

GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. & Henning) EN TRES GENOTIPOS DE AVENA (*Avena sativa* L.)

GENETICS OF RESISTANCE TO STEM RUST (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) IN THREE GENOTYPES OF OAT (*Avena sativa* L.)

L. Antonio Mariscal-Amaro^{1*}, Julio Huerta-Espino², H. Eduardo Villaseñor-Mir², S. Gerardo Leyva-Mir³,
J. Sergio Sandoval-Islas¹, Ignacio Benítez-Riquelme¹

¹Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230, Montecillo, Estado de México. (lmariscal@colpos.mx). ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apartado Postal 10. 56230, Chapingo, Estado de México. ³Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México.

RESUMEN

Se determinó la genética de la resistencia en tres genotipos de avena resistentes (Karma, Avemex y Calandria) a roya del tallo, mediante el análisis de sus progenies derivadas de las cruces con las variedades susceptibles Chihuahua y Ópalo. La segregación en las generaciones F₃, de la progenie de Karma, se ajustó a dos genes complementarios dominantes (1:8:7, para resistentes, segregantes y susceptibles). Para Avemex, la relación fenotípica para las mismas generaciones fue 1:2:1 indicando la presencia de un gen dominante. La progenie para Calandria segregó en la proporción fenotípica 3:1 de resistentes y susceptibles lo que indica que en este progenitor un gen dominante le confiere la resistencia.

Palabras clave: *Avena sativa* L., *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *avenae* Erikss. y Henn., genes de resistencia.

INTRODUCCIÓN

La avena (*Avena sativa* L.) es el sexto cereal más importante del mundo en producción de grano después del trigo (*Triticum aestivum* L.), maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.) y el sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Moench (Leyva *et al.*, 2004), con una producción anual de 26 millones t de avena de grano (Gold *et al.*, 2005). En México, en el 2006, se sembraron 799 056.46 ha para avena forrajera obteniéndose una producción de 11 074 254.79 t y un rendimiento promedio de 14.17 t ha⁻¹; para grano se sembraron 78 903.75 ha, la producción fue 152 496.16 t y el

ABSTRACT

The genetics of resistance to stem rust was determined in three resistant oat genotypes (Karma, Avemex and Calandria) by analysis of progenies derived from their crosses with the susceptible varieties Chihuahua and Opalo. Segregation in the F₃ generations of Karma progeny was adjusted to two dominant complementary genes (1:8:7, for resistant, segregating and susceptible). For Avemex, the phenotypic ratio for the same generations was 1:2:1 indicating the presence of a dominant gene. The Calandria progeny segregated in the phenotypic proportion of 3:1 of resistant and susceptible, which indicates that in this progenitor one dominant gene confers resistance.

Key words: *Avena sativa* L., *Puccinia graminis* Pers. F. sp. *avenae* Erikss. and Henn., resistance genes.

INTRODUCTION

Oats (*Avena sativa* L.) is the sixth most widely produced cereal in the world after wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.), rice (*Oryza sativa* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench (Leyva *et al.*, 2004), with an annual production of 20 million t oat grain (Gold *et al.*, 2005). In México, in 2006, 799 056.46 ha were cultivated under oats for forage, producing 11 074 254.79 t with an average yield of 14.17 t ha⁻¹; 78 903.75 ha of oats for grain were planted, obtaining 152 496.16 t and an average yield of 2 t ha⁻¹. In the high valleys of México, 10 685 ha were planted for grain from which an average yield of 1.95 t ha⁻¹ was harvested, while 88 960.80 ha produced an average of 14.63 t ha⁻¹ of forage (SIAP, 2006).

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Agosto, 2008. Aprobado: Junio, 2009.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 43: 869-879. 2009.

rendimiento promedio 2 t ha^{-1} (SIAP, 2006). En el 2006, en los Valles Altos de México se sembraron 10 685 ha de avena para grano, con un rendimiento promedio de 1.95 t ha^{-1} , mientras que para forraje se sembraron 88 960.80 ha con un rendimiento promedio de 14.63 t ha^{-1} (SIAP, 2006).

Las royas son las enfermedades más destructivas en avena y la pueden afectar desde la etapa de plántula hasta el llenado de grano (Leyva *et al.*, 2004); en los Valles Altos de la Mesa Central Mexicana son un factor limitante para el cultivo de la avena (Villaseñor *et al.*, 2001). La roya del tallo puede reducir el rendimiento hasta en 75 % y peso de grano hasta en 60 % (Epstein *et al.*, 1988), mientras que la pérdida en la producción de materia seca en variedades susceptibles fluctúa de 32 a 42 % (Villaseñor *et al.*, 2001). Leyva *et al.* (2004) reportaron que en las variedades Chihuahua y Juchitepec la enfermedad causó pérdidas de 755.2 y 713.9 kg ha^{-1} , esto es 36 y 35 % de la producción total.

En México no hay estudios en avena sobre la resistencia genética a esta enfermedad. En Canadá se estudió la resistencia de líneas y cultivares usados en programas de mejoramiento en México (Salmerón *et al.*, 1996). La falta de estudios quizá se deba a la dificultad para hacer las cruces en este cultivo y a la poca importancia que hasta hace pocos años se le dio tanto al cultivo de la avena como al patógeno causante de esta enfermedad. Adhikari *et al.* (1999) encontraron segregaciones en las poblaciones de plántulas que se esperan para dos genes recesivos complementarios, pero con una resistencia intermedia conferida por uno de los genes cuando es heterocigoto. Koo *et al.* (1955) observaron frecuencias en familias de avena de 1: 2: 1, indicando que la resistencia a la raza probada fue debida a un solo gen de resistencia. Según Martens *et al.* (1980 y 1981) hay una proporción 3:1 para un solo gen dominante confiriendo la resistencia y proporciones 15:1 (susceptibles y resistentes) que se esperan para dos genes recesivos complementarios confiriendo resistencia en planta adulta, frecuencias también observadas por Harder (1999).

