Entendiendo las interacciones poblacionales, histológicas-citológicas, y moleculares de *P. striiformis tritici* y el trigo para prevenir la roya amarilla usando genes de resistência

Understanding population, histological-cytological and molecular interactions of *P.striiformis tritici* and wheat to prevent yellow rust using resistance genes

DOI: 10.46932/sfjdv2n5-129

Received in: Oct 1st, 2021

Accepted in: Dec 30th, 2021

Valeria Carolina Moreno Heredia

Bachelor in Biotechnology at the University of Queensland

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Panamericana Sur Km 1 1/2, Riobamba-Ecuador

E-mail: valecarolinamoreno@gmail.com

RESUMEN

La roya amarilla es una de las enfermedades más devastadoras del trigo a nivel mundial. Esta es causada por el hongo *Puccinia striiformis f.sp.tritici* (*Pst*), el cual, debido a su gran capacidad migratoria, adaptación y niveles altos de mutación, está amenazando la seguridad alimentaria del trigo en todas las zonas donde se lo cultiva. Varias estrategias han sido implementadas para controlar su esparcimiento, pero se ha demostrado que la mejor es el mejoramiento genético. La clave para desarrollar cultivares resistentes, es el entendimiento de las interacciones entre el trigo y *Pst*. Este trabajo está enfocado en sintetizar las investigaciones realizadas en los últimos 30 años en cuanto a interacciones trigo-*Pst*, separándolos en categorías, para lograr un entendimiento a nivel poblacional, celular y molecular. Este trabajo encontró que no todos los genes de resistencia de raza-específica son vencidos por el patógeno rápidamente, *Yr5* y *Yr15* son la excepción. Igualmente, no todos los genes de resistencia de plantas adultas se expresan en la etapa adulta, *Yr36*, también lo hace en plántulas. Además, la fase temprana de infección, en cultivares susceptibles y resistentes, es igual cualitativamente, pero no cuantitativamente; una diferencia clara en ambos niveles, empieza 48 horas post infección. El haustorio no solamente absorbe nutrientes del huésped; también puede manipular el metabolismo de éste para su beneficio y además puede elaborar algunos nutrientes para sí mismo. Este trabajo ayudará a entender las interacciones trigo-*Pst* de una manera globalizada, pero sintetizada a todas las personas interesadas en mantener la seguridad alimentaria del trigo.

Palabras clave: haustorio, *Puccinia striiformis f.sp.tritici*, raza-especifica, raza-no-especifica, *Yr5-Yr15-Yr36*.

ABSTRACT

Yellow rust is one of the world's most devastating wheat diseases. This is caused by the fungus *Puccinia striiformis f.sp.tritici* (*Pst*), which, due to its great migratory capacity, adaptation and high levels of mutation, is threatening the food security of wheat in all the areas where it is grown. Several strategies have been implemented to control its spread, but the best one has been shown to be genetic improvement. The key to developing resistant cultivars, is understanding the interactions between wheat and *Pst*. This work is focused on synthesizing the investigations carried out in the last 30 years regarding wheat-*Pst* interactions, separating them into categories, to achieve an understanding at the population, cellular and

molecular level. This work found that not all race-specific resistance genes are rapidly overcome by the pathogen; *Yr5* and *Yr15* are the exception. Likewise, not all adult plant resistance genes are expressed in the adult stage, *Yr36*, is also expressed in seedlings. Furthermore, the early phase of infection in susceptible and resistant cultivars is the same qualitatively, but not quantitatively; a clear difference at both levels, begins 48 hours post infection. The haustoria, is not only a tool that absorbs nutrients from its host, it can also manipulate the host's metabolism for its benefit, and even elaborate some nutrients by itself. This work will help to understand wheat-Pst interactions in a globalized yet synthesized way to everyone who is interested in maintaining the food security of wheat.

Keywords: haustoria, *Puccinia striiformis f.sp.tritici* (*Pst*), race-specific, race-nonspecific, *Yr5*-*Yr15*-*Yr36*.

1 INTRODUCCIÓN

Los cereales contribuyen el 50% de las calorías diarias necesarias para la población mundial (Singer-Foroud y Laurie, 2019). Sin embargo, el trigo supera al arroz y el maíz en su cantidad de proteínas y es solo el segundo después del arroz en su contenido de calorías (CGIAR, 2017). El trigo es un cultivo muy versátil, se puede adaptar a diferentes condiciones de crecimiento, por lo que es el cereal más cultivado en todo el mundo con un área total de 219 millones de ha/año, es decir 42 y 57 millones de ha/año más que el maíz y el arroz, respectivamente (Abbate-Cardos y Campaña, 2017). En 2019 la producción global de trigo fue de 763 millones de toneladas, un 4.2% más que en 2018 y se estima que la producción tendrá que duplicarse para el año 2050, dado el aumento de la población a 10 billones y un posible crecimiento económico (Singer-Foroud y Laurie, 2019; FAO, 2020). Lo cual supone un problema debido al calentamiento global, reducción de agua, disminución de tierra arable y un aumento en pestes. En México, por ejemplo, el área cultivada de trigo en otoño-invierno 2019-2020, se redujo en un 11.1%, comparada con el año anterior SIAP 2021, (como se citó en Félix-Fuentes y Rosas, 2021). Por ello, es importante aumentar el rendimiento del grano por unidad de área de tierra (Singer-Foroud y Laurie, 2019). Una herramienta para lograr este objetivo es el control de enfermedades. Anualmente se obtiene cerca de USD \$ 50 billones por la comercialización del trigo, pero enfermedades como la roya amarilla causan pérdidas de 5.47 millones de toneladas de trigo al año, que equivalen a USD \$979 millones de dólares (CGIAR, 2017; Solh *et al.*, 2012). Esto las convierte en el grupo de enfermedades del trigo más importantes en términos económicos. El agente causal de la roya amarilla o estriada en el trigo, es el hongo *Puccinia striiformis f.sp.tritici* (*Pst*). *Pst* posee una gran capacidad de dispersión, adaptación a diferentes ambientes, altas tasas de mutación de razas y diversidad genética (Carmona y Sautua, 2016). Esto hace posible que *Pst* este distribuido en todos los continentes del mundo. En las Américas, *Pst* causa daños importantes en Estados Unidos, México, y Chile; entre otros países andinos. En África, impacta las tierras altas de Etiopía, Kenia, y Uganda (Sharma-Poudyal *et al.*, 2013). *Pst* afecta también Asia, en la zona este (oeste de China) y el sur (India, Pakistán, y Nepal). Igualmente, Oceanía

