

# BÚSQUEDA DE TRANSLOCACIONES 1RS DE CENTENO (*Secale cereale*) EN VARIEDADES DE TRIGO (*Triticum durum*) DEL BAJÍO, MÉXICO

## SEARCH FOR 1RS RYE (*Secale cereale*) TRANSLOCATIONS IN WHEAT (*Triticum durum*) VARIETIES FROM THE BAJÍO AREA, MEXICO

Victor **Montero-Tavera**<sup>1</sup>, Ana I. **Mireles-Arriaga**<sup>2</sup>, Diana **Sanzón-Gómez**<sup>2</sup>, Jesús **Hernández-Ruiz**<sup>2</sup>, Ernesto **Solís-Moya**<sup>1</sup>, Jorge E. **Ruiz-Nieto**<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. 38110. Celaya, Guanajuato, México. <sup>2</sup>Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. 36500. Irapuato, Guanajuato, México. (jorge.ruiz@ugto.mx).

### RESUMEN

Las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS se usan ampliamente en los programas de mejoramiento genético de trigo (*Triticum durum*) en varios países y han permitido la formación de variedades con características agronómicas mejores, como resistencia al estrés abiótico y biótico. El objetivo de este estudio fue identificar y seleccionar genotipos con base en la presencia de las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS en las principales variedades de trigo del Bajío, México. La hipótesis fue que la presencia de las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS sería diferente entre las variedades estudiadas. Las variedades de trigo, comerciales y cultivadas ampliamente en el Bajío, Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca y Santa Ana fueron los testigos experimentales internos; la variedad Nana tolerante a sequía y la susceptible Júpare fueron el testigo externo; también, la variedad TAM 200, en la que se reportó la presencia de la translocación 1AL.1RS se incluyó. El ADN genómico de 20 plantas, de cada variedad, se extrajo y mediante amplificación por PCR de cinco marcadores se evaluó la presencia o ausencia de las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS. Los resultados del diagnóstico se analizaron en un diseño completamente al azar con veinte repeticiones mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Ninguna de las variedades comerciales o testigos experimentales internos presentaron las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS. Esto indica que en los programas de mejoramiento de trigo locales no han usado las translocaciones para identificar y seleccionar genotipos sobresalientes. Sin embargo, los marcadores RYE-NOR y RIS indicaron la presencia de translocaciones no reportada y que podrían deberse a la introgresión con fuentes de centeno (*Secale cereale*) locales. Ninguna de las variedades comerciales evaluadas presentó las translocaciones 1AL.1RS y

### ABSTRACT

The 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations are widely used in wheat (*Triticum durum*) breeding programs in several countries and allowed varieties development with improved agronomic traits, such as resistance to abiotic and biotic stress. Our objective in this study was to identify and select genotypes based on the presence of 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations on the main used wheat varieties from the Mexican Bajío. The hypothesis was that the presence of 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations would be different among the studied varieties. The commercial and extensively cultivated in the Bajío wheat varieties were Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca and Santa Ana, the internal experimental controls were the drought tolerant Nana variety and the susceptible Júpare, the TAM 200 variety as external control, in which the presence of the 1AL.1RS translocation was included. The genomic DNA of 20 plants of each variety was extracted and the presence or absence of the 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations was evaluated by the PCR amplification of five markers. The results of the diagnosis were analyzed in a completely randomized design with 20 repetitions using the Kruskal-Wallis test. None of the commercial varieties or internal experimental controls showed 1AL.1RS or 1BL.1RS translocations. This indicates that in the local wheat breeding programs have not used translocations to identify and select outstanding genotypes. However, the RYE-NOR and RIS markers indicated the presence of not reported translocations, most likely due to introgression with local rye (*Secale cereale*) sources. None of the evaluated commercial varieties exhibit 1AL.1RS or 1BL.1RS translocations, but the RYE-NOR and RIS markers indicated the presence of previously unreported translocations.

\*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: junio, 2017. Aprobado: noviembre, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en *Agronomía* 53: 259-267. 2019.

**Keywords:** Molecular markers, assisted selection, genetic improvement.

## 1BL.1RS, pero los marcadores RYE-NOR y RIS indicaron la presencia de translocaciones no reportadas.

**Palabras clave:** marcadores moleculares, selección asistida, mejoramiento genético.

### INTRODUCCIÓN

Las razas locales y las poblaciones silvestres son fuente de variación que puede utilizarse para el mejoramiento de los cultivos. El aprovechamiento de las poblaciones silvestres, como fuente de alelos novedosos ha sido un reto (Tester y Langridge, 2010); ellas se usan con éxito en el mejoramiento genético de cultivos por más de cien años (Feuillet *et al.*, 2008).

El centeno (*Secale cereale*) tiene potencial para incrementar la variabilidad genética e introducir características deseables al trigo (*Triticum durum*) (Vaillancourt *et al.*, 2008). Esto debido a su capacidad para crecer y mantenerse en condiciones ambientales adversas (Yediay *et al.*, 2010). En el trigo, las translocaciones 1RS de centeno son probablemente la fuente externa utilizada con más éxito en su mejoramiento. Cientos de variedades comerciales de trigo, portando las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS, se han desarrollado; entre ellas están las principales variedades del Bajío (Weng *et al.*, 2007). Las translocaciones tienen impacto positivo en aspectos como el rendimiento. China es el productor principal de trigo en el mundo, con 126.2 millones t en 2014 (FAOSTAT, 2017). De acuerdo con Zhou *et al.* (2007), el aumento mayor en el rendimiento del trigo fue a principio de 1980, en gran parte debido al uso de genes de enanismo y la translocación 1B/1R.

