*, 2008). Las líneas obtenidas de Borlaug 100 con la translocación en un futuro inmediato serán probadas en contra de otras enfermedades, incluyendo la fusariosis de la espiga y para caracteres propios que aporta el género *Leymus*, como el caso especial de la inhibición biológica de la nitrificación (IBN). IBN es la capacidad natural de ciertas especies de plantas para liberar inhibidores de la nitrificación a través de exudados de las raíces que suprimen la actividad nitrificante, reduciendo así la nitrificación del suelo y la emisión de N₂O a la atmósfera. La actividad de BNI se localizó en el brazo corto del cromosoma Lr#3Nsb (Lr#n) de *L. racemosus*, mismo que ha sido transferido al trigo como T3BL.3NsbS, donde el brazo 3BS del cromosoma 3B del trigo fue reemplazado por 3NsbS de *L. racemosus* (Subbarao *et al.*, 2021). Es posible que la translocación T5Lr#1L.5BL de *L. racemosus* también tenga inhibición biológica de la nitrificación (IBN) pero

no se ha determinado con precisión, aunque se tienen evidencias de cierta actividad.

CONCLUSIONES

Los marcadores moleculares mediante KASP™ y la técnica GISH identificaron y caracterizaron, de manera precisa, la introgresión-translocación de *Leymus racemosus* en las líneas recobradas BC7F6 de Borlaug 100. Los análisis de GISH de cromosomas somáticos en metafase confirmaron la presencia de la doble translocación terminal *Triticum*-*L. racemosus* denominada T5Lr#1L.5BL. Pruebas preliminares de rendimiento indicaron que la translocación no tuvo efectos negativos en el rendimiento de grano y tuvo efectos positivos en la resistencia a la roya de la hoja causada por el hongo *Puccinia triticina*. Para identificar y utilizar la translocación se sugiere el uso del marcador wsnp_Ex_c5915-103.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CONAHCYT (actualmente SECIHTI) por el apoyo de la Beca Nacional de la primera autora para el nivel de Maestría en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. de México; al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo por cubrir los gastos de la investigación, y al INIFAP-Valle de México por facilitar las pruebas de resistencia en plántula a roya de la hoja.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmadi J., A. Pour-Aboughadareh, S. Fabricki-Ourang, A. A. Mehrabi and K. H. M. Siddique (2018) Screening wild progenitors of wheat for salinity stress at early stages of plant growth: insight into potential sources of variability for salinity adaptation in wheat. *Crop and Pasture Science* 69:649-658, <https://doi.org/10.1071/CP17418>
- Baalbaki R., N. Hajj-Hassan and R. Zurayk (2006) *Aegilops* species from semi-arid areas of Lebanon: variation in quantitative attributes under water stress. *Crop Science* 46:799-806, <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0120>
- Balfourier F., S. Bouchet, S. Robert, R. De Oliveira, H. Rimbart, J. Kitt, ... and E. Paux (2019) Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity. *Science Advances* 5:eaav0536, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav0536>
- Chen P., W. Liu, J. Yuan, X. Wang, B. Zhou, S. Wang, ... and B. S. Gill (2005) Development and characterization of wheat-*Leymus racemosus* translocation lines with resistance to *Fusarium* head blight. *Theoretical and Applied Genetics* 111:941-948, <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0026-z>
- Dreisigacker S., D. Sehgal, A. E. Reyes J., B. Luna G., S. Muñoz Z., C. Núñez R., ... and S. Mall (2016) CIMMYT Wheat Molecular Genetics: Laboratory Protocols and Applications to Wheat Breeding. CIMMYT. México, D. F. 154 p.
- Edet O. U., Y. S. A. Gorafi, S. Nasuda and H. Tsujimoto (2018) DarTseq-based analysis of genomic relationships among species of tribe Triticeae. *Scientific Reports* 8:16397, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34811-y>
- Fan X., L. N. Sha, R. W. Yang, H. Q. Zhang, H. Y. Kang, C. B. Ding, ... and Y. H. Zhou (2009) Phylogeny and evolutionary history of *Leymus* (Triticeae; Poaceae) based on a single-copy nuclear gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase. *BMC Evolutionary*