(Australia, y Nueva Zelanda), al igual que la península de Arabia (Yemen) y el oeste de Europa (este de Inglaterra) (Ali *et al.*, 2017). Se han establecido varias medidas para controlar la enfermedad de la roya, pero la más económica y amigable con el medio ambiente, es el control genético (Buerstmayr *et al.*, 2014). El control genético hace uso de genes de resistencia para crear plantas resistentes, a una o varias razas de *Pst*. Sin embargo, mantener estas nuevas razas resistentes a nivel regional y continental requiere un mejor entendimiento de las interacciones huésped-patógeno, así como la diversidad del patógeno y su perfil de virulencia a nivel mundial (Sharma-Poudyal *et al.*, 2013). En términos generales, existen dos tipos de resistencia: resistencia cualitativa (raza específica, resistencia total, resistencia en todas las etapas y resistencia vertical y resistencia de plantas jóvenes) y resistencia cuantitativa (resistencia de plantas adultas, resistencia parcial, horizontal, raza-no-específica), Van der Plank, *et al.*, 1963 (como se citó en Buerstmayr *et al.*, 2014). Generalmente, la resistencia de plantas jóvenes, es superada por el patógeno en unos pocos años, ya que la relación huésped-patógeno obedece los principios: gene-por-gen. (Flor, 1956; Priyamvada-Saharan y Tiwari, 2011). Por otro lado, la resistencia de plantas adultas, es una resistencia más duradera; al estar gobernada por varios genes menores, puede proteger a la planta de todas las razas de *Pst* (Parlevliet, 1985). Pero, no todos los genes de resistencia parcial son duraderos y no todos los genes de resistencia completa son superados rápidamente por el patógeno. Debido a esto, continuos análisis de mapeo QTL y estudios poblacionales de *Pst* son indispensables para controlar la epidemia (Buerstmayr *et al.*, 2014). Esto sin mencionar que el hongo *Puccinia striiformis*, en general, posee el ciclo de vida más complejo dentro de todos los hongos patógenos de las plantas. *Pst* al ser un biotrofo obligado, no puede ser cultivado sintéticamente. Por lo tanto, el estudio de los cambios histológicos, citológicos y moleculares tanto en *Pst* como en la planta durante el proceso de infección, es complicado (Kang-Tang y Zhao, 2017). En vista de las características excepcionales de *Pst* y la importancia del estudio de las interacciones *Pst*-trigo, para controlar la enfermedad de la roya amarilla. El objetivo de este artículo es recopilar investigaciones de los últimos treinta años en cuanto a interacciones poblacionales, histológicas/citológicas, y moleculares trigo-*Pst*. Este estudio beneficiará a investigadores, profesores, agricultores, estudiantes y personas interesadas en mantener la seguridad alimentaria del trigo, dada su importancia nutricional, económica, y académica a nivel mundial.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se realizó una búsqueda sistemática de artículos científicos, reportes, tesis, y libros realizados por universidades y asociaciones profesionales, publicadas en fuentes de investigación de carácter nacional e internacional, en los últimos 30 años. A nivel internacional se buscó en las revistas: Nature, Science, APS, Frontiers, Plos; y a nivel regional en las revistas: Scielo, Redalyc y Latindex. También se

utilizaron bases de datos y buscadores prestigiosos a escala global como: Elsevier, NCBI, Springer, Pubmed, Librería Wiley, y Google Académico.

2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN-EXCLUSIÓN

Se tomó en cuenta que los artículos de la búsqueda se refieran exclusivamente al patógeno que causa la roya amarilla: *Puccinia striiformis f.sp.tritici* y no a otros hongos de la orden Pucciniales que causan la roya de tallo y/o roya de hoja.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 INTERACCIONES POBLACIONALES

3.1.1 Prevalencia de nuevas razas de *P.stiiformis f.sp. tritici* en diferentes regiones geográficas del mundo.

Identificar nuevas razas es un prerequisite para diseñar estrategias efectivas para controlar la enfermedad a través de la mejora genética (Sharma-Poudyal *et al.*, 2013). Por lo tanto, el monitoreo de razas de *Pst* debería ser una prioridad para todas las regiones epidémicas del mundo. Esto no solo porque el patógeno puede migrar grandes distancias, sino porque puede mutar y cambiar de un cultivar resistente a uno susceptible rápidamente (Sharma-Poudyal *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2010).

Se denomina *Pst* seguido de un número, a una raza en particular que consiste de una o varias cepas, la cual a su vez está formada por uno o más genotipos multi-locus estrechamente relacionados. Antes de 1950, en el noroeste de Europa se pensaba que existían varias razas de *Pst*, luego se determinó que todas pertenecían al linaje clonal *PstS0*. Ali *et al.*, (2017), muestreó 885 aislados (genéticamente diferentes de *Pst*) en 35 países, del 2009 al 2015 e identificó 79 razas que pertenecen a los linajes *PstS1*, *PstS2*, *PstS3*, *PstS4*, *PstS5*, *PstS6*, *PstS7*, *PstS8*, *PstS9*, y *PstS10* (Ali *et al.*, 2017). Se encontró que las razas: *PstS2*, *PstS4*, *PstS5*, *PstS6*, *PstS7*, *PstS8*, *PstS9*, y *PstS10*, se presentaron en distintas situaciones epidémicas y ninguna de las razas evaluadas fue detectada en todos los continentes del mundo. Además, 34 de las 79 razas, fueron detectadas una sola vez. La raza *PstS1* fue prevalente en el norte de África y América del Norte, mientras que *PstS2* fue prevalente en epidemias de Asia Oriental y el este de África. El linaje *PstS3* fue detectado en Europa, el norte de África, y el oeste y sur de Asia. *PstS4* fue prevalente en el norte de Europa, en especies de triticale del 2009 al 2011. *PstS5* representa el 90% de los aislados prevalentes en Asia Central, incluyendo Uzbekistan. La raza *PstS6* fue predominante primero en el este de África (25% de los aislados) y en 2016 fue detectada Afganistán. La raza europea Warrior (*PstS7*) fue el linaje más divergente entre todas las razas, mientras que Kranich (*PstS8*) estuvo relacionada a *Pst5* que fue prevalente en Asia Central. *PstS9* fue relacionado con epidemias en Asia Central desde el 2013. El linaje *PstS10* fue conocido anteriormente como Warrior(-) y fue común solo en Europa hasta 2014, pero en 2016 también apareció en Asia Occidental.