Las variedades de trigo con translocaciones cromosómicas de centeno han mostrado mayor tolerancia al estrés biótico, como la roya, y abiótico, como el estrés hídrico principalmente, en comparación con las variedades que no las presentan (Yediay *et al.*, 2010). El brazo cromosómico 1RS del centeno es una fuente valiosa de genes para la resistencia a enfermedades, el mejor desempeño agronómico y la estabilidad del rendimiento en trigo (Waines y Ehdaie, 2007). La translocación T2BS.2RL aporta resistencia a enfermedades (Hysing *et al.*, 2007). La línea R14, portadora de la translocación 1BL.1RS, presentó resistencia a *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* y dos nuevos genes de resistencia *YrCn17* y *PmCn17*

### INTRODUCTION

Local breeds and wild populations are a source of variation that used for crop improvement. The usage of wild populations as a source of novel alleles has been a challenge (Tester and Langridge, 2010); these are successfully used in the genetic improvement of crops for over one hundred years (Feuillet *et al.*, 2008).

Rye (*Secale cereale*) has the potential to increase genetic variability and introduce desirable traits to wheat (*Triticum durum*) (Vaillancourt *et al.*, 2008). This is due to its ability to grow and maintain in adverse environmental conditions (Yediay *et al.*, 2010). For wheat, rye 1RS translocations are probably the external source most successfully used in their improvement. Hundreds of commercial wheat varieties, carrying the 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations, have been developed; among them the main Bajío varieties (Weng *et al.*, 2007). Translocations have a positive impact on aspects such as yield. China, a world leading wheat producer, generated 126.2 million t in 2014 (FAOSTAT, 2017). According to Zhou *et al.* (2007), the highest wheat yield increase occurred at the beginning of 1980, largely due to the use of dwarf genes and the 1B/1R translocation.

Wheat varieties with rye chromosomal translocations show greater tolerance to biotic stress, such as wheat rust, and abiotic, mainly as water stress, compared with varieties lacking them (Yediay *et al.*, 2010). The rye 1RS chromosomal arm is a valuable source of disease resistance genes, improved agronomic performance and wheat yield stability (Waines and Ehdaie, 2007). The T2BS.2RL translocation provides diseases resistance (Hysing *et al.*, 2007). The R14 line, 1BL.1RS translocation carrier, reported resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* and two new resistance genes *YrCn17* and *PmCn17* (Ren *et al.*, 2009). The presence of this rye chromosome provides the wheat plant tolerance to soil acidification, drought and salinity and greater water use efficiency (Bagherikia *et al.*, 2014). According to the results from Hoffmann (2008), a line with the 1RS translocation accumulated the largest root biomass, this could have contributed to the increase of their harvest index and water usage efficiency (23 and 32 %) drought conditions; as a consequence the water stress impact on their yield was lower compared to the line without the translocation. According to Placido *et al.* (2013) the wheat line with

(Ren *et al.*, 2009). La presencia de ese cromosoma de centeno confiere a la planta de trigo tolerancia a acidificación del suelo, sequía y salinidad y eficiencia mayor en el uso del agua (Bagherikia *et al.*, 2014). De acuerdo con los resultados de Hoffmann (2008), una línea con la translocación 1RS acumuló la cantidad mayor de biomasa en la raíz y esto pudo haber contribuido al incremento del índice de cosecha y uso eficiente del agua (23 y 32 %) en condiciones de sequía; en consecuencia, el impacto del estrés hídrico en el rendimiento fue menor en comparación con la línea sin translocación. De acuerdo con Placido *et al.* (2013) la línea de trigo con una translocación presentó mejores adaptaciones al estrés hídrico, mayor acumulación de biomasa en el tallo y la raíz en comparación con el testigo y, posiblemente, la expresión de estas características favoreció el intercambio gaseoso y la asimilación de carbono durante el estrés hídrico.

El Bajío es una de las principales áreas productoras de trigo en México, ya que contribuye con 28 % del total nacional (Ledesma-Ramírez *et al.*, 2012). En esta zona, entre los factores principales que afectan la producción están las enfermedades fungosas del género *Puccinia*, porque tienen la capacidad de vencer la resistencia específica mediante la evolución hacia nuevos biotipos con nuevos genes de virulencia y porque se reproducen rápidamente y se mueven a distancias muy grandes (Rodríguez-García *et al.*, 2009). Además, el ciclo de vida concluye en condiciones de sequía debido a la distribución más corta y errática de la precipitación pluvial, lo que restringe la supervivencia, desarrollo y producción (Ahuja *et al.*, 2010). Con base en las predicciones del cambio climático en el Bajío se espera un aumento mayor que el promedio mundial en incidencia, intensidad y duración de las sequías (Boyd e Ibararán, 2009).

Un sistema rápido y confiable de marcadores, para identificar las translocaciones 1RS de centeno en el trigo sería útil para seleccionar las líneas de interés (Weng *et al.*, 2007). Esto podría aplicarse en los programas de mejoramiento genético de trigo en el Bajío, para identificar y seleccionar genotipos con tolerancia a estrés biótico y abiótico. El objetivo del presente estudio fue identificar y seleccionar genotipos con base en la presencia de translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS en las principales variedades de trigo del Bajío. La hipótesis fue que la presencia de translocaciones sería diferente a 1AL.1RS y 1BL.1RS, en las variedades estudiadas.

a translocation presented better adaptations to water stress, greater biomass accumulation in the stem and roots compared with the control. Possibly, the expression of these traits favored the gas exchange and carbon assimilation during water stress conditions.