No se conoce la genética de la resistencia en las variedades de avena Karma y Cevamex consideradas superiores en México por sus características agronómicas y resistencia a la roya del tallo. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la herencia de la resistencia en plántula y planta adulta, a la severidad del año causado por la roya del tallo en

Rusts are the most destructive diseases of oats, which are affected from the seedling to grain fill stages (Leyva *et al.*, 2004). In the high valleys of the Mexican central plateau, they are a limiting factor for oat cultivation (Villaseñor *et al.*, 2001). Stem rust can reduce yield up to 75 % and grain weight up to 60 % (Epstein *et al.*, 1988), while losses in dry matter production in susceptible varieties fluctuate between 32 and 42 % (Villaseñor *et al.*, 2001). Leyva *et al.* (2004) reported that in the Chihuahua and Juchitepec varieties the disease caused losses of 755.2 and 713.9 kg ha^{-1} , that is, 36 and 35 % of the total production.

In México there are no studies on genetic resistance in oats to this disease. In Canada resistance was studied in lines and cultivars used in breeding programs in México (Salmerón *et al.*, 1996). The lack of studies is perhaps due to the difficulty encountered in crossing and, until recently, to the little interest in the crop or the pathogen causing the disease. Adhikari *et al.* (1999) found segregations in seedling populations expected from two complementary recessive genes, one of which, when heterozygous, confers intermediate resistance. Koo *et al.* (1955) observed frequencies of 1: 2: 1 in oat families, indicating that resistance to the tested race was due to a single gene for resistance. According to Martens *et al.* (1980 and 1981), there is a 3: 1 proportion for a single dominant gene conferring resistance, and 15: 1 (resistant:susceptible) is expected for two complementary recessive genes conferring resistance in adult plants; these frequencies were also observed by Harder (1999).

The genetics of resistance is not known in the oat varieties Karma and Cevamex, which in México are considered superior for their agronomic characteristics and resistance to stem rust. Therefore, the objective of this study was to determine the inheritance of resistance in seedling and adult plant, to the severity of the damage caused by stem rust in F_3 progenies of crosses between the resistant oat varieties Karma, Avemex and Calandria and the susceptible varieties Chihuahua and Opalo.

MATERIALS AND METHODS

Four crosses were made between the resistant varieties Karma, Avemex and Caladria and the susceptible varieties Chihuahua and Opalo: Chihuahua $\times$ Karma, Chihuahua $\times$ Avemex, Opalo

las progenies F_3 de las cruzas entre las variedades de avena resistentes Karma, Avemex y Calandria, con las variedades susceptibles Chihuahua y Ópalo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron cuatro cruzas entre las variedades resistentes Karma, Avemex y Calandria y las susceptibles Chihuahua y Ópalo, originando las cruzas, Chihuahua $\times$ Karma, Chihuahua $\times$ Avemex, Ópalo $\times$ Avemex y Ópalo $\times$ Calandria. La cruza e historia de selección de dichas variedades (Cuadro 1) y sus características se mencionan a continuación.

Chihuahua. Esta variedad se derivó de una cruza entre AB-177 y Putman 61 por hibridación y selección genealógica, en el INIFAP (Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria) y fue registrada en 1967. Se considera susceptible a la roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. & Henning), de la hoja (*Puccinia coronata* Cda. var. *avenae* Fraser and Led) y a la cenicilla (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *avenae* Em. Marchal) (Jiménez, 1992). En México se siembran aproximadamente 250 000 ha, su producción para grano es 1.4 t ha^{-1} y para forraje 130 pacas de 30 kg. Además es importante en las siembras comerciales; pero su susceptibilidad a roya del tallo causa muchas pérdidas al productor (datos no publicados).

Ópalo. Se obtuvo por introducción y selección genealógica y fue originada en la Universidad de Minnesota (EE.UU.) e INIFAP y se registró en 1964. Ahora se le considera susceptible a la roya del tallo y de la hoja, a la hoja roja (*Septoria tritici* Roberge in Desmaz.) y a la cenicilla (Jiménez, 1992). Se siembran aproximadamente 5 000 ha en las partes altas y lluviosas de Parres, D. F. y Río Frío, Estado de México. Su producción para grano es 2.5 t ha^{-1} , y su uso principal es para forraje (100 pacas de 30 kg). Es importante sólo para partes altas, frías y lluviosas en siembras tempranas y para producción de forraje verde (datos no publicados).

$\times$ Avemex, and Opalo $\times$ Calandria. The crosses and selection history of these varieties (Table 1) and their characteristics are given in the following below.

Chihuahua. This variety was derived through hybridization and genealogical selection of a cross between AB-177 and Putman 61 performed in INIFAP (National Institute of Research in Forestry, Agriculture and Animal Science) and registered in 1967. It is considered susceptible to stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *avenae* Erikss. & Henning), to leaf rust (*Puccinia coronata* Cda. Var. *avenae* Fraser and Led) and to powdery mildew (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *avenae* Em Marchal) (Jiménez, 1992). In México, approximately 250 000 ha are planted, its grain yield is 1.4 t ha^{-1} and its forage yield per ha is 130 bales weighing 30 kg. It is also important in commercial plantations, but its susceptibility to stem rust causes heavy losses to the farmers that plant it (data not published).

Opalo. Registered in 1964, was obtained through introduction and genealogical selection by the University of Minnesota (USA) and INIFAP. It is now considered susceptible to stem and leaf rust, to leaf blotch (*Septoria tritici* Roberge in Desmaz.) and to powdery mildew (Jiménez, 1992). Approximately 5 000 ha are planted in areas of high altitude and high rainfall of Parres in the Federal District and Río Frío in the state of México. Its grain yield is 2.5 t ha^{-1} , but it is used mainly as forage (100 bales 30 kg each). It is important only in high, cold, rainy areas where it is planted early for fresh green forage production (data not published),

Karma. To create this variety, crossed the lines 8232-CI-9291-CROSS and COLLI were crossed at the INIFAP Valley of México Experimental Station (CEVAMEX-INIFAP) during the 1989 spring-summer growing season. It is considered moderately resistant to stem rust (20MR) and to leaf rust (20MR) and resistant to other leaf diseases (Villaseñor *et al.*, 1998a). In México approximately 100 000 ha are planted; its grain production (main use) is 2.7 t ha^{-1} , and its forage yield is 230

Cuadro 1. Cruza e historia de selección de los progenitores de las variedades de avena utilizadas en el estudio.