También se encontró que las razas PstS7, PstS8, y PstS10 cubrían más del 80% de los aislados investigados en Europa desde el 2011. Mientras que los linajes PstS1 y PstS2 (estrechamente relacionados) fueron las razas con más variantes, y mayor prevalencia en distintos continentes. Adicionalmente, de todas las regiones estudiadas, el mayor número de razas fue detectado en el Sur de Asia y el mínimo en América del Sur y Asia Occidental. Igualmente el mayor diversidad e razas se observó en el Sur de Asia, mientras que la diversidad menor se detectó en África del norte (Ali *et al.*, 2017).

3.1.2 La virulencia de *P. striiformis* f.sp. *tritici* y su frecuencia en genes de resistencia a escala global.

El monitoreo de virulencia usando diversas razas provenientes de distintas regiones del mundo ayudan a comprender la variabilidad genética actual de las interacciones huésped-patógeno. Ésta también ayuda a determinar los niveles de resistencia de cultivares o líneas mejoradas de trigo para descubrir nuevos genes de resistencia (Sharma-Poudyal *et al.*, 2013). Actualmente existen más de 50 genes formalmente reconocidos y cerca de 40 temporalmente denominados “Yr”, del inglés yellow rust que significa roya amarilla McIntosh *et al.*, 2012 (como se citó en Sharma-Poudyal *et al.*, 2013). Varios estudios han evaluado la virulencia de diferentes razas en cultivares resistentes, pero la mayoría son a nivel regional o local. Sin embargo, existen pocos estudios que han evaluado razas y genes de resistencia a nivel global. Uno de ellos es Ali *et al.*, (2017), donde se descubrió que los nuevos brotes epidémicos (2009-2015) de la roya amarilla fueron causados por las razas *PstS1*, *PstS2*, *PstS3*, *PstS4*, *PstS5*, *PstS6*, *PstS7*, *PstS8*, *PstS9*, y *PstS10*, y que éstas surgieron de poblaciones de razas divergentes, y no de linajes clonales. Para medir la virulencia de estas nuevas razas se utilizaron 37 líneas diferenciales de roya amarilla de trigo, provenientes de subconjuntos europeos y mundiales. Estas líneas poseían 19 genes de resistencia: *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr5*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr24*, *Yr25*, *Yr27*, *Yr32*, *Sp*, *AvS*, y *Amb*. Los resultados mostraron que los genes *Yr5* y *Yr15* no reportaron virulencia hacia ninguno de los 887 aislados utilizados en toda la investigación, y que fueron recuperados de Asia, África, Las Américas, y Europa. Mientras que, en la mayoría de las regiones se reportó una rara frecuencia de hasta un 12% de virulencia a *Yr10* y *Yr24*. Por otro lado, las frecuencias más altas y mejor distribuidas de virulencia (>70% de las regiones evaluadas) se observaron en los genes: *Yr2*(83%), *Yr6*(97%), *Yr7*(86%), *Yr9*(7%), y *Yr25*(75%). No se detectó virulencia a *Yr27* en Europa. Así como tampoco a *Yr3*, *Yr4*, *Yr17*, *Yr32*, *YrSp*, y *YrAmb* en Asia Occidental; ni a *Yr10* y *Yr24* en el Norte de África y el Sur de Asia; a *Yr10*, *Yr24*, y *YrSp* en Asia Central; y a *Yr10*, *Yr32*, y *YrSp* en el Este de África. En general, el número máximo de virulencias fue observado en Europa y el mínimo en Asia Occidental y América del Sur.

Sharma-Poudyal *et al.*, (2013), también identificó frecuencias y distribución de virulencias a escala global. En total 235 aislados de 13 países provenientes de todos los continentes, recolectados del 2006 al 2010, fueron evaluados en 20 líneas individuales de genes Yr, junto con 20 genotipos de trigo usados para

diferenciar razas de *Pst* en los Estados Unidos. A escala internacional las virulencias más frecuentes ($\geq 80\%$) se observaron en los genes de resistencia: *YrA*(89%), *Yr2*(92%), *Yr6*(92%), *Yr7*(90%), *Yr8*(80%), *Yr17*(88%), *Yr31*(99%), y *Yr21*(98%); y las líneas diferenciales de EE.UU: Stephens, Lee, y Fielder. Una virulencia moderadamente frecuente (20-80%) fue observada en los genes: *Yr1*(41%), *Yr9*(68%), *Yr25*(39%), *Yr27*(69%), y *Yr28*(79%); y en las líneas diferenciales de Estados Unidos: Heines VII, Paha, Druchamp, Yamhill, Tyee, Tres, Hyak, Express, Clement y Compair. Mientras que las virulencias menos frecuentes ($\leq 20\%$) fueron a los genes: *Yr10* (9%), *Yr24* (11%), *Yr32* (11%), *YrSP* (9%), y *Moro* (6%). Adicionalmente, ninguno de los aislados recogidos en Australia fue virulento a *Yr27*, *Yr10*, *Yr32*, *YrSp* y *Moro*; así como ninguno de los aislados de Canadá y Turquía fueron virulentos a *Yr10* y *Moro*. Todos los aislados recogidos en Canadá, China y Kenia no reportaron virulencia a *Yr24*. De igual manera aquellos de Canadá y Nepal, no fueron virulentos a *Yr32*, tampoco se reportó virulencia a *YrSp* cuando todos los aislados de Canadá, Chile, Hungría, Kenia, y Nepal fueron evaluados. Y, todos los aislados recogidos de Chile y Kenia fueron avirulentos a *Yr17* y *YrTyee*.