The Bajío area is one of the main wheat producing areas in Mexico, contributes with 28 % of the national total (Ledesma-Ramírez *et al.*, 2012). Fungal diseases are among the main factors affecting production of the *Puccinia* genus in this area, because they have the ability to overcome specific resistance by evolving towards new biotypes with new virulence genes and rapidly reproduce and move at very close distances (Rodríguez-García *et al.*, 2009). In addition, their life cycle ends in drought conditions due to shorter rainfall and their erratic distribution, which restricts survival, development and production (Ahuja *et al.*, 2010). Based on the climate change predictions from the Bajío, a higher than the world average droughts incidence increase, intensity and duration is expected (Boyd and Ibararán, 2009).

A rapid and reliable marker system to identify 1RS translocations from rye in wheat would be useful for selecting lines of interest (Weng *et al.*, 2007). This may be applied in wheat breeding programs at the Bajío areas, to identify and select genotypes tolerant to biotic and abiotic stress. The aim in the present study was to identify and select genotypes based on the presence of 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations form the main Bajío wheat varieties. Our hypothesis was that the translocations presence would be different to 1AL.1RS and 1BL.1RS, in the studied varieties.

## MATERIALS AND METHODS

### Vegetal material

This study used commercial wheat varieties (*T. durum*): Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca and Santa Ana. Nana and Júpare drought tolerant and susceptible varieties were internal controls (Villaseñor *et al.*, 2014). The varieties were registered at 1994, 2007, 2002, 1979, 1999, 2008 and 2001, respectively (SNICS, 2017). The TAM 200 variety was the external control, classified as winter red hard wheat (Fufa *et al.*, 2005). Seeds were germinated in a humid chamber, then, 5 d later transplanted into pots with Sunshine® substrate fine mixture No. 3. In the Feekes 3.0 phenological stage, the tissues from 20 plants were collected and immediately frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ . At this stage, the plants had

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

En este estudio se usaron las variedades comerciales de trigo (*T. durum*): Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca y Santa Ana y los testigos fueron las variedades Nana y Júpare tolerante y susceptible a la sequía (Villaseñor *et al.*, 2014). Las variedades se registraron en 1994, 2007, 2002, 1979, 1999, 2008 y 2001, respectivamente (SNICS, 2017). El testigo externo fue la variedad TAM 200, clasificada como trigo duro rojo de invierno (Fufa *et al.*, 2005). Las semillas germinaron en cámara húmeda y 5 d después se trasplantaron en macetas con sustrato Sunshine® mezcla fina No. 3. En la etapa fenológica Feekes 3.0 se recolectó el tejido de 20 plantas y se congeló de inmediato a  $-20^{\circ}\text{C}$ . En esta etapa las plantas tenían follaje abundante para recolectar sin afectar la producción de semilla (Miller, 1999).

### Extracción de ADN genómico

El ADN genómico se extrajo del follaje con el método de Doyle and Doyle (1990). La pureza del ADN se determinó por espectrofotometría (Nanodrop 8000®; ThermoScientific Inc.) y su integridad por electroforesis en agarosa a 1 % con amortiguador TBE 1X (EDTA 1 mM pH 8, ácido bórico 40 mM y Tris 40 mM) y GelRed™ 1X (Biotium). Los resultados se revelaron con luz UV en un fotodocumentador (BIO-RAD; Universal Hood II, EE.UU.).

### Identificación de translocaciones por PCR

Las translocaciones se amplificaron por PCR en un volumen total de  $20\ \mu\text{L}$ , que contenía  $12\ \mu\text{L}$  de agua destilada estéril,  $2\ \mu\text{L}$  de dNTP's (10 mM),  $2\ \mu\text{L}$  de PCR amortiguador 10X,  $0.8\ \mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (50 mM),  $2\ \mu\text{L}$  del par de iniciadores (10 mM),  $0.2\ \mu\text{L}$  de Taq (5 U  $\mu\text{L}^{-1}$ ) (Invitrogen) y  $1\ \mu\text{L}$  de ADN genómico ( $30\ \text{ng}\ \mu\text{L}^{-1}$ ). Las condiciones de reacción fueron las reportadas para los marcadores RYE-NOR (Koebner, 1995), SCM9 (Saal y Wricke, 1999), PAWS5/S6 (Rogowsky *et al.*, 1992a, b), RIS (Koebner, 1995) y O-SEC5'-A/O-SEC3'-R (Shimizu *et al.*, 1997) (Cuadro 1). Para evaluar la integridad y capacidad para obtener productos de PCR a partir de los ADN genómicos se amplificó el gen ribosómico 26S (Singh *et al.*, 2004; Montero-Tavera *et al.*, 2017). Los productos de las reacciones se revelaron por electroforesis.

### Análisis de resultados

Como se consideró la presencia o ausencia de los productos de PCR de los marcadores fueron la variable respuesta cualitativa

abundant foliage for collection without affecting seed production (Miller, 1999).

### Genomic DNA extraction

Genomic DNA was extracted from foliage following the method by Doyle and Doyle (1990). DNA purity was determined *via* spectrophotometry (Nanodrop 8000®, ThermoScientific Inc.) and integrity by electrophoresis in 1 % agarose with 1X TBE buffer (1 mM EDTA pH 8, 40 mM boric acid 40 mM Tris) and GelRed™ 1X (Biotium). Results were revealed with UV light in a photodocument (BIO-RAD, Universal Hood II, USA).

