



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

ESTUDIOS DE RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO

(Puccinia graminis f. sp. avenae) EN AVENA (*Avena sativa* L.).

LUIS ANTONIO MARISCAL AMARO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: **ESTUDIOS DE RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) EN AVENA (*Avena sativa* L.)** realizada por el alumno Luis Antonio Mariscal Amaro, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

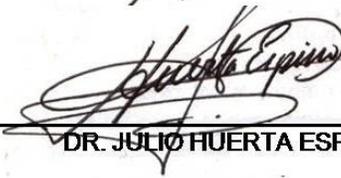
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



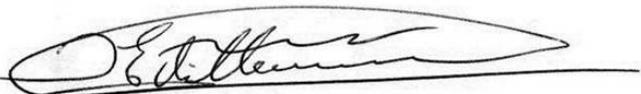
DR. JOSÉ SERGIO SANDOVAL ISLAS

DIRECTOR



DR. JULIO HUERTA ESPINO

ASESOR



DR. HECTOR EDUARDO VILLASEÑOR MIR

ASESOR



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR



DR. IGNACIO BENÍTEZ RIQUELME

Montecillo, Texcoco, Edo. de México; Febrero del 2010

ESTUDIOS DE RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) EN AVENA (*Avena sativa* L.)

Luis Antonio Mariscal Amaro, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

Se estudió cómo opera la genética de la resistencia de genotipos de avena (*Avena sativa* L.) contra la roya del tallo causada por el hongo *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*, mediante el análisis del número y similitud de genes de resistencia en cruza entre genotipos resistentes y susceptibles, y la observación de la variabilidad genética del patógeno en algunas zonas de importancia por la siembra de este cereal. De los genotipos estudiados, se encontró, que en la variedad Karma, la resistencia está dada por dos genes complementarios dominantes, mientras que para la variedad Avemex y en el genotipo Calandria la resistencia esta conferida por un gen dominante. En estado de plántula, las progenies F₃ de cruza entre progenitores resistentes compartieron un gen de resistencia en común; mientras que en planta adulta, ante los altos niveles de infección de hasta 100% por la incidencia de varias razas del patógeno el gen en común de resistencia que comparten los progenitores, no fue efectivo. Con la ayuda de siete genotipos utilizados como diferenciales, inoculados con cincuenta diferentes aislamientos monopustulares, se encontró evidencia de que en seis estados de la República Mexicana están incidiendo hasta 24 razas distintas de roya del tallo. También se encontró que dentro de los genotipos, las variedades Agata, Avena desnuda, Menonita y Saia siguen siendo superiores por su resistencia ante todos los monopustulares probados.

Palabras clave: *Avena sativa* L., *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*, genes complementarios, gen de resistencia y roya del tallo.

RESISTANCE STUDIES TO STEM RUST (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) IN OAT (*Avena sativa* L.)

Luis Antonio Mariscal Amaro, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

The genetics of resistance in oat (*Avena sativa* L.) genotypes against stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) was studied through the analysis of number and similarity of resistance genes with crosses made between resistant and susceptible genotypes. The genetic variability of the pathogen in various oat growing zones was also observed. Results indicated that resistance in Karma is given by two dominant complementary genes, while in Avemex and Calandria by a dominant gene. The F₃ progenies of crosses between resistance parents shared a common resistance gene at the seedling stage. Contrastingly, the high infection levels in adult plants indicated the incidence of several races of the pathogen suggesting that the resistance gene, that the parents share, was no effective. Inoculation of seven differential genotypes provided evidence that 24 stem rust races are present in five states of Mexico. Agata, Avena desnuda, Menonita and Saia are still resistant against all the monopustule isolates tested.

Key words: *Avena sativa* L., *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*, complementary genes, resistance gene y stem rust.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico durante mis estudios de Doctorado.

Al **Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología** por su apoyo económico durante el 2009.

Al **Colegio de Postgraduados** especialmente al **Programa de Fitosanidad** por brindarme la oportunidad de continuar con mi preparación profesional.

Al **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias - Campo Experimental Valle de México (INIFAP - CEVAMEX)**, por los materiales proporcionados y por las facilidades prestadas para la realización del presente trabajo.

Al personal del **Programa de Mejoramiento Genético de Avena del INIFAP - CEVAMEX** por su apoyo en la conducción de las diferentes actividades de investigación.

Esta tesis fue financiada 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” No. PRECI:2096030A.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Julio Huerta Espino** por el tiempo y apoyo que me proporcionó en el trabajo de invernadero, por su participación en la dirección para la ejecución y edición de la presente investigación, por ser parte de mi consejo particular, por las sugerencias vertidas en la revisión de este trabajo y principalmente por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo.

Al **Dr. H. Eduardo Villaseñor Mir** por el tiempo y apoyo que me proporcionó en el trabajo de campo, por todas las facilidades prestadas por el programa de avena a su cargo e igualmente por compartir su vasta experiencia con su servidor.

Al **Dr. J. Sergio Sandoval Islas** por su orientación en el aspecto académico y por sus sugerencias y apoyo para afinar el presente trabajo.

Al **Dr. S. Gerardo Leyva Mir** por su participación y su acertada revisión de esta tesis. Y por su constante apoyo desde el comienzo de mis estudios de postgrado.

Al **Dr. Ignacio Benítez Riquelme** por formar parte de mi consejo particular y por sus valiosas sugerencias para la edición de esta tesis.

A mis padres *Marco Antonio y Natividad*: “Gobierna tu casa y sabrás cuánto cuesta la leña y el arroz; cría a tus hijos, y sabrás cuánto debes a tus padres”. Proverbio chino.

A mis hermanos *Marco Antonio y Guadalupe*: “La más larga caminata comienza con un paso”. Proverbio hindú.