Al comparar los resultados de Ali *et al* (2017) con los de Sharma-Poudyal *et al.*, (2013) se puede notar que las nuevas razas, descubiertas con los aislados recogidos en el periodo 2009-2015, son más virulentas que aquellas recogidas del 2006-2010. Indicando una muy posible evolución en el perfil de virulencia de las nuevas razas. La virulencia a los genes *Yr1*, *Yr2*, *Yr6*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr24*, *Yr25*, y *YrSp*, aumento en un: 11, 1, 5, 9, 2, 1, 36, y 9%, respectivamente, en casi 4 años. Por otro lado, los genes *Yr10*, *Yr24*, *Yr32* y *YrSp* son los que menos virulencia han reportado en los dos estudios. Por otro lado, ninguno de los aislados evaluados en ambos estudios, mostró virulencia a *Yr5* y *Yr15*. Cabe destacar que estos genes confieren resistencia de raza-específica, y a diferencia de *Yr1*, *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, y *YrSp*, que también confieren resistencia de raza-específica, *Yr5* y *Yr15* son los únicos que se han mantenido resistentes hasta ahora (Lowe-Cantu y Dubcovsky, 2011; Chen, 2013). Debido a esto, la búsqueda de una resistencia más duradera es necesaria. En términos generales, la resistencia de raza-no específica es más duradera que aquella de raza-específica. Sin embargo, la resistencia de raza-no específica es controlada por varios genes, por lo que su clonación, así como su inserción en el trigo, dado que éste es un hexaploide, es un proceso difícil (Parlevliet, 1985; Wang *et al.*, 2010).

4 INTERACCIONES HISTOLÓGICAS Y CITOLÓGICAS

4.1 EL ESTADO BIOTROFO DE PST: INFECCIÓN UREDINIAL

P. striiformis f.sp. tritici posee un ciclo de vida muy complejo. Además de atravesar 5 etapas de esporas: pycniospora (espermatium), aeciospora, urediniospora, teliospora y basidiospora; también puede multiplicarse asexual y sexualmente, para lo cual usa huéspedes alternativos, filogenéticamente distintos al trigo. La reproducción asexual es la más importante, ya que ésta es la forma de multiplicación que causa los

brotes epidémicos en todas las regiones donde se cultiva el trigo, incluidos: Nepal, Pakistan y China; que además, son regiones de recombinación sexual (Carmona y Sautua, 2016). El ciclo asexual es completado en el huésped primario (trigo) o plantas auxiliares tipo pasto. Si la temperatura oscila entre 1 y 23°C (rango óptimo 7-12°C), una sola aeciospora o urediniospora puede producir una pústula con múltiples uredinias (Sharma-Chen y Rupp, 2014). El proceso de infección tiene tres fases: penetración, parasitismo, y esporulación (Kang-Tang y Zhao, 2017). Tres horas después de que una urediniospora (unicelula dicariótica [n+n]) hace contacto con una hoja de trigo, esta célula empieza a formar un tubo germinal, el cual se extiende en dirección perpendicular a las células epidérmicas de la hoja (Zhang *et al.* 2008). El tubo penetra la estoma (6-8hpi), generalmente sin formar un apresorio. Después, forma una vesícula subestomatal dentro del estoma y una hifa de infección en el espacio intercelular (Zhang *et al.* 2008). La etapa de parasitismo empieza cuando la hifa alcanza las células mesófilas y se convierte en célula madre haustorio. Esta desarrolla un cuello delgado que penetra la pared celular e invade la membrana plasmática, formando un cuerpo haustorio dentro de las células mesófilas Kang 1996 (como se citó en Kang-Tang y Zhao, 2017). El cuerpo haustorio está protegido por una pared celular fúngica y está rodeado por una matriz extra-haustorial. Esta última está hecha de carbohidratos y proteínas que provienen del hongo, y principalmente de la planta, Harder y Chong, 1991 (como se citó en Voegelé y Mendgen 2002). La matriz extrahaustorial sirve como lugar de intercambio de nutrientes e información entre el huésped y el hongo; y se cree que ésta es la responsable de mantener el estado biotrofo del hongo, al servir como una separación entre la membrana plasmática del huésped y el parásito, Heath y Skalamera, 1997 (como se citó en Voegelé y Mendgen 2002). Los nutrientes obtenidos de las células infectadas, favorecen el crecimiento de nuevas hifas y haustorios, resultando en una colonización extensa de micelio fúngico. Cuando dos hifas de infección diferentes se fusionan, pueden intercambiar núcleos y crear variedad genética. Finalmente, si las condiciones son favorables (T óptima de 12-15°C), 12 a 14 días después de la inoculación, las células esporógenas, dan lugar a una yema que se expande y forma las células primarias de urediniosporas Chen et al., 2014 (como se citó en Kang-Tang y Zhao, 2017).

4.2 INTERACCIONES COMPATIBLES E INCOMPATIBLES TRIGO-PUCCINIA STRIIFORMIS F.SP.TRITICI

Existen dos tipos de interacciones trigo-*Pst*: incompatibles y compatibles. En la interacción incompatible, el producto de un gen de resistencia (R) de la planta, reconoce un producto de un gen de avirulencia (*avr*) del patógeno, y como resultado desencadena una respuesta hipersensible (RH) que termina en muerte celular (Flor, 1956). En las interacciones compatibles, la planta carece de genes de resistencia, por lo que su defensa es menos efectiva. La resistencia desplegada por cultivares resistentes puede ser cualitativa (resistencia vertical) o cuantitativa (resistencia horizontal) (Buerstmayr *et al.*, 2014).