### Identification of translocations *via* PCR

Translocations were amplified using the PCR method in a  $20\ \mu\text{L}$  total volume, containing  $12\ \mu\text{L}$  of sterile distilled water,  $2\ \mu\text{L}$  of dNTP's (10 mM),  $2\ \mu\text{L}$  of 10X buffer PCR,  $0.8\ \mu\text{L}$  of  $\text{MgCl}_2$  (50 mM),  $2\ \mu\text{L}$  of the pair of primers (10 mM),  $0.2\ \mu\text{L}$  of Taq (5 U  $\text{mL}^{-1}$ ) (Invitrogen) and  $1\ \mu\text{L}$  of genomic DNA ( $30\ \text{ng}\ \text{mL}^{-1}$ ). The reaction conditions were those reported for the RYE-NOR markers (Koebner, 1995), SCM9 (Saal and Wricke, 1999), PAWS5 / S6 (Rogowsky *et al.*, 1992a, b), RIS (Koebner, 1995) and O-SEC5'-A / O-SEC3'-R (Shimizu *et al.*, 1997) (Table 1). To evaluate the integrity and capacity to obtain PCR products from genomic DNA, the 26S ribosomal gene was amplified (Singh *et al.*, 2004; Montero-Tavera *et al.*, 2017). The reactions products were revealed by electrophoresis.

### Analysis of results

Because the presence or absence of the PCR products the markers were the qualitative and nominal response variable; the factor was represented by the eight varieties. Results were analyzed in a completely randomized design, with twenty repetitions, following the Kruskal-Wallis test, on the Minitab® 16.2.3. statistical software.

## RESULTS AND DISCUSSION

The SCM9 marker located on the short arm of the 1R chromosome in rye has polymorphisms in the 1AL and 1BL chromosomal arms in wheat, therefore, this marker can be used to identify genotypes with translocations on 1AL.1RS and 1BL.1RS. These were observed with the PCR products amplification of 206 and 226 bp (Yediay *et al.*, 2010). This marker allows determining the presence and distinguishing both translocations. The PAWS5/S6 marker presents

**Cuadro 1. Marcadores para las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS.**  
**Table 1. Markers for 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations.**

| Marcador               | Secuencia (5' a 3')                                      | Condiciones de reacción PCR                                    |
|------------------------|--|--|
| RYE-NOR                | F: GCATGTAGCGACTAACTCATC<br>R: CCCAGTTTTCCATGTCCG        | 94, 94, 65 y 72 °C por 4 min, 15 s, 45 s y 45 s en 30 ciclos   |
| SCM9                   | F: TGACAACCCCTTTCCCTCGT<br>R: TCATCGACGCTAAGGAGGCC       | 94, 95, 60 y 72 °C por 2 min, 60 s, 60 s y 60 s en 40 ciclos   |
| PAWS5/S6               | F: AACGAGGGGTTTCGAGGCC<br>R: GAGTGTCAAACCCAACGA          | 95, 94, 60 y 72 °C por 3 min, 45 s, 60 s y 90 s en 30 ciclos   |
| RIS                    | F: TAATTTCTGCTTGCTCCATGC<br>R: ACTGGGGTGCCTGGATTAG       | 94, 94, 65 y 72 °C por 4 min, 15 s, 45 s y 45 s en 30 ciclos   |
| O-SEC5'-A<br>O-SEC3'-R | F: CTATTAGTTCGAAAAGCTTATGA<br>R: GCATATGACTCAAATTATTTTTT | 95, 94, 50 y 72 °C por 5 min, 60 s, 120 s y 180 s en 30 ciclos |

Forward (F), reverse (R).

y nominal; el factor lo representaron las ocho variedades. Los resultados se analizaron en un diseño completamente al azar, con veinte repeticiones, mediante la prueba de Kruskal-Wallis, con el programa estadístico Minitab® 16.2.3.