Table 1. Crosses and selection history of the progenitors of the oat varieties used in the study.

Progenitor	Cruza e historia de selección
Chihuahua	AB-177 $\times$ PUTMAN 61 I-15-11C-1R-2C
Ópalo	CI-7399 (Bond $\times$ Rainbow 2 $\times$ Hajira $\times$ Joannette 3) $\times$ Landhafer 4 $\times$ Andrew3
Karma	8232-CI-9291-CROSS/COLLI II-3947-11C-7C-8C-1C-0C
Avemex	PMG-84/84-54 MGA1004-0C-0C-0C-0C-2Z-0C
Calandria	[(Tpe $\times$ MHF - 7114/ENA - In - N/Jim - Inea/Jim - Inea/Jim - ENA - Oji)] Yuca - Días "S" I-3841-51C-2C-2C-5C-1C-0C

Karma. Para generar esta variedad se usaron las líneas 8232-CI-9291-CROSS y COLLI, en el Campo Experimental Valle de México del INIFAP (CEVAMEX – INIFAP) durante el ciclo primavera - verano 1989. Es considerada moderadamente resistente a la roya del tallo (20MR) y de la hoja (20MR) y resistente a enfermedades foliares (Villaseñor *et al.*, 1998a). En México se siembran aproximadamente 100 000 ha, su producción para grano (principal uso) es 2.7 ton ha⁻¹ y para forraje 230 pacas de 30 kg. Tiene una función importante en las siembras comerciales y por su mayor relación grano-paja su área de producción aumentará en los próximos años (datos no publicados).

Avemex. Para formar esta variedad se usaron 54 cruza simples manejadas de F₂ a F₅ con el método masal gravimétrico, en el CEVAMEX - INIFAP durante el ciclo primavera - verano 1989. Es considerada moderadamente resistente a la roya del tallo (15MR) y de la hoja (20MR) y resistente a enfermedades foliares (Villaseñor *et al.*, 1998b). En México se siembran aproximadamente 150 000 ha, su producción para grano es 2.2 t ha⁻¹ y para forraje 220 pacas de 30 kg. Es importante en las siembras comerciales y por su tipo de planta su área de producción aumentará en los próximos años (datos no publicados).

Calandria. Fue creada en el CEVAMEX - INIFAP en 1982. Por su efectividad en ensayos de rendimiento y por su resistencia presentada quedó como progenitor pero nunca fue liberada como variedad. Es moderadamente resistente a roya del tallo y es resistente a roya de la hoja, (*P. coronata*), (datos no publicados).

Obtención de las generaciones F₁, segregantes F₂ y familias de las generaciones F₃

Los progenitores se sembraron en la segunda semana de enero del 2006 en el vivero de cruzamientos del CEVAMEX – INIFAP, en abril se efectuaron las cruza y a finales de mayo se obtuvo la semilla F₁. De las semillas F₁ de dos espigas seleccionadas de cada cruza, se sembraron en campo 50 semillas en la primera semana de julio del 2006 en el CEVAMEX. De cada cruza se cosecharon todas las plantas para obtener 150 semillas, las cuales dieron origen a la generación F₂; las semillas restantes de todas las cruza se guardaron de reserva.

Las semillas F₂ se sembraron en el Campo Experimental Bajío - INIFAP a finales de noviembre del 2006 y se cosecharon 150 plantas al azar que originaron a 150 familias F₃ por cruza (la semilla cosechada de cada planta originó a una familia). Las semillas de las familias F₃ de las cruza Ópalo × Avemex y Ópalo × Calandria fue tomada de la reserva de planes de cruza anteriores hechos en el programa de avena del CEVAMEX - INIFAP.

Evaluación en planta adulta

Se efectuó en el ciclo P-V/2007 en el CEVAMEX. El diseño experimental fue bloques completamente al azar con dos repeti-

bales 30 kg each. It is important in commercial production, and because of its higher proportion of grain-straw, its production area will increase in the near future (data not published).

Avemex. To form this variety 54 simple crosses were used, managed from F₂ to F₅ at CEVAMEX-INIFAP during the 1989 spring-summer growing season with the gravimetric mass method. It is considered moderately resistant to stem rust (15MR) and leaf rust (20MR), and resistant to other leaf diseases (Villaseñor *et al.*, 1998b). In México approximately 150 000 ha are planted; its grain yield is 2.2 t ha⁻¹, and its forage yield is 220 bales 30 kg each. It is important in commercial production, and because of its plant type, production area will increase in the next few years (data not published).

Calandria. It was created at CEVAMEX-INIFAP in 1982. Because of its effectiveness in tests for yield and the resistance it exhibited, it was conserved as parent material and never released as a variety. It is moderately resistant to stem rust and resistant to leaf rust (*P. coronata*) (data not published).

Method of obtaining F₁ generations, F₂ segregants and F₃ generation families

Progenitors were planted in the second week of January 2006 in the breeding nursery of CEVAMEX-INIFAP. In April, the crosses were carried out, and at the end of May F₁ seed was obtained. From F₁ seeds of two spikes selected from each cross, 50 seeds were planted in the field during the first week of July 2006 at CEVAMEX. All of the plants of each cross were harvested to obtain 150 seeds which were used to obtain the F₂ generation. The remaining seeds of all of the crosses were kept in reserve.

The F₂ seeds were planted at the INIFAP Bajío Experimental Station at the end of November 2006; 150 plants were harvested at random, thus producing 150 F₃ families per cross (the seed harvested from each plant formed a family). Seeds of the F₃ families of the Opalo × Avemex and Opalo × Calandria crosses was taken from the reserves of previous breeding plans carried out by the oats program of CEVAMEX-INIFAP.

Assessment of adult plant

Adult plants were assessed during the 2007 spring-summer cycle in CEVAMEX. The experimental design was completely randomized blocks with two replications, although for data analysis, values of only one replication are reported since these were not significantly different from those of the other replication

Pathogen isolate

The pathogen isolate used in the study was collected at Tepatitlán, Jalisco, in the summer of 1999, from the variety

ciones, pero para el análisis de datos sólo se reporta el valor de una repetición ya que no hubo diferencias significativas con el valor de la otra repetición.