4.3 RESISTENCIA CUALITATIVA

Wang *et al.*, (2010) investigó la interacción incompatible entre el cultivar resistente Suwon 11 y el patógeno CY23. La planta desplegó una respuesta hiper-sensitiva 18 horas después de la infección, cuando las células madre haustorio entraron en contacto con las células mesófilas. Seis horas después, solo algunas células mostraban una (RH), pero 72hpi casi todos los sitios de infección poseían células del huésped con necrosis. Dos días después, un gran número de células huésped murieron, pero la propagación del hongo fue detenida. Estudios histológicos y citológicos revelaron que las plantas de trigo resistentes secretan más lignin, quitinasa, tionina y glicoproteínas ricas en hidroxiprolina, que aquellas susceptibles (Kang *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2008a). También las especies reactivas del oxígeno (ROS): H₂O₂ y O₂ son mayores y se acumulan continuamente hasta 96hpi (Wang *et al.*, 2007). En la fase temprana de infección, las interacciones compatibles e incompatibles muestran un crecimiento similar del hongo. Pero, 48 horas post infección, la inhibición del crecimiento del hongo es significativamente mayor en la interacción incompatible. El citoplasma de la hifa se llena de sacos y parches dispersos de electrones. El cuerpo haustorio se rodea de material denso en electrones, mientras que el citoplasma de las células madre haustorio es vacuolado. Los orgánulos del citoplasma se agregan y se desintegran; mientras que la capa alrededor del cuerpo haustorio se ensancha de forma irregular, acumulando depósitos granulares. Finalmente, esta membrana se arruga debido a las ramas creciendo en el citoplasma de la célula huésped y otras vesículas alrededor del haustorio, volviéndose necrótico (Kang *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2008).

4.4 RESISTENCIA CUANTITATIVA

Esta resistencia también conocida como resistencia de plantas adultas (RPA), puede desencadenar una respuesta de hipersensibilidad. Sin embargo, en términos generales utiliza estrategias más sutiles que la muerte celular. Por ejemplo: Yr18 y Yr29 no están asociados con una respuesta hipersensible (RH) significativa. Pero, el cultivar Xingzi 9104 posee un gen de resistencia de RPA que es asociado con una RH continua, y una producción localizada de ROS, además de un retardo en la formación de haustorio e inhibición considerable en la formación de hifas secundarias, resultando en una disminución de microcolonias en plantas adultas (Zhang *et al.*, 2012). La resistencia cuantitativa también es conocida como resistencia de plantas adultas a temperaturas altas (HTAP). Ésta es usualmente es nula o baja en plantas jóvenes, pero existen excepciones. El gen Yr36 se expresa en plantas jóvenes y adultas. Además, es activado solamente a temperaturas altas (33°C en el día y 12°C la noche). Al estudiar el gen Yr36 con el patotipo CYR29, las observaciones histológicas mostraron que las plantas que expresaban el gen Yr36, detuvieron el crecimiento de hifas secundarias, las células del huésped mostraban necrosis y muerte celular, y las especies oxidativas reactivas se acumularon a niveles importantes cuando las hifas empezaron a extenderse Li *et al.*, 2016 (como se citó en Kang-Tang y Zhao, 2017). Otro estudio comparó las respuestas del cultivar Avocet

S (susceptible) con el cultivar Kariega (resistencia completa de planta adulta), luego de una infección con el patotipo 6E22. Cuatro días después de la inoculación, los primeros sitios necróticos fueron observados en Kariega, pero no en Avocet S. Cinco días post infección, las células mesófilas en Kariega mostraron lignificación, mientras que las células de Avocet S, no. Seis días después de la infección, el cultivar susceptible finalmente mostro células necróticas; 7dpi las colonias fúngicas de Avocet S tuvieron dos veces el tamaño que las encontradas en las hojas bandera de Kariega. El octavo día, el número de colonias en Avocet S creció descomunamente, de manera que no se pudo cuantificar el número de esporas en la hoja bandera (Moldenhauer *et al.*, 2006). La **Fig.I** muestra las interacciones entre el huésped (Kariega y Avocet S) y el patógeno 6E22, interacciones compatibles e incompatibles en diferentes tiempos de infección.

Fig. I Desarrollo de la roya amarilla en interacciones compatibles e incompatibles. Diferencias entre Kariega (cultivar resistente) y Avocet S (cultivar susceptible) 14dpi (a). Estructuras de infección 3dpi en Kariega (b) y Avocet S (c). El hongo fue pintado con Uvitex y analizado con microscopia de escaneo laser confocal. sp=espora, gt=tubo germinativo, sv=vesícula subestomatal, ih=hifa de infección, hmc=célula madre haustorio. La vecinidad inmediata al hongo esta mostrada en verde. Tejido necrótico apareció 5dpi en Kariega, mostrado en rojo amarillento (d), pero no en Avocet S (f). Las células necróticas rodearon al hongo completamente 7dpi en Kariega (e), mientras que Avocet S presento pocas células necróticas dispersas (g) (Moldenhauer *et al.*, 2006).

5 INTERACCIONES MOLECULARES

5.1 GENES UP-REGULADOS EN EL TRIGO EN INTERACCIONES COMPATIBLES E INCOMPATIBLES DE TRIGO-PST

El uso de la mayoría de técnicas moleculares y genéticas para estudiar las interacciones trigo-*Pst* han sido limitadas debido a la difícil tarea de transformar el trigo por su complejo genoma al ser un hexaploide y a la imposible tarea de cultivar a *Pst* en un medio sintético, al ser un biotrofo obligado. Sin embargo, algunas técnicas han logrado elucidar las funciones de ciertos genes involucrados en la interacción trigo-*Pst*,

basándose en estudios transcriptómicos. Wang *et al.*, (2010) utilizó la tecnología ADNc-AFLP, para detectar genes diferencialmente expresados durante la interacción incompatible trigo-*Pst*, y la comparó con su estudio previo donde investigó las interacciones compatibles. En la interacción incompatible se identificaron 1787 transcritos up-regulados y 650 down-regulados, y se obtuvieron 255 secuencias confiables, de las cuales 113 tenían funciones putativas identificadas. El 7.4% (19) fueron de *Pst*, y 129 de trigo, los restantes no tenían un origen claro. En la interacción compatible 966 transcritos fueron up-regulados y 1340 down-regulados, y se identificaron 186 fragmentos de transcritos confiables, 32(17%) provenientes de *Pst* y 87(47%) del trigo (Wang *et al.*, 2009). Ya que la interacción compatible muestra más genes desactivados en el huésped, que la interacción incompatible, podemos sugerir el patógeno tiene la capacidad de suprimir las defensas del huésped. Debido a esto, dos veces más genes fueron desactivados en las plantas susceptibles que en las resistentes. En la interacción incompatible, 45 de los 129 genes identificados del trigo poseían alta homología compartida con genes de metabolismo y fotosíntesis, 18 con genes de defensa de enfermedades; 17 en la transducción de señales, y los restantes 33 eran genes implicados en transcripción, procesos de transporte, metabolismo de proteínas y estructura celular (Wang *et al.*, 2010). Mientras que en la interacción compatible se detectaron genes implicados en la energía, transducción de señales, defensa de enfermedades, y metabolismo (Wang *et al.*, 2009).