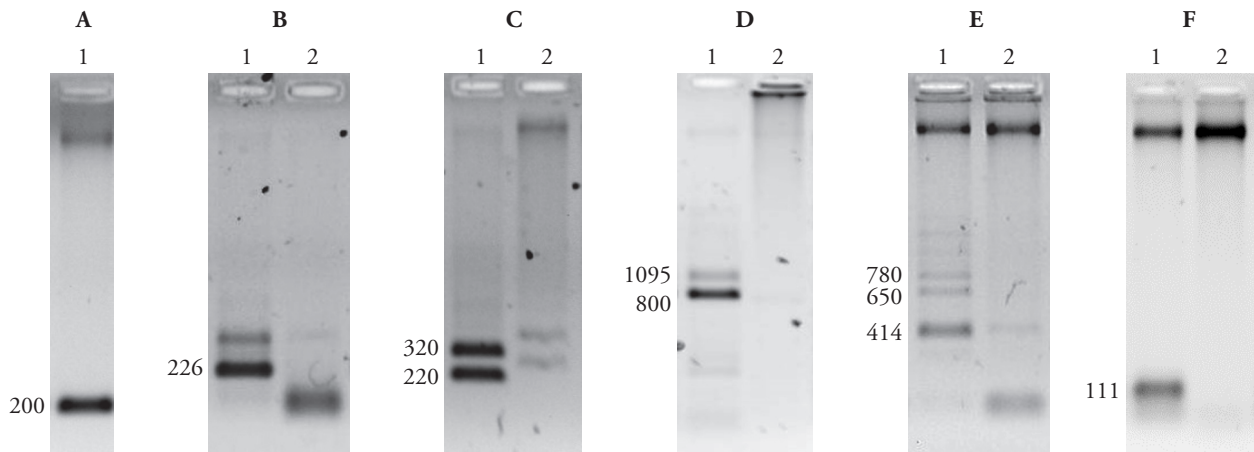
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El marcador SCM9 se localiza en el brazo corto del cromosoma 1R de centeno y muestra polimorfismo en los brazos cromosómicos 1AL y 1BL de trigo, por esto puede usarse para identificar genotipos con las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS. Lo anterior lo observamos con la amplificación de productos de PCR de 206 y 226 pb (Yediay *et al.*, 2010). Es decir, este marcador permite determinar la presencia y distinguir ambas translocaciones. El marcador PAWS5/S6 presenta dos productos de PCR, de 320 y 220 pb, relacionados con la familia de secuencias repetidas R173 de centeno (Rogowsky *et al.*, 1992a). El producto de 220 pb es específico para la translocación 1AL.1RS (Bagherikia *et al.*, 2014) y la presencia del producto de 320 pb depende del origen de la fuente de centeno (Weng *et al.*, 2007). El marcador O-SEC5'-A/O-SEC3'-R amplifica productos de PCR de 1095 y 700 pb, que son específicos para las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS; también, un producto de 1530 pb, que solo indica la presencia de cualquiera de las translocaciones, se amplifica (Tabibzadeh *et al.*, 2013; Bagherikia *et al.*, 2014) (Figura 1).

De acuerdo con los productos de PCR con los marcadores SCM9, PAWS5/S6 y O-SEC5'-A/O-SEC3'-R, solamente la variedad TAM 200 presentó la translocación 1AL.1RS. Esto lo reportaron Fufa *et*

two PCR products of 320 and 220 bp, related to the R173 family of repeat sequences in rye (Rogowsky *et al.*, 1992a). The 220 bp product is specific for the 1AL.1RS translocation (Bagherikia *et al.*, 2014) and the presence of the 320 bp product depends on the origin of the rye source (Weng *et al.*, 2007). The O-SEC5'-A/O-SEC3'-R marker amplifies 1095 and 700 bp PCR products, specific for the 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations; also, a 1530 bp product, which only indicates the presence of any of the translocations (Tabibzadeh *et al.*, 2013; Bagherikia *et al.*, 2014) (Figure 1).

According to the PCR products with the SCM9, PAWS5/S6 and O-SEC5'-A/O-SEC3'-R markers, only the TAM 200 variety exhibit the 1AL.1RS translocation. Fufa *et al.* (2005), Jin and Singh (2006) and Weng *et al.* (2007), reported this matter (Table 2). The RYE-NOR microsatellite was designed to obtain three PCR products, with 780, 650 and 414 bp, and their presence indicates that both translocations are in the genome, but they are not distinguishable from 1AL.1RS and 1BL.1RS (Yediay *et al.*, 2010). When any of the translocations is absent, no PCR product is obtained, since the amplified products correspond exclusively to the rye 1RS chromosome sequence. The RIS marker amplifies a product with 111 bp if any of these translocations exist (Weng *et al.*, 2007). According to Koebner (1995), the RYE-NOR and RIS markers amplify regions of the *Nor-R1* and *5S-Rrna-R1 loci* of the 1RS rye chromosome or the *5S-Rrna locus* of chromosome 3R. The number of base pairs of the PCR products may slightly vary depending on the rye source; in the present diagnosis,



**Figura 1. Ejemplo de los productos de PCR obtenidos (pb). A) 26S; B) SCM9; C) PAWS5/S6; D) O-SEC5'-A/O-SEC3'-R; E) RYE-NOR; F) RIS. 1) Presencia de las bandas esperadas del marcador; 2) ausencia de las bandas esperadas del marcador.**  
**Figure 1. Example of PCR products obtained (bp). A) 26S; B) SCM9; C) PAWS5/S6; D) O-SEC5'-A/O-SEC3'-R; E) RYENOR; F) RIS. 1) Presence of the expected bands of the marker; 2) absence of the bands expected from the marker.**

al. (2005), Jin y Singh (2006) y Weng *et al.* (2007) (Cuadro 2). El microsatélite RYE-NOR se diseñó para obtener tres productos de PCR, con 780, 650 y 414 pb, y su presencia indica que ambas translocaciones están en el genoma, pero no se distinguen de 1AL.1RS y 1BL.1RS (Yediay *et al.*, 2010). Al estar ausente alguna de las translocaciones ningún producto de PCR se obtiene, ya que los productos de amplificación corresponden exclusivamente a la secuencia del cromosoma 1RS de centeno. El marcador RIS amplifica un producto con 111 pb si existe alguna de esas translocaciones (Weng *et al.*, 2007). De acuerdo con Koebner (1995), los marcadores RYE-NOR y RIS amplifican regiones del *loci Nor-R1* y *5S-Rrna-R1* del

they indicate the presence of introgressions from this species in the evaluated wheat varieties.

The Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca and Santa Ana commercial varieties did not exhibit 1AL.1RS or 1BL.1RS translocations. But, the PCR products of the RYE-NOR and RIS markers were amplified. Since these commercial varieties were released on average 21 years ago, and the maintenance of their genetic identity was a responsibility only of the regional producers, the PCR products of the RYE-NOR and RIS markers indicate introgressions with local rye as a source, although not correspond to 1AL.1RS or 1BL.1RS translocations. The incorporation of rye translocations to wheat breeding programs could

**Cuadro 2. Diagnóstico de la presencia o ausencia de las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS.**  
**Table 2. Diagnosis of the presence or absence of translocations 1AL.1RS and 1BL.1RS.**

| Variedad  | RYE-NOR | RIS   | SCM9    |         | PAWS5/S6 | O-SEC5'-A/O-SEC3'-R |         |
|-----------|---------|-------|---------|---------|----------|---------------------|---------|
|           |         |       | 1AL.1RS | 1BL.1RS | 1AL.1RS  | 1AL.1RS             | 1BL.1RS |
| TAM 200   | ●       | ●     | ●       | ○       | ●        | ●                   | ○       |
| Cortázar  | ●       | ●     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Maya      | ○       | ●     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Bárcenas  | ●       | ●     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Salamanca | ●       | ●     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Santa Ana | ●       | ●     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Nana      | ○       | ○     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Júpare    | ○       | ○     | ○       | ○       | ○        | ○                   | ○       |
| Valor P   | <0.01   | <0.01 | <0.01   | >0.05   | <0.01    | <0.01               | >0.05   |

Presencia (●), ausencia (○). v Presence (●), absence (○).

cromosoma de centeno 1RS o del locus *5S-Rrna* del cromosoma 3R. El número de pares de bases de los productos de PCR puede variar un poco en función de la fuente de centeno; en el presente diagnóstico, indican la presencia de introgresiones de esta especie en las variedades de trigo evaluadas.

Las variedades comerciales Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca y Santa Ana no presentaron las translocaciones 1AL.1RS o 1BL.1RS. Pero, los productos de PCR de los marcadores RYE-NOR y RIS sí se presentaron. Ya que las variedades comerciales se liberaron hace 21 años en promedio y el mantenimiento de su identidad genética estuvo a cargo solo de los productores regionales, los productos de PCR de los marcadores RYE-NOR y RIS indican introgresiones con centeno local como fuente, aunque no corresponden a las translocaciones 1AL.1RS o 1BL.1RS. La incorporación de translocaciones de centeno a los programas de mejoramiento de trigo podría potenciar y facilitar la obtención de variedades resistentes a estrés biótico y abiótico, pero deben estudiarse las poblaciones locales de centeno y las translocaciones que podrían ya estar presentes en las variedades comerciales de trigo, por introgresión, de acuerdo con las evidencias del presente estudio.

El marcador RYE-NOR indicó que 45, 20, 25, 30 y 65 % de los individuos de las variedades Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca y Santa Ana presentaron alguna translocación. El marcador RIS indicó la presencia de translocaciones en 45, 20, 10, 60 y 40 % de los individuos, respectivamente. En la variedad Santa Ana se identificó un número mayor de individuos con los productos de PCR de los marcadores RYE-NOR y RIS; también es la única que no generó el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. De acuerdo con el SNICS (2017), esta variedad se liberó comercialmente en 1999 y se siembra en el sureste del estado de Guanajuato, México. Por lo que, en esta región podría haber fuentes de centeno para incorporar a los programas de mejoramiento del trigo. La variedad Nana con tolerancia a sequía (Villaseñor *et al.*, 2014) se liberó comercialmente (SNICS, 2017) y no mostró productos de PCR, con los marcadores 1AL.1RS, 1BL.1RS, RYE-NOR o RIS. Esto sugiere que los genes asociados con la tolerancia al estrés hídrico en esta variedad son propios del trigo, y que la tolerancia podría incrementarse mediante translocaciones de centeno de las poblaciones locales.

promote and facilitate obtaining stress resistant varieties to biotic and abiotic factors, but local rye populations should be further studied along with the translocations that could already be present in wheat commercial varieties, due introggression, according to the evidences of the present study.

The RYE-NOR marker indicated that 45, 20, 25, 30 and 65 % of the individuals from the Cortázar, Maya, Bárcenas, Salamanca and Santa Ana varieties had some translocation. The RIS marker indicated translocations in 45, 20, 10, 60 and 40 % of the individuals, respectively. In the Santa Ana variety, a greater number of individuals were identified by the PCR products of the RYE-NOR and RIS markers, which is also the only variety not generated by the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. According to the SNICS (2017), this commercially variety was released in 1999 and it is sown at the southeast of Guanajuato state, Mexico. Therefore, in this region there could be rye sources to be included in the wheat improvement programs. The Nana variety with drought tolerance (Villaseñor *et al.*, 2014), was commercially released (SNICS, 2017) and reports no PCR products on the 1AL.1RS, 1BL.1RS, RYE-NOR or RIS markers. This suggests that the genes associated with tolerance to water stress in this variety are specific to wheat, and that its tolerance could increase by rye translocations from local populations.

According to Geiger and Miedaner (2009) rye has greater drought tolerance, as well to salinity or metals, such as aluminum, respect to small grain cereals. Rye translocations presence was heterogeneous in the evaluated varieties. This confirmed selective pressure absence for the translocations presence at the wheat improvement program for the Bajío. Therefore, the incorporating this selection criterion would potentiate the program. In addition, there should be a genetic, agronomic, morphological and physiological characterization of the carrier cultivars. Some wheat improvement programs from the International Maize and Wheat Improvement Center in Mexico have reported that the 1BL.1RS translocation significantly increases yield and biomass accumulation (Villareal *et al.*, 1998, Foulkes *et al.*, 2007). But, in the evaluated commercial varieties in this study, those translocations were absent; therefore, it is possible that the selection based on these chromosomal regions improved wheat development at the Bajío.