Aislamiento del patógeno

El aislamiento del patógeno utilizado en el estudio se recolectó en Tepatitlán, Jalisco, en el verano de 1999, en la variedad Rarámuri y designado como PgaMex99.13. Se observó en plántula y planta adulta que este aislamiento es virulento en las variedades Chihuahua y Ópalo, pero avirulento en las variedades Karma, Avemex y Calandria. Este aislamiento se incrementó en la variedad Ópalo sembrada en estado de plántula en invernadero. Las urediniosporas se recolectaron con un recolector mecánico, se enfrascaron y mantuvieron a -55°C en un congelador. Antes de utilizarse, las urediniosporas congeladas recibieron un shock térmico con agua a 60°C por 7 min y luego se rehidrataron por 4 h en una cámara húmeda. El aislamiento PgaMex99.13 es una variante de la raza NA32 (Fetch Jr., y Jin, 2007) pero con virulencia a *Pg15*. Su fórmula de avirulencia/virulencia es *Pga1,8,15,a/2,3,4,9,13,16*. Esta fórmula se determinó cuando se probó en invernadero este aislamiento en un grupo de plantas diferenciales provistas por el CEVAMEX (Mariscal, 2008⁴).

Manejo experimental e inoculaciones

En el CEVAMEX se sembraron 150 y 84 familias F_3 de las cruza Chihuahua $\times$ Karma y Chihuahua $\times$ Avemex y 100 familias F_3 para Ópalo $\times$ Avemex y Ópalo $\times$ Calandria, en surcos dobles (1 m largo; 30 cm separación). En los bordos y entre las calles del experimento se sembraron puños de semillas de la variedad susceptible Chihuahua, la cual actuó como fuente de inóculo y dispersante.

Se indujo una epifitias artificial 22 d después de la siembra al inocular urediniosporas frescas (tratadas mediante el shock térmico y rehidratación) del aislamiento ya mencionado (concentración 1×10^6 esporas mL^{-1} aceite mineral) en las plantas de los bordos y de las calles. Todas las familias fueron inoculadas 15 d después, se inocularon de nuevo 12 d después y la última inoculación, para asegurar el establecimiento de la enfermedad, se hizo 7 d después.

Toma de datos

En campo se hizo 29 d después de la última inoculación, cuando el progenitor susceptible presentó 70 a 80 % de infección en el tallo. Las familias de cada cruza se clasificaron de acuerdo

Rarámuri and designated PgaMex99.13. It was observed in seedlings and adult plants that this isolate is virulent in the varieties Chihuahua and Opalo, but avirulent in the varieties Karma, Avemex and Calandria. The isolate was increased in the variety Opalo planted as a seedling in a greenhouse. Urediniospores were collected in a mechanical collector, placed in a jar and kept at -55°C in a freezer. Before using, the frozen urediniospores were subjected to a heat shock with water at 60°C for 7 min, then rehydrated for 4 h in a moist chamber. The isolate PgaMex99.13 is a variant of the NA32 race (Fetch Jr., and Jin, 2007), but with *Pg15* virulence. Its avirulence/virulence formula is *Pga1,8,15a/2,3,4,9,13,16*, which was determined when the isolate was tested in a greenhouse with a group of differential plants provided by CEVAMEX (Mariscal, 2008⁴).

Experimental management and inoculations

In CEVAMEX, 150 and 84 F_3 families from the crosses Chihuahua $\times$ Karma and Chihuahua $\times$ Avemex and 100 F_3 families of the crosses Opalo $\times$ Avemex and Opalo $\times$ Calandria were planted in double rows (1 m long; 30 cm apart). On the edges and between paths of the experimental set up fistfuls of seed of the susceptible variety Chihuahua were sown; this acted as the source of inoculum and dispersant.

The disease was induced artificially 22 d after planting by inoculating fresh urediniospores (treated with heat shock and rehydrated) of the isolate mentioned above (concentration 1×10^6 spores mL^{-1} mineral oil) into plants on the edges and between paths. All of the families were inoculated 15 d later; plants were again inoculated 12 d later, and the last inoculation to assure establishment of the disease was 7 d later.

Data collection

Data were collected in the field, 29 d after the last inoculation, when the susceptible progenitor exhibited 70 to 80 % infection on the stem. The families of each cross were classified according to an arbitrary scale: 1) resistant families: homozygous families with stem infection similar to that of the resistant progenitor (0-5 % infection); 2) segregant families: heterozygous families which included: a) plants with stem infection similar to that of the resistant progenitor (0-5 % infection), b) plants with intermediate infections, and c) plants having as much stem infection as the susceptible progenitor (up to 100 % infection); 3) susceptible families: homozygous families with stem infection similar to that of the susceptible progenitor (up to 100 % infection).

⁴ Mariscal, A. L. A., Información personal, lmariscal@colpos.mx.

a una escala arbitraria: 1) familias resistentes: familias homocigóticas con una infección en el tallo similar a la del progenitor resistente (0-5 % de infección); 2) familias segregantes: familias heterocigóticas que incluyen: a) plantas con una infección en tallo semejante a la del progenitor resistente (0-5 % de infección), b) plantas con infecciones intermedias, y c) plantas con tanta infección en tallo como la del progenitor susceptible (hasta 100 % infección); 3) familias susceptibles: familias homocigóticas con una infección en tallo similar a la del progenitor susceptible (hasta 100 % infección).

Evaluación en plántula

La evaluación de las cruas en estado de plántula se hizo en el ciclo Otoño-invierno del 2007 en los invernaderos del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en El Batán, Texcoco, Edo. de México.

Manejo experimental e inoculaciones

La semilla de las cuatro cruas usadas en la investigación fue tomada de la reserva de la F_3 .