La falta de expresión de genes de estructura celular, procesos de transporte y transcripción en la interacción incompatible compatible, indicarían que los genes de resistencia, son los encargados de codificar los transcritos encargados de esas funciones. Interesantemente, 161 de los 255 genes identificados en i.incompatibles, también fueron inducidos en i.compatibles; mientras que 94 fueron expresados específicamente en i. incompatibles (Wang *et al.*, 2010). Por lo cual, se determinó que esos 161 transcritos, corresponden a la defensa basal de la planta. También, se encontró que los genes implicados en la transducción de señales, y defensa de enfermedades alcanzaron su punto máximo de expresión de 12 a 24 horas post inoculación (hpi), en interacciones compatibles e incompatibles (Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010). Mientras que los genes de resistencia fueron altamente expresados de 48 a 72hpi, pero volvieron a niveles basales 120hpi (Wang *et al.*, 2010). Esto sugiere que la respuesta a un ataque de *Pst*, en la etapa inicial, es similar en interacciones compatibles e incompatibles el primer día, pero empiezan a diferir dos días después y vuelven a ser similares el quinto día de la interacción.

5.2 PERSPECTIVA MOLECULAR DE LA RESISTENCIA CUALITATIVA.

Generalmente, esta resistencia confiere inmunidad a un solo patotipo de *Pst*, y se presenta en todas las etapas de crecimiento de la planta. Esta es gobernada por genes mayores, que en su mayoría pueden adaptarse a *Pst* en unos pocos años (Priyamvada- Saharan y Tiwari, 2011).

Las líneas casi isogénicas Yr1 y Yr10 fueron estudiadas con la técnica DDRT-PCR, para identificar los genes que se expresaban en diferentes tiempos, a partir de una infección de *Pst*. Treinta y tres de los genes encontrados fueron analizados más a fondo con qRT-PCR, y 14 produjeron niveles reproducibles de inducción o represión. Entre estos se encontraron una enzima conjugadora de ubiquitina y una proteína tipo ciclofilina. Estos genes podrían estar involucrados en la ubiquitinilación, muerte celular programada, actividades anti fúngicas, respuestas a resistencia de enfermedades, y respuestas relacionadas con la patogénesis. Adicionalmente, se encontró que los genes a cargo de la degradación de proteínas, mediada por ubiquitina, se regulan en el trigo como respuesta a una infección de un patógeno a virulento de la roya amarilla Bozkurt *et al.* 2008 (como se citó en Kang-Tang y Zhao, 2017). En otro estudio se identificaron los transcritos asociados a Yr5. Mediante un GeneChip, Coram *et al.*, (2008a) encontró que la presencia de Yr5, activa transcritos de defensa y vías de señalización comunes en una respuesta mediada por los genes R. Esta respuesta incluye la señalización de la proteína kinasa y la producción de especies reactivas de oxígeno que conducen a una RH. Además de la respuesta específica desencadenada por los genes R, se ha encontrado que varias proteínas relacionadas con la patogénesis (pr) en plantas, son controladas por los genes Yr. Farrakh *et al.*, 2016 (como se citó en Kang-Tang y Zhao, 2017) estudio las proteínas PR1, PR2, PR3, PR4, PR5, PR9, y PR10 en líneas casi isogénicas con los genes de resistencia YrTr1, Yr76, YrSP y YrExp2. Los resultados mostraron que todas las proteínas fueron up-reguladas 1dpi; PR3 y PR4 permanecieron up-reguladas hasta el catorceavo día post inoculación, y solo PR9 y PR2 fueron inducidas desde el inicio (0dpi). PR1, PR2, y PR5 están relacionadas con la vía de ácido salicílico (AS), mientras que PR3, PR4, y PR9 en la vía del ácido jasmónico (AJ).

5.3 PERSPECTIVA MOLECULAR DE LA RESISTENCIA CUANTITATIVA.

Generalmente, esta resistencia es más efectiva en la etapa adulta de la planta; y es más duradera que la resistencia cualitativa, ya que, al estar gobernada por un conjunto de genes menores, puede resistir varios años (Parlevliet, 1985). A diferencia de los genes de resistencia vertical que únicamente actúan mediante la (RH); los genes de resistencia horizontal desencadenan otras respuestas, además de la (RH).

El gen Yr39 posee la resistencia de plantas adultas a temperaturas altas (HTAP), y para estudiar los transcritos asociados con su expresión, se utilizó la tecnología Affymetrix GeneChip. Se encontró que más de la mitad de transcritos inducidos, estaban involucrados en defensa y transducción de señales. Los mismos que estaban asociados con la producción de proteínas (pr), biosíntesis de fenilpropanoide, y señalización de proteína kinasa (Coram *et al.*, 2008b). Vías biológicas similares se han encontrado en el cultivar Xingzi9104. Hao *et al* (2016), demostró que Xingzi9104 poseía genes involucrados en ROS, biosíntesis de fenilpropanoide, fotosíntesis y metabolismo de tiamina, los cuales participan en la regulación de la lignificación y formación de azúcar. Chen *et al.*, 2013 (como se citó Kang-Tang y Zhao, 2017) comparo

diferentes genes (Yr18, Yr29, y Yr39) de resistencia HTAP o APR. Se encontró que todos los genes, expresaron un transcrito en común, el cual era una proteína de la capa de no-clatrina, cuya función putativa es la de transporte de sustancias anti-fúngicas a través de la membrana celular para hacer contacto directo con el haustorio o hifa.