De acuerdo con Geiger y Miedaner (2009) el centeno tiene tolerancia mayor a sequía, salinidad o metales, como el aluminio, respecto a cereales de grano pequeño. La presencia de las translocaciones de centeno fue heterogénea en las variedades evaluadas. Esto confirmó la ausencia de presión selectiva para la presencia de esas translocaciones en el programa de mejoramiento de trigo para el Bajío. Por lo tanto, la incorporación de este criterio de selección sería posible para potencializar el programa. Además, deberá hacerse la caracterización genética, agronómica, morfológica y fisiológica de los cultivares portadores. Algunos programas de mejoramiento de trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo en México han reportado que la translocación 1BL.1RS incrementa significativamente el rendimiento y la acumulación de biomasa (Villareal *et al.*, 1998; Foulkes *et al.*, 2007). Pero, en las variedades comerciales evaluadas en este estudio esas translocaciones estuvieron ausentes; por lo que, es posible que la selección con base en esas regiones cromosómicas mejore el desarrollo de trigo en el Bajío.

Los programas de mejoramiento genético convencionales se han enfocado a la obtención de variedades con adaptación a grandes áreas, pero, la adaptación es poco frecuente por los ambientes biofísicos y socioeconómicos diversos y complejos (Acosta, 2013). Por lo tanto, la innovación de los programas de mejoramiento dependerá del aprovechamiento de los recursos fitogenéticos locales y la incorporación de los elementos genéticos más convenientes a las variedades mejoradas. Es el caso de los presentes resultados en el mejoramiento de trigo en el Bajío. La introgresión y pirimidación de genes múltiples que afecten al mismo carácter son un reto para los programas de mejoramiento (Xu y Crouch, 2008). La selección en trigo, asistida por marcadores moleculares, con base en la presencia de las translocaciones que pudieran presentarse en las poblaciones locales de centeno sería un valor agregado para el mejoramiento de caracteres complejos con los que están asociadas las translocaciones, según la experiencia en otros programas. Por lo tanto, el estudio y diseño de marcadores con base en la evidencia del presente estudio son convenientes.

## CONCLUSIONES

Ninguna de las variedades comerciales evaluadas y que se cultivan ampliamente en el Bajío presentaron

Conventional breeding programs have focused on obtaining varieties with adaptation to large areas, but adaptation is rare due to diversity and complexities of the biophysical and socioeconomic environments (Acosta, 2013). Therefore, the breeding programs innovation will depend on the use of local plant genetic resources and the incorporation of the most convenient genetic elements to the improved varieties. Such is the case in the present results from the wheat improvement program for the Bajío. The introgression and pyrimidation of multiple genes that affect the same trait are a challenge for breeding programs (Xu and Crouch, 2008). The wheat selection, assisted by molecular markers, based on the presence of translocations that could locally occur from rye populations would be an added value for the improvement of complex traits with which translocations are associated, according to experience in other programs. Therefore, the study and design of markers based on the evidence of the present study are convenient.

## CONCLUSIONS

None of the evaluated widely cultivated commercial varieties from the Bajío exhibit 1AL.1RS and 1BL.1RS translocations, but the RYE-NOR and RIS markers indicate the presence of previously unreported translocations.

—End of the English version—



las translocaciones 1AL.1RS y 1BL.1RS, pero los marcadores RYE-NOR y RIS sí indicaron presencia de translocaciones que no se ha reportado previamente.

## AGRADECIMIENTOS

El proyecto fue financiado por el Programa para el Desarrollo Profesional Docente (DSA/103.5/16/10374).

## LITERATURA CITADA

Acosta, R. 2013. Evaluación morfoagronómica de la diversidad genética de variedades locales de maíz (*Zea mays*, L.) en La Palma, Pinar del Río. *Cult. Trop.* 24: 61-67.