En charolas de plástico perforadas (20×30×5 cm) se agregó una mezcla de tierra preparada y peat moss (60 y 40 %) y se marcaron 10 surcos donde se pusieron aproximadamente 20 semillas de cada familia. Para las cruas Chihuahua × Karma, Chihuahua × Avemex, Ópalo × Avemex y Ópalo × Calandria se sembraron 100, 84, 100 y 100 familias. Se agregó tierra para tapar las semillas y se dio un riego ligero. En una charola aparte se sembraron los progenitores con el mismo esquema. Las charolas se mantuvieron en un invernadero, entre 20 y 25 °C, por aproximadamente 10 d.

Cuando la primera hoja estuvo completamente desplegada, 10 dds, se inocularon las familias con una suspensión de urediniosporas en aceite mineral Soltrol®, del aislamiento Pga-Mex99.13 a una concentración de 1×10^6 mL⁻¹. Las charolas con las plántulas secas se pusieron en cámara de rocío por 9 h de rocío y 3 h de luz; luego se mantuvieron en invernadero a 20 °C durante la noche y 23 °C durante el día.

Toma de datos

Cuando los progenitores susceptibles tuvieron infección de 4 en la escala del 0-4 (Figura 1), 15 d después de la inoculación, empezó la evaluación de las familias clasificándolas en resistentes, segregantes y susceptibles. Se usó la escala de Roelfs *et al.* (1992), de roya del tallo en trigo (0-4). Los tipos de infección 0, 1, 2 y X se clasificaron como resistentes; 3 y 4 como susceptibles. Las familias con plántulas resistentes y susceptibles fueron las familias segregantes.

Assessment in seedlings

Assessment of the crosses in the seedling stage was done in the 2007 fall-winter cycle at the greenhouses of the Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), El Batán, Texcoco, state of México.

Experimental management and inoculations

Seed of the four crosses used in the study was taken from the F_3 reserve.

Perforated plastic trays (20×30×5 cm) were filled with a mixture of prepared earth and peat moss (60 and 40 %); 10 rows were marked, and approximately 20 seeds of one family were sown in each row. For the crosses Chihuahua × Karma, Chihuahua × Avemex, Opalo × Avemex and Opalo × Calandria, 100, 84, 100 and 100 families were sown. Earth was added to cover the seeds and watered lightly. In a separate tray the progenitors were sown under the same scheme. The trays were kept in a greenhouse, at 20 to 25 °C for approximately 10 d.

When the first leaf opened completely 10 das, the families were inoculated with a suspension of PgaMex99.13 isolate urediniospores in Soltrol® mineral oil at a concentration of 1×10^6 mL⁻¹. The trays with dried seedlings were placed in a dew chamber for 9 h of dew and 3 h of light, after which they were kept in a greenhouse at 20 °C night temperature and 23 °C during the day.

Data collection

When the susceptible progenitors had an infection of 4 on the 0-4 scale (Figure 1) 15 d after inoculation, assessment of the families began, classifying them into resistant, segregant and susceptible groups. The Roelfs *et al.* (1992) scale for stem rust in wheat (0-4) was used. Infections types 0, 1, 2 and X were classified as resistant; those with infections of 3 and 4 were susceptible. The families with resistant and susceptible seedlings were segregant families.

Data analyses and statistical tests

Expected frequencies of the F_3 families in adult plants and seedlings are based on the assumption that resistance is conditioned by one or two major genes, and the frequencies of homozygous susceptible families are used to determine the number of resistance genes, based on the proportion of 1: 2: 1 (resistant:segregant:susceptible) for a dominant gene and 1: 8: 7 for two complementary genes (Gardner *et al.*, 1998). χ^2 tests were done with observed and expected frequencies. The value of the tables and significance were determined according to the

Análisis de datos y pruebas estadísticas

Las frecuencias esperadas de las familias F_3 en planta adulta y plántula es el supuesto de que la resistencia es condicionada por uno o dos genes mayores y se usan las frecuencias de las familias homocigóticas susceptibles para determinar el número de genes de resistencia, basándose en la proporción 1:2:1 (Resistentes: Segregantes: Susceptibles) para un gen dominante y 1:8:7 para dos genes complementarios (Gardner *et al.*, 1998). Se hicieron pruebas χ^2 con las frecuencias observadas y esperadas. El valor de tablas y la significancia fue determinado de acuerdo a la χ^2 que obtuvieron las proporciones. Para el valor de tablas se tomaron 2 y 1 grado de libertad (n-1), donde n es el número de grupos de clasificación de familias F_3 (Infante y Zárate de Lara, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se muestra la severidad del aislamiento PgaMEX99.13 en planta adulta de cada progenitor. La reacción en plántula se observa en la Figura 1. En campo, Chihuahua y Ópalo alcanzaron hasta 100 % de severidad en el tallo y los resistentes un porcentaje menor a 5 %. Las reacciones de resistencia y susceptibilidad han sido descritas por Jiménez (1992) y Villaseñor *et al.* (1998a y b).

Las frecuencias observadas (Cuadro 3) en las familias en plántula de la cruza Chihuahua $\times$ Karma de 5: 51: 44, resistentes: segregantes: susceptibles, se ajustaron a la relación fenotípica 1:8:7 ($P=0.90-0.50$) indicando que Karma posee dos genes complementarios de resistencia. En planta adulta, las frecuencias observadas 10:70:70 también se ajustaron a la misma relación fenotípica ($P=0.90-0.50$) corroborando que Karma posee dos genes complementarios de resistencia.

Harder (1999) observó la presencia de dos genes complementarios en plántulas obteniendo frecuencias 15:1, resistentes y susceptibles, en progenies F_2 de cruza de *A. sativa* con el gen *Pg10* y otros progenitores con otros genes *Pg*. La evidencia de dos genes complementarios en el progenitor resistente de la cruza R. L. 524.1 $\times$ Eagle fue reportada por Welsh *et al.* (1961) en 110 líneas F_3 inoculadas con 9 razas de roya del tallo y se ajustaron a la frecuencia 7: 8: 1, resistentes: segregantes: susceptibles ($P=0.20-0.30$), indicando la presencia de dos genes mayores aunque con acción génica recesiva. Al evaluar familias F_3 de la cruza Culgoa $\times$ Swan, Adhikart *et al.* (1999) observaron que éstas se distribuyeron en una proporción de 1: 8: 7, resistentes: segregantes: susceptibles.