5.4 ESTRATEGIAS DE PATOGENICIDAD DE PST EN EL TRIGO.

El haustorio es un sitio concertado de interacción entre el huésped y el patógeno, por lo que descubrir sus funciones es esencial para entender los mecanismos de supervivencia de *Pst* dentro del huésped. Garnica *et al.*, (2013), identificó más de 400 genes que codificaban para proteínas secretadas del haustorio, utilizando la tecnología de secuenciación (NGS). Aunque el 60% de estas proteínas no compartieron similitud con genes conocidos, 105 fueron similares a proteínas hipotéticas de *Puccinia graminis f.sp. tritici* y 4 fueron similares a proteínas encontradas previamente en *Puccinia striiformis f.sp. tritici*. Estas fueron clasificadas en glucosidasas de diferentes familias relacionadas con la degradación de la pared celular de las plantas. Otras fueron desacetilasas de quitina y también proteínas involucradas en procesos celulares como: plegamiento de proteínas, proteólisis, reducción-oxidación, y regulación de transcripción. También encontraron que 35 de estas proteínas contenían dominios de proteínas conservados como el dominio del dedo de cinc, dominio de unión cobre/cinc, taumatina, entre otros. Estudios como este ayudan a formar una perspectiva general de los procesos celulares involucrados durante la interacción huésped-patógeno. En este caso, los resultados sugieren que el haustorio está dedicado a la producción de energía y a procesos biosintéticos. Sin embargo, para confirmar los hallazgos, hacen falta estudios funcionales, como los detallados a continuación.

El haustorio es ampliamente reconocido por su función en la absorción de nutrientes, y estudios como los de Chang *et al.*, (2017), lo han demostrado. La sacarosa es el azúcar más abundante en las hojas, pero el hongo necesita descomponerla para su absorción. Chang *et al.*, (2017) mostró que el gen PsINV es altamente expresado en la interacción trigo-*Pst*, y además que PsINV es una invertasa eficiente de hidrólisis de sacarosa. Cuando el gen PsINV fue silenciado, el crecimiento de *Pst* fue inhibido y el número de esporas se redujo considerablemente. Otros estudios han demostrado que el haustorio no solamente toma nutrientes del huésped, sino que manipula al huésped para su beneficio. Por ejemplo: TaAMT2;3a, es un transportador de amonio tipo AMT2 del trigo, pero Jiang *et al.*, (2019) demostró que al silenciar el gen TaAMT2;3a, el número y longitud de hifas, así como las células madre haustorio, decreció. Sin embargo, en las plantas donde TaAMT2;3a, no fue silenciado, *Pst* indujo a este transportador, para obtener nitrógeno. También se ha demostrado que *Pst* puede secretar efectores que son transportados fuera de la membrana extrahaustorial. La proteína Pst_12806 es translocada del haustorio a los cloroplastos, donde interactúa con el C-terminal del dominio Rieske de la proteína TaISP del trigo. Esta interacción resulta en una reducción de la velocidad

de transporte de electrones, reducción de fotosíntesis, y la producción de ROS derivada de cloroplastos (Xu *et al.*, 2019). No solo esto, se ha encontrado que *Pst* puede producir ciertos nutrientes por sí mismo a través de la síntesis de novo. Los genes asociados con la vía de biosíntesis de tiamina, son masivamente up-regulados en *Pst* durante la infección. El pirofosfato de tiamina (Vitamina B1), actúa como cofactor en varias enzimas del metabolismo central del carbono: alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (α -KGDH) en el ciclo DE Krebs; transcetolasa en el PPS no oxidativo; y piruvato deshidrogenasa (PDH) que conecta la glucólisis y el ciclo de Krebs (Garnica *et al.*, 2013).

6 CONCLUSIONES

1. A escala global, todos los genes de resistencia cualitativa, excepto Yr5, y Yr15 han sido vencidos por alguna raza de *Pst*, después de pocos años.
2. Todos los genes de resistencia cuantitativa (Yr18, Yr29, y Yr39) conocidos hasta ahora aparecen en la etapa adulta de las plantas, excepto Yr36, el cual también se expresa en plantas jóvenes.
3. Las interacciones trigo-*Pst* compatibles e incompatibles, en la fase temprana de infección (12-24hpi), son similares en cuanto a los componentes que intervienen, pero difieren en la cantidad de los mismos. Pero, la diferencia entre un cultivar susceptible y uno resistente, a nivel histológico y molecular se hace evidente 48 horas post infección.
4. El haustorio no solamente actúa como una herramienta pasiva de absorción de nutrientes, también puede manipular el metabolismo de su huésped para su beneficio, y además puede proveer nutrientes esenciales para sí mismo.
5. La resistencia cuantitativa puede incluir una respuesta hipersensible (RH), pero mayoritariamente, despliega una respuesta menos agresiva como disminuir el número y tamaño de esporas.
6. Moléculas y efectores tanto del huésped como del parásito pueden atravesar la membrana extrahaustorial, ya sea para atacar o defenderse.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbate, P.E., Cardos, M.J., Campaña, L.E. 2017. *Manual de cultivo de trigo*. Argentina: International Plant Nutrition Institute. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/320465244_El_trigo_su_difusion_importancia_como_alimento_y_consumo.
2. Ali, S., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., *et al.* 2017. Yellow rust epidemics worldwide were caused by pathogen races from divergent genetic lineages. *Frontiers in Plant Science*, 8(1057):1-14.
3. Buerstmayr, M., Matiasch, L., Mascher, F., *et al.* 2014. Mapping of quantitative adult plant field resistance to leaf rust and stripe rust in two European winter wheat populations reveals co-location of three QTL conferring resistance to both rust pathogens. *Theoretical and Applied Genetics*, 127:2011-2028.
4. Carmona, M., Sautua, F. 2016. Roya amarilla del trigo: Nuevas razas en el mundo, monitoreo y uso de fungicidas, Argentina. FAUBA. Recuperado de http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/wpcontent/uploads/2016/03/CARMONA-SAUTUA_Roya-amarilla-2017_FAUBA.pdf.
5. CGIAR Research Program on WHEAT. 2017. Wheat in the World. Texcoco, Mexico: CIMMYT. Recuperado de <https://wheat.org/wheat-in-the-world/>.
6. Chang, Q., Liu, J., Lin, X., *et al.* 2017. A unique invertase is important for sugar absorption of an obligate biotrophic pathogen during infection. *New Phytol*, 215(4):1548-1561.
7. Coram, T., Wang, M., Chen, X. 2008a. Transcriptome analysis of the wheat-Puccinia striiformis f. sp. tritici interaction. *Mol Plant Pathol*, 9(2):157-169.
8. Coram, T., Settles, M., Chen, X. 2008b. Transcriptome analysis of high-temperature adult-plant resistance conditioned by Yr39 during the wheat-Puccinia striiformis f. sp. tritici interaction. *Mol Plant Pathol*, 9(4):479-493.
9. Chen, X., Coram, T., Huang, X., *et al.* 2013. Understanding Molecular mechanisms of durable and non-durable resistance to stripe rust in wheat using transcriptomics approach. *Curr Genomics*, 14(2):111-126.
10. FAO 2020. *Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales*. Recuperado de <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/>.
11. Félix, J.L., Fuentes, G., Rosas, I., *et al.* 2021. Evaluación de líneas avanzadas de trigo pan para los componentes del rendimiento durante la temporada 2019-2020. *South Florida Journal of Development*, 2(3): 4652-4662
12. Flor, H. H. 1956. The complementary gene systems in flax and flax rust. *Advances in Genetics*, 8:29-54.
13. Garnica, D., Upadhyaya, N., Dodds, P., Rathjen, J. 2013. Strategies for wheat stripe rust pathogenicity identified by transcriptome sequencing. *Plos One*, 8(6):e67150.doi: 10.1371/journal.pone.0067150.