- Ahuja, I., C. De Vos R., A. M. Bones, and R. D. Hall. 2010. Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci.* 15: 664-674.
- Bagherikia, S., G. Karimzadeh, and M. R. Naghavi. 2014. Distribution of 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in *Triticum aestivum* using specific PCR. *Biochem. Syst. Ecol.* 55: 20-26.
- Boyd, R., and M. E. Ibararán. 2009. Extreme climate events and adaptation: an exploratory analysis of drought in Mexico. *Environ. Dev. Econ.* 14: 371-395.
- Doyle, J. J., and J. L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12: 13-15.
- FAOSTAT. 2017. <http://fao.org/faostat> (Consulta: mayo 2017).
- Feuillet, C., P. Langridge, and R. Waugh. 2008. Cereal breeding takes a walk on the wild side. *Trends Genet.* 24: 24-32.
- Fufa, H., P. S. Baenziger, B. S. Beecher, I. Dweikat, R. A. Graybosch, and K. M. Eskridge. 2005. Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. *Euphytica* 145: 133-146.
- Foulkes, M. J., J. W. Snape, V. J. Shearman, L. M. P. Reynolds, and R. Sylvester-Bradley. 2007. Genetic progress in yield potential in wheat: recent advances and future prospects. *J. Agri. Sci.* 145: 17-29.
- Geiger, H. H., and T. Miedaner. 2009. Rye breeding. *Cereals* 3: 157-181.
- Hoffmann, B. 2008. Alteration of drought tolerance of winter wheat caused by translocation of rye chromosome segment 1RS. *Cereal Res. Comm.* 36: 269-278.
- Hysing, S. C., S. L. Hsam, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, L. A. Boyd, R. M. D. Koebner, S. Cambron, J. W. Johnson, D. E. Bland, E. Lijeroth, and A. Merker. 2007. Agronomic performance and multiple disease resistance in T2BS. 2RL wheat-rye translocation lines. *Crop Sci.* 47: 254-260.
- Jin, Y. and R. P. Singh. 2006. Resistance in US wheat to recent eastern African isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* with virulence to resistance gene Sr31. *Plant Dis.* 90: 476-480.
- Koebner, R. M. D. 1995. Generation of PCR-based markers for the detection of rye chromatin in a wheat background. *Theor. Appl. Genet.* 90: 740-745.
- Ledesma-Ramírez, L., E. Solís-Moya, M. P. Suaste-Franco, J. F. Rodríguez-Caracheo, and M. Cruz-Gonzalez. 2012. Análisis GGE BIPLLOT del rendimiento de trigo (*Triticum* spp.) con riego normal y restringido en El Bajío, México. *Agrociencia* 46: 119-131.
- Miller T. D. 1999. Growth stages of wheat: identification and understanding improve crop management. Texas Agricultural Extension Service, the Texas A&M University system. 16 p.
- Montero-Tavera V., M. A. Escobedo-Landín, J. A. Acosta-Gallegos, J. L. Anaya-Lopez, and J. E. Ruiz-Nieto. 2017. 26S: novel reference gene from leaves and roots of common bean for biotic stress expression studies based on PCR. *Legume Res.* 41.
- Placido, D. F., M. T. Campbell, J. J. Folsom, X. Cui, G. R. Kruger, P. S. Baenziger, and H. Walia. 2013. Introgression of novel traits from a wild wheat relative improves drought adaptation in wheat. *Plant Physiol.* 161: 1806-1819.
- Ren, T. H., Z. J. Yang, B. J. Yan, H. Q. Zhang, S. L. Fu, and Z. L. Ren. 2009. Development and characterization of a new 1BL. 1RS translocation line with resistance to stripe rust and powdery mildew of wheat. *Euphytica* 169: 207-213.
- Rodríguez-García, M. F., J. Huerta-Espino, H. E. Villaseñor-Mir, and E. Solís-Moya. 2009. Virulencia de la roya amarilla del trigo en las principales zonas productoras de riego en México. *Agric. Téc. Méx.* 35: 179-187.
- Rogowsky, P. M. K., J. Y. Liu, S. Manning, C. Taylor, and P. Langridge, 1992a. Structural heterogeneity in the R173 family of rye-specific repetitive DNA sequences. *Plant Mol. Biol.* 20: 95-102.
- Rogowsky, P. M. K., W. Shepherd, and P. Langridge. 1992b. Polymerase chain reaction based mapping of rye involved repeated DNA sequences. *Genome* 35: 621-626.
- Saal, B. G., and G. Wricke. 1999. Development of simple sequence repeats markers in rye (*Secale cereale*). *Genome* 42: 964-972.
- Shimizu, Y., S. Nasuda, and T. R. Endo. 1997. Detection of Sec-1 locus of rye by a PCR-based method. *Genes Genet. Syst.* 72: 197-203.
- Singh, K., J. Raizada, P. Bhardwaj, S. Ghawana, A. Rani, H. Singh, K. Kiran, and S. Kumar 2004. 26S rRNA-based internal control gene primer pair for reverse transcription-polymerase chain reaction-based quantitative expression studies in diverse plant species. *Anal. Biochem.* 335: 330-333.
- SNICS. 2017. Catálogo Nacional de Variedades Vegetales. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Tabibzadeh N., Karimzadeh G., and Naghavi M. 2013. Distribution of 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in Iranian wheat, using PCR based markers and SDS-PAGE. *Cereal Res. Comm.* 41: 458-467.
- Tester, M., and P. Langridge. 2010. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* 327: 818-822.
- Vaillancourt, A., K. K. Nkongolo, P. Michael, and M. Mehes. 2008. Identification, characterization, and chromosome locations of rye and wheat specific ISSR and SCAR markers useful for breeding purposes. *Euphytica* 159: 297-306.
- Villaseñor, M. H. E. V., E. E. Rangel, J. H. Espino, E. S. Moya, J. I. Moreno, L. O. Alcalá, y P. P. Herrera. 2014. Nana F2007, cultivar de trigo para siembras de temporal en México. *REMEXCA* 7: 1363-1367.
- Waines, J. G., and B. Ehdaie. 2007. Domestication and crop physiology: roots of green-revolution wheat. *Ann. Bot.* 100: 991-998.
- Weng, Y., P. Azhaguvel, R. Devkota, and J. Rudd. 2007. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breed.* 126: 482-486.
- Xu, Y., and J. H. Crouch, 2008. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Sci.* 48: 391-407.
- Yediay, F. E., F. S. Baloch, B. Kilian, and H. Özkan. 2010. Testing of rye-specific markers located on 1RS chromosome and distribution of 1AL. RS and 1BL. RS translocations in Turkish wheat (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf.) varieties and landraces. *Genet. Resour. Crop Ev.* 57: 119-129.
- Zhou, Y., Z. H. He, X. X. Sui, X. C. Xia, X. K. Zhang, and G. S. Zhang. 2007. Genetic improvement of grain yield and associated traits in the northern China winter wheat region from 1960 to 2000. *Crop Sci.* 47: 245-253.