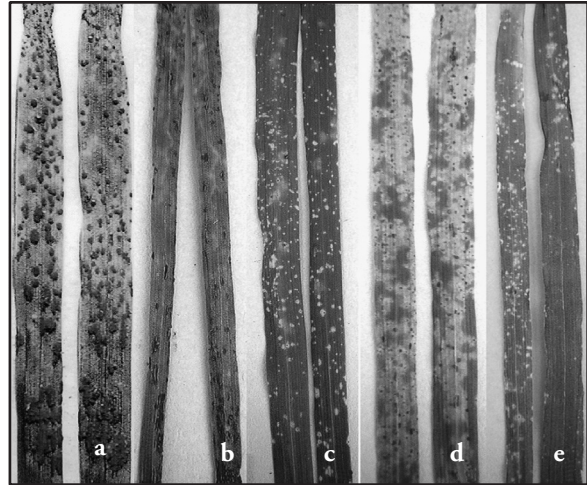


Figura 1. Tipos de reacción de los progenitores en estado de plántula de acuerdo con la escala de clasificación de Roelfs *et al.* (1992). a) Chihuahua con un tipo de reacción 4. b) Ópalo con un 3. c) Karma con reacción “3” (Fleck). d) Avemex con un tipo de reacción 1. e) Calandria con “3” (Fleck).

Figure 1. Reaction types of progenitors in seedling stage, according to the classification scale of Roelfs *et al.* (1992). a) Chihuahua with reaction type 4. b) Opalo with type 3. c) Karma with type “3” (Fleck). d) Avemex with type 1. e) Calandria with type “3” (Fleck).

Cuadro 2. Reacción en el tallo en planta adulta de los cuatro progenitores de avena al momento en que el testigo susceptible alcanzó 100 % de severidad.

Table 2. Reaction in the stem of adult plants of the four progenitors of oats when the susceptible control reached 100 % severity.

Progenitor	Severidad
Chihuahua	100 %
Ópalo	90 %
Karma	1-5 %
Avemex	1-5 %
Calandria	1-5 %

χ^2 obtained by the proportions. For the value of tables, 2 and 1 degree of freedom (n-1) were used, where n is the number of groups into which F_3 families were classified (Infante and Zárate de Lara, 1990).

RESULTS AND DISCUSSION

Severity of the disease caused by the isolate PgaMex99.13 to adult plants of each progenitor is shown in Table 2. Seedling reaction can be observed in Figure 1. In the field, severity on the stem of

Cuadro 3. Distribución y frecuencias relativas de las familias F_3 en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Karma.**Table 3. Distribution and relative frequencies of F_3 families, in seedling and adult plant, of crosses with the resistant progenitor Karma.**

Cruza	Total fam.	ResO	ResE	SegO	SegE	SusO	SusE	Rel. Fen.	X ²	Prob. 2GL
Plántula										
Chihuahua × Karma	100	5	6.25	51	50	44	43.75	1:8:7	0.27	0.90-0.50
Planta adulta										
Chihuahua × Karma	150	10	9.38	70	75	70	65.63	1:8:7	0.66	0.90-0.50

ResO=resistentes observados; ResE=resistentes esperados; SegO=segregantes observados; SegE=segregantes esperados; SusO= susceptibles observados; SusE= susceptibles esperados; Rel. Fen.= relación fenotípica; GL=grados de libertad.

En el progenitor Avemex, las frecuencias observadas en plántula de la cruza Ópalo × Avemex, 27: 47: 26, resistentes: segregantes: susceptibles (Cuadro 4), se ajustaron a una proporción de 1:2:1 ($P=0.90-0.50$) para un gen dominante, por lo que Avemex posee un gen dominante de resistencia. En planta adulta en Chihuahua × Avemex y Ópalo × Avemex se obtuvieron frecuencias 19: 51: 14 y 14: 55: 31, resistentes: segregantes: susceptibles; ambas frecuencias se ajustaron a la relación 1:2:1 ($P=0.50-0.10$ y $P=0.05-0.01$), por lo que se confirma que el progenitor resistente posee un gen de resistencia.

La relación fenotípica 1: 2: 1 ha sido evaluada en estudios de genética de la resistencia a roya del tallo en avena. En 156 líneas F_3 de la cruza LMHJA (resistente) × Clinton (susceptible a la raza 7) las frecuencias fueron 1: 2: 1, resistentes: segregantes; susceptibles, es decir, la resistencia fue por un solo gen para esta raza (Koo *et al.*, 1955). Esta misma relación se observó en familias F_3 de la cruza Culgoa × Swan (Adhikari *et al.*, 1999), así como en 100 líneas F_3 de la cruza Jostrain × Eagle, inoculadas con cinco

Chihuahua and Opalo reached 100 %, while on resistant varieties it was less than 5 %. Resistance and susceptibility reactions have been described by Jiménez (1992) and Villaseñor *et al.* (1998 a and b).

The observed frequencies (Table 3) in the families of seedlings of the cross Chihuahua × Karma of 5: 51: 44, resistant: segregant: susceptible, were fit to the phenotypic ratio of 1: 8: 7 ($P=0.90-0.50$) indicating that Karma possesses two complementary genes for resistance. In the adult plant, the observed frequencies 10: 70: 70 were also fit to the same phenotypic ratio ($P=0.90-0.50$), corroborating that Karma possesses two complementary genes of resistance.