- Biology* 9:247, <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-247>
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2024) Situación alimentaria mundial. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/> (Junio 2025).
- Gao L., D. H. Koo, P. Juliana, T. Rife, D. Singh, C. L. da Silva, ... and J. Poland (2021) The *Aegilops ventricosa* 2NvS segment in bread wheat: cytology, genomics and breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 134:529-542, <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03712-y>
- Guttieri M. J., R. L. Bowden, G. Zhang, S. Haley, K. Frels, G. L. Hein and K. W. Jordan (2023) Agronomic and quality impact of a shortened translocation for wheat streak mosaic virus resistance. *Crop Science* 63:622-634, <https://doi.org/10.1002/csc2.20876>
- Li G., P. Chen, S. Zhang, X. Wang, Z. He, Y. Zhang, ... and X. Zhou (2007) Effects of the 6VS.6AL translocation on agronomic traits and dough properties of wheat. *Euphytica* 155:305-313, <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9332-z>
- Kishii M., K. Nagaki, H. Tsujimoto and T. Sasakuma (1999) Exclusive localization of tandem repetitive sequences in subtelomeric heterochromatin regions of *Leymus racemosus* (Poaceae, Triticeae). *Chromosome Research* 7:519-529, <https://doi.org/10.1023/A:1009285311247>
- Kishii M., T. Yamada, T. Sasakuma and H. Tsujimoto (2004) Production of wheat-*Leymus racemosus* chromosome addition lines. *Theoretical and Applied Genetics* 109:255-260, <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1631-y>
- McGuire P. E. and J. Dvorak (1981) High salt tolerance potential in wheatgrasses. *Crop Science* 21:702-705, <https://doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100050018x>
- Mohammed Y. S. A., I. S. A. Tahir, N. M. Kamal, A. E. Eltayeb, A. M. Ali and H. Tsujimoto (2014) Impact of wheat-*Leymus racemosus* added chromosomes on wheat adaptation and tolerance to heat stress. *Breeding Science* 63:450-460, <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.450>
- Mohler V., E. Paczos-Grzęda and S. Sowa (2023) Loving the alien: the contribution of the wild in securing the breeding of cultivated hexaploid wheat and oats. *Agriculture* 13:2060, <https://doi.org/10.3390/agriculture13112060>
- Mujeeb-Kazi A. (1983) Incorporation of alien genetic information from *Elymus giganteus* into *Triticum aestivum*. In: Proceedings of the 6th International Wheat Genetic Symposium. Plant Germ-Plasm Institute. Kyoto University. Kyoto, Japan. pp:223-231.
- Nehe A., J. King, I. P. King, E. H. Murchie and M. J. Foulkes (2022) Identifying variation for N-use efficiency and associated traits in amphidiploids derived from hybrids of bread wheat and the genera *Aegilops*, *Secale*, *Thinopyrum* and *Triticum*. *PLoS ONE* 17:e0266924, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266924>
- Pradhan G. P., P. V. Prasad, A. K. Fritz, M. B. Kirkham and B. S. Gill (2011) Response of *Aegilops* species to drought stress during reproductive stages of development. *Functional Plant Biology* 39:51-59, <https://doi.org/10.1071/FP111171>
- Qi L. L., S. L. Wang, P. D. Chen, D. J. Liu, B. Friebe and B. S. Gill (1997) Molecular cytogenetic analysis of *Leymus racemosus* chromosomes added to wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 95:1084-1091, <https://doi.org/10.1007/s001220050666>
- Qi L. L., M. O. Pumphrey, B. Friebe, P. D. Chen and B. S. Gill (2008) Molecular cytogenetic characterization of alien introgressions with gene *Fhb3* for resistance to *Fusarium* head blight disease of wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 117:1155-1166, <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0853-9>
- Rai A., A. Mahendru-Singh, A. K. Ahlawat, R. R. Kumar, K. Raghunandan, S. Saini, ... and R. B. Shukla (2019) Quality evaluation of near isogenic lines of the wheat variety carrying *Sr26*, *Lr19* and *Yr10* genes. *Journal of Cereal Science* 88:110-117, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.05.009>
- Roelfs A. P., P. R. Singh and E. E. Saari (1992) Las Royas del Trigo: Conceptos y Métodos para el Manejo de esas Enfermedades. CIMMYT. México, D. F. 81 p.
- Sears E. R. (1952) Homoeologous chromosomes in *Triticum aestivum*. *Genetics* 37:624.
- Subbarao G. V., M. Kishii, A. Bozal-Leorri, I. Ortiz-Monasterio, X. Gao, M. I. Ibba, ... and M. Iwanaga (2021) Enlisting wild grass genes to combat nitrification in wheat farming: a nature-based solution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118:e2106595118, <https://doi.org/10.1073/pnas.2106595118>
- Villaseñor-Mir H. E. (2015) Sistema de mejoramiento genético de trigo en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6:2183-2189, <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.796>
- Wang L. S. and Y. L. Zhang (2019) Molecular and cytogenetic identification of *Triticum aestivum*-*Leymus racemosus* translocation line T5AS/5LrL conferring resistance to *Fusarium* head blight. *Acta Phytopathologica Sinica* 49:83-89, <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000194>
- Ye B., R. P. Singh, C. Yuan, D. Liu, M. S. Randhawa, J. Huerta-Espino, ... and C. Lan (2022) Three co-located resistance genes confer resistance to leaf rust and stripe rust in wheat variety Borlaug 100 *The Crop Journal* 10:490-497, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.07.004>
- Zaharieva M., E. Gaulin, M. Havaux, E. Acevedo and P. Monneveux (2001) Drought and heat responses in the wild wheat relative *Aegilops geniculata* Roth: potential interest for wheat improvement. *Crop Science* 41:1321-1329, <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4141321x>