14. Hao, Y., Wang, T., Wang, K., *et al.* 2016. Transcriptome analysis provides insights into the mechanisms underlying wheat plant resistance to stripe rust at the adult plant stage. *PLoS One*, 11.doi: 10.1371/journal.pone.0150717.
15. Jiang, J., Zhao, J., Duan, W., *et al.* 2019. TaAMT2;3a, a wheat AMT2-type ammonium transporter, facilitates the infection of stripe rust fungus on wheat. *BMC Plant Biology*, 19(239).doi: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1841-8>.
16. Kang, Z., Wang, Y., Huang, L., *et al.* 2003. Histology and ultrastructure of incompatible combination between *Puccinia striiformis* and wheat cultivars with resistance of low reaction type. *Sci Agric Sin*, 36(9): 1026–31.
17. Kang, Z., Tang, C., Zhao, J. 2017. Wheat-*Puccinia striiformis* Interactions. En Chen, X., Kang, Z. (Ed.), *Stripe Rust* (pp.197-198). Washington, USA: Springer Science+Business Media B.V.
18. Lowe, I., Cantu, D., Dubcovsky, J. 2011. Durable resistance to the wheat rusts: integrating systems biology and traditional phenotype-based research methods to guide the deployment of resistance genes. *Euphytica*, 179:69-79.doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-010>.
19. Moldenhauer, B., Moerschbacher, A., Van Der Westhuizen, A. 2006. Histological investigation of stripe rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) development in resistant and susceptible wheat cultivars. *Plant Pathology*, 55(4): 469-474.
20. Parlevliet, J.E. 1985. Resistance of the nonrace-specific type. En Roelfs AP, Bushnell WR (Ed.), *The Cereal Rusts: Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control* (pp.501–525). New York, USA: Academic Press.
21. Priyamvada, A., Saharan, M.S., Tiwari, R. 2011. Durable resistance in wheat. *Journal of Genetics and Molecular Biology*, 3(8):108–114.
22. McIntosh, R., Yamazaki, Y., Dubcovsky, J., *et al.* 2012. Catalogue of gene symbols for wheat. Recuperado de <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>.
23. Singer, S.D., Foroud, N.A., y Laurie, J.D. 2019. Molecular Improvement of Grain: Target Traits for a Changing World. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability* [Version electrónica]., Elsevier Inc, <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/cereal-crop>.
24. Sharma-Poudyal, D., Chen, X.M., Wang, A., *et al.* 2013. Virulence characterization of international collections of the wheat stripe rust pathogen, *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. *The American Phytopathological Society*, 97(3):379-386.
25. Sharma-Poudyal, D., Chen, X., Rupp, R. 2014. Potencial oversummering and overwintering regions for the wheat stripe rust pathogen in the contiguous United States. *Int J Biometeorol*, 58 (5):987-97.
26. Solh M., K. Nazari, W. Tadesse y C. R. Wellings. (1-4 September 2012). The growing threat of stripe rust worldwide. En: *Proceedings of the GBR1 2012 Technical Workshop. Borlaug Global Rust Initiative. Workshop llevado a cabo en Beijing, China.*
27. Voegelé, R. T., Mendgen, K. 2003. Rust haustoria: nutrient uptake and beyond. *New Phytologist*, 159:93-100. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00761.x.

28. Wang, C., Huang, L., Buchenauer, H., *et al.* 2007. Histochemical studies on the accumulation of reactive oxygen species (O₂⁻ and H₂O₂) in the incompatible and compatible interaction of wheat-Puccinia striiformis f. sp. tritici. *Physiol Mol Plant Pathol*, 71(4-6):230–9.
29. Wang, X., Tang, Ch., Zhang, G. *et al.* 2009. cDNA-AFLP analysis reveals differential gene expression in compatible interaction of wheat challenged with Puccinia striiformis f. sp. tritici. *BMC Genomics*, 10(289).doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-9>.
30. Wang, X., Liu, W., Chen, X., *et al.* 2010. Differential gene expression in incompatible interaction between wheat and stripe rust fungus revealed by cDNA-AFLP and comparison to compatible interaction. *BMC Plant Biol*, 10(1):9.
31. Xu, Q., Tang, Ch., Wang, X., *et al.* 2019. An effector protein of the wheat stripe rust fungus targets chloroplasts and suppresses chloroplast function. *Nature Communications*, 10(5571).doi:<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13487-6>.
32. Zhang, H., Han, Q., Wang, C., *et al.* 2008. Histology and ultrastructure of resistant mechanism of a new wheat material Yilipu to Puccinia striiformis. *Acta Phys Sin*, 38(2): 153–64.
33. Zhang, H., Wang, C., Chen, Y., *et al.* 2012. Histological and cytological characterization of adult plant resistance to wheat stripe rust. *Plant Cell Rep*, 31(12):2121–37.