Harder (1999) observed the presence of two complementary genes in seedlings, obtaining frequencies of 15: 1, resistant: susceptible, in F_2 progenies of the *A. sativa* crosses with the *Pg10* gene and other progenitors with other *Pg* genes. The evidence of two complementary genes in the resistant parent of the cross R.L. 524.1 × Eagle was reported by Welsh *et al.* (1961) in 110 F_3 lines inoculated with 9 races of stem rust, fit to the frequency 7: 8:

Cuadro 4. Distribución y frecuencias relativas de las familias F_3 en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Avemex.**Table 4. Distribution and relative frequencies of F_3 families, in seedling and adult plant, of crosses with the resistant progenitor Avemex.**

Cruza	Total fam.	ResO	ResE	SegO	SegE	SusO	SusE	Rel. Fen.	X ²	Prob. 2GL
Plántula										
Ópalo × Avemex	100	27	25	47	50	26	25	1:2:1	0.38	0.90-0.50
Planta adulta										
Chihuahua × Avemex	84	19	21	51	42	14	21	1:2:1	4.45	0.50-0.10
Ópalo × Avemex	100	14	25	55	50	31	25	1:2:1	6.78	0.05-0.01

ResO=resistentes observados; ResE=resistentes esperados; SegO=segregantes observados; SegE=segregantes esperados; SusO=susceptibles observados; SusE=susceptibles esperados; Rel. Fen.=relación fenotípica; GL=grados de libertad.

razas de roya del tallo, donde la relación fue 1: 2: 1 para cada raza; es decir, un mismo gen confirió resistencia a todas ellas (Welsh *et al.*, 1961). Chong *et al.* (1994) evaluaron la resistencia dada por el gen *Pg13* en familias F_3 de la cruza OT328/ 'Dumont' contra la raza NA25, y la distribución de 34: 74: 29, resistentes, segregantes y susceptibles, se ajustó a la relación 1: 2: 1 ($P=0.50-0.30$) para un gen de resistencia.

En la cruza Ópalo × Calandria, para la evaluación de familias F_3 en plántula y planta adulta, a las familias resistentes se le sumaron las segregantes ya que fue imposible distinguir dichas familias por el tipo de infección (Cuadro 5). Las frecuencias observadas para plántula, 57+19=76: 24 (resistentes + segregantes: susceptibles), y planta adulta, 69: 31, se ajustaron a la relación fenotípica 3: 1 con una $P=0.90-0.50$ y $P=0.50-0.10$. Por tanto, Calandria posee un gen dominante para resistencia.

En algunos casos las familias segregantes se han incluido dentro de las resistentes para buscar un mejor ajuste a alguna relación fenotípica. Así, McKenzie y Martens (1968) con las líneas F_3 de las retrocruzas C. I. 3034 × Rodney 0² y C. I. 3034 × Rodney ABD², juntaron las dos clases y obtuvieron frecuencias que se ajustaron a la relación fenotípica 3:1. Ellos mencionan que probablemente algunas líneas se clasificaron equivocadamente por la considerable variación en la intensidad de la infección de roya dentro del invernadero, y que en áreas con una gran infección es difícil identificar un nivel moderado de resistencia. En el caso en el cual es difícil distinguir las familias heterocigóticas de las familias homocigóticas, la tendencia es clasificarlas como resistentes.

1, resistant: segregant: susceptible ($P=0.20-0.30$), indicating the presence of two major genes, but with recessive gene action. When assessing F_3 families of the cross Culgoa × Swan, Adhikart *et al.* (1999) observed that these are distributed in a proportion of 1: 8: 7, resistant: segregant: susceptible.

In the progenitor Avemex, the frequencies observed in seedlings of the cross Opalo × Avemex, 27: 47: 26, resistant: segregant: susceptible (Table 4), were adjusted to a proportion of 1: 2: 1 ($P=0.90-0.50$) for a dominant gene; thus Avemex possesses a dominant gene for resistance. In adult Chihuahua × Avemex and Opalo × Avemex plants frequencies of 19: 51: 14 and 14: 44: 31, resistant: segregant: susceptible, were obtained; both frequencies were adjusted to the ratio 1: 2: 1 ($P=0.50-0.10$ and $P=0.05-0.01$), confirming that the resistant progenitor possesses one gene for resistance.

The phenotypic ratio 1: 2: 1 has been assessed in studies on genetics of resistance to stem rust in oats. In 156 F_3 lines of the cross LMHJA (resistant) × Clinton (susceptible to race 7), the frequencies were 1: 2: 1, resistant: segregant: susceptible; that is, resistance to this race was conferred by a single gene (Koo *et al.*, 1955). The same relationship was observed in F_3 families of the cross Culgoa × Swan (Adhikari *et al.*, 1999), as well as in 100 F_3 lines of the cross Jostrain × Eagle inoculated with five races of stem rust, where the ratio was 1.2: 1 for each race; that is, resistance to all the races is conferred by the same single gene (Welsh *et al.*, 1961). Chong *et al.* (1994) evaluated resistance conferred by the *Pg13* gene in F_3 families of the cross OT328/ 'Dumont' against the NA25 race, and the distribution of 34: 74: 29, resistant: segregant: susceptible, was adjusted

Cuadro 5. Distribución y frecuencias relativas de las familias F_3 en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Calandria.

Table 5. Distribution and relative frequencies of F_3 families, in seedling and adult plant, of crosses with the resistant progenitor Calandria.

Cruza	Total fam.	ResO + SegO	ResE + SegE	SusO	SusE	Rel. Fen.	X ²	Prob. 1GL
Plántula								
Ópalo × Calandria	100	57 + 19 = 76	75	24	25	3:1	0.053	0.90-0.50
Planta adulta								
Ópalo × Calandria	100	52 + 17 = 69	75	31	25	3:1	1.92	0.50-0.10

ResO= Resistentes observados; ResE= Resistentes esperados; SegO= Segregantes observados; SegE= Segregantes esperados; SusO= Susceptibles observados; SusE= Susceptibles esperados; Rel. Fen.= Relación fenotípica; GL= Grados de libertad.

CONCLUSIONES

En los tres genotipos estudiados, la genética de la resistencia a la roya del tallo es de herencia simple y está condicionada por uno a dos genes. El tipo de acción génica en todas las cruas fue dominante. La resistencia en la variedad Karma fue determinada por dos genes complementarios y en la variedad Avemex y en el progenitor Calandria se debió a un gen dominante.

La resistencia en plántula fue eficaz hasta planta adulta ya que las frecuencias observadas se ajustaron a la misma relación fenotípica en ambas etapas. Además, la resistencia en este patosistema tiene características comunes a las de otros patosistemas royas – cereales, como en el caso trigo - roya de la hoja, donde la resistencia está dada en su mayoría por uno o dos genes teniendo una acción génica principalmente dominante.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el INIFAP – CEVAMEX dentro del proyecto fiscal “Mejoramiento genético y liberación de variedades de avena para la producción de forraje y grano en México”.

LITERATURA CITADA

- Adhikari, K. N., R. A. McIntosh, and J. D. Oates. 1999. Inheritance of the stem rust resistance phenotype *Pg-a* in oats. *Euphytica* 105: 143-154.
- Chong, J., N. K. Howes, P. D. Brown, and D. E. Harder. 1994. Identification of stem rust resistance gene *Pg9* and its association with crown rust resistance and endosperm proteins in ‘Dumont’ oat. *Genome* 37: 440-447.
- Epstein, A. H., M. D. Simons, K. J. Frey, and P. G. Rothman. 1988. Field resistance of oats to *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* measured via yield and seed weight reduction. *Plant Dis.* 72(2): 154-156.
- Fetch Jr., T. G., and Y. Jin. 2007. Letter code system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. *Plant Dis.* 91: 763-766.
- Gardner, E. J., M. J. Simons, y D. P. Snustad. 1998. Principios de Genética. Limusa Wiley. México, D. F. 149 p.
- Gold, S. J., J. M. Fetch, and T. G. Fetch. 2005. Evaluation of *Avena* spp. accessions for resistance to oat stem rust. *Plant Dis.* 89: 521-525.
- Harder, D. E. 1999. Usefulness of gene *Pg10* as a source of stem rust resistance in oat breeding. *Phytopathology* 89: 1214-1217.
- Infante, G., S., y G. P. Zárate de Lara. 1990. Métodos Estadísticos: Un Enfoque Interdisciplinario. Segunda Edición. Editorial Trillas. México, D. F. 643 p.

to the ratio 1: 2: 1 ($P=0.50-0.30$) for a resistance gene.

For the assessment of the Opalo × Calandria F_3 families in seedling and adult plant stages, segregant families were grouped with resistant families since it was impossible to distinguish the two by infection type (Table 5). The observed frequencies for seedlings, 57+19=76: 24 (resistant + segregants: susceptible), and adult plant, 69:24, were adjusted to the phenotypic ratio 3:1 with $P=0.90-0.50$ and $P=0.50-0.10$. Therefore, Calandria possesses a dominant gene for resistance.

In some cases the segregant families have been included together with resistant families to obtain a better fit to a phenotypic ratio. Thus, McKensie and Martens (1968), with the F_3 lines of the backcrosses C.I. 3034 × Rodney 0² and C.I. 3034 × Rodney ABD², joined the two classes and obtained frequencies that adjusted to the phenotypic ratio 3:1. They mention that some lines may have been mistakenly classed because of the considerable variation in the intensity of the rust infection inside the greenhouse and that in areas of severe infection it is difficult to identify a moderate level of resistance. In the case in which heterozygous families are difficult to distinguish from homozygous families, the tendency is to classify them as resistant.

CONCLUSIONS

In the three genotypes studied, the genetics of resistance to stem rust is of simple inheritance and is conditioned by one or two genes. The type of gene action in all of the crosses was dominant. Resistance in the Karma variety was determined by two complementary genes, while in the variety Avemex and the progenitor Calandria resistance was conferred by one dominant gene.

Resistance in seedling was effective until the adult plant stage since the observed frequencies adjusted to the same phenotypic ratio in both stages. Also, resistance in this pathosystem has characteristics that are common to other rust-cereal pathosystems, such as wheat-leaf rust, where resistance is given mostly by one or two genes whose action is principally dominant.

—End of the English version—

---*---

- Jiménez G., C., A. 1992. Descripción de variedades de avena cultivadas en México. Folleto Técnico No. 3. INIFAP CIRCE-CEVAMEX. México, D. F. 72 p.
- Koo, F. K. S., M. B. Moore, W. M. Myers, and B. J. Roberts. 1955. Inheritance of seedlings reaction to races 7 and 8 of *Puccinia graminis avenae* Eriks. and Henn. at high temperature in three oat crosses. *Agron. J.* 47: 122-124.
- Leyva M., S. G., E. E. Rangel, H. E. V. Mir, y J. H. Espino. 2004. Pérdidas ocasionadas por *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Ericks. y Henn., causante de la roya del tallo en seis cultivares de avena (*Avena sativa* L.) en los Valles Altos de México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22: 166-171.
- Martens, J. W., R. I. H. McKenzie, and D. E. Harder. 1980. Resistance to *Puccinia graminis avenae* and *P. coronata* in the wild and cultivated avena populations of Iraq and Turkey. *Can. J. Gen. Cytol.* 22: 641-649.
- Martens, J. W., P. G. Rothman, R. I. H. McKenzie, and P. D. Brown. 1981. Evidence for complementary gene action conferring resistance to *Puccinia graminis avenae* in *Avena sativa*. *Can. J. Cytol.* 23: 591-595.
- McKenzie, R. I. H., and J. W. Martens. 1968. Inheritance in the oat strain C. I. 3034 of adult plant resistance to race C10 of stem rust. *Crop Sci.* 8: 625-627.
- Roelfs, A. P., R. P. Singh, y E. E. Saari. 1992. Las royas del trigo. CIMMYT. México, D. F. 81 p.
- SIAP. 2006. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2006. www.siap.gob.mx. Consultada: agosto 2008.
- Villaseñor, M. H. E., R. E. Espitia, y G. C. Márquez. 1998a. Karma nueva variedad de avena para la producción de grano y forraje en México. Folleto Técnico No. 11. INIFAP CIRCE – CEVAMEX. México, D. F. 16 p.
- Villaseñor, M. H. E., R. E. Espitia, y G. C. Márquez. 1998b. Cevamex nueva variedad de avena para la producción de grano y forraje en México. Folleto Técnico No. 12. INIFAP CIRCE – CEVAMEX. México, D. F. 16 p.
- Villaseñor, M. H. E., R. E. Espitia, and G. C. Márquez. 2001. Registration of “Cevamex” oat. *Crop Sci.* 41 (1): 266-267.
- Welsh, J. N., G. J. Green, and I. H. McKenzie. 1961. New genes for resistance to races of oat stem rust. *Can. J. Bot.* 39: 513-518.