A mis amigos y compañeros: *Imelda, Javier y Saúl, Blanca, Sonia, Jair, Hilda, Gabino, Noé, Nelly, Vladimir, Nelly Ethel, Juan Carlos, Artemio, Ramiro, Patricio. A las chicas del CPA, Karla (Gael, Jaime), Alicia (y esposo), Briza, Dolores (Rajid y Abigail), Yessica (Pedro, José Pedro, Diego Fernando y Aitana), Silvia, Amaranta, Jazmín, Delia (e hijo), tía Agus (y esposo). A los del CPS, Ricardo (y familia), Enrique e Hiram. A Ángel, Gerardo, Johnny, Magda, Nuvia, Daniel Ochoa, Elsa Rodríguez, Rubén, Teolinca y esposo, y Rocío. Y a los que no recordé (los quiero)*: “Para preservar un amigo tres cosas son necesarias: honrarlo cuando esté presente, valorarlo cuando esté ausente, y asistirlo cuando lo necesite”. Proverbio italiano. “El que busca un amigo sin defectos se queda sin amigos”. Proverbio turco.

A mis compañeros de trabajo y de la bodega del INIFAP: *Flor, Eliel, René, Dr. Limón, Rosa María, Carlos Márquez (especialmente), Adrian Ramírez, Mario, José, Víctor, Héctor, Isai y Manuel. A Don Javier del CIMMYT*: “Una sola mano no basta para subirse a la palmera”. “Un solo dedo no puede atrapar un piojo”. Proverbios africanos.

A todos los profesores que me han dado sus enseñanzas durante 23 años de estudio: “Aquel que pregunta es un tonto por cinco minutos, pero el que no pregunta permanece tonto por siempre”. Proverbio chino.

CONTENIDO

	PÁGINA
<u>RESUMEN GENERAL</u>	iii
<u>ABSTRACT GENERAL</u>	iv
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	v
<u>CONTENIDO</u>	1
<u>LISTA DE CUADROS</u>	2
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	3
<u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	4
<u>CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO</u>	
<u>(<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>) EN TRES GENOTIPOS DE AVENA</u>	
<u>(<i>Avena sativa</i> L.)</u>	8
<u>RESUMEN</u>	8
<u>ABSTRACT</u>	9
<u>INTRODUCCIÓN</u>	9
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	11
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	18
<u>CONCLUSIONES</u>	26
<u>LITERATURA CITADA</u>	26
<u>CAPÍTULO II. PRUEBA DE SIMILITUD DE GENES DE RESISTENCIA</u>	
<u>A ROYA DEL TALLO EN GENOTIPOS DE AVENA</u>	30
<u>RESUMEN</u>	30
<u>ABSTRACT</u>	31
<u>INTRODUCCIÓN</u>	31
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	37
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	42
<u>CONCLUSIONES</u>	46
<u>LITERATURA CITADA</u>	46
<u>CAPÍTULO III. SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE AVENA PARA USO</u>	
<u>COMO DIFERENCIALES EN LA IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE</u>	
<u>ROYA DEL TALLO</u>	49

<u>RESUMEN</u>	49
<u>ABSTRACT</u>	50
<u>INTRODUCCIÓN</u>	51
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	53
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	62
<u>CONCLUSIONES</u>	65
<u>LITERATURA CITADA</u>	68
<u>CONCLUSIONES GENERALES</u>	69
<u>LITERATURA CITADA EN INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	70

LISTA DE CUADROS

	PÁGINA
CAPÍTULO I.	
<u>Cuadro 1</u>	11
Cruza e historia de selección de los progenitores de las variedades de avena utilizadas en el estudio.	
<u>Cuadro 2</u>	18
Reacción en el tallo en planta adulta de los cuatro progenitores de avena al momento en que el testigo susceptible alcanzó el 100% de severidad.	
<u>Cuadro 3</u>	21
Distribución y frecuencias relativas de las familias F ₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Karma.	
<u>Cuadro 4</u>	23
Distribución y frecuencias relativas de las familias F ₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Avemex.	
<u>Cuadro 5</u>	25
Distribución y frecuencias relativas de las familias F ₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Calandria.	

CAPÍTULO II.

Cuadro 1	Cruza e historia de selección de los progenitores de avena utilizadas en el estudio.	37
Cuadro 2	Porcentaje de infección de los seis progenitores de avena y las dos variedades testigo.	43
Cuadro 3	Familias F ₃ resistentes y susceptibles observadas en campo de las cruzas entre los seis progenitores resistentes.	45

CAPÍTULO III.

Cuadro 1	Relación de aislamientos de <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> , origen de colecta y variedad huésped.	57
Cuadro 2	Cruza e historia de selección de los genotipos de avena utilizadas en el estudio.	55
Cuadro 3	Respuestas del hospedante y descripciones de las reacciones de infección usadas para evaluar roya del tallo en plántulas de avena.	61
Cuadro 4.	Diferencias en los tipos de reacción de los genotipos de avena utilizados como diferenciales y las veinticuatro diferentes razas encontradas.	67

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	PÁGINA	
Figura 1	Tipos de reacción de los progenitores en estado de plántula de acuerdo con la escala de clasificación de Roelfs <i>et. al.</i> (1992). a) Chihuahua con un tipo de reacción 4. b) Ópalo con un 3. c) Karma con reacción “;” (Fleck). d) Avemex con un tipo de reacción 1. e) Calandria con “;” (Fleck).	20

INTRODUCCIÓN GENERAL

La avena (*Avena sativa* L.) al igual que otros cereales como el trigo (*Triticum aestivum* L.) y la cebada (*Hordeum vulgare* L.), está expuesta a los daños que ocasionan los hongos, siendo las royas las enfermedades más destructivas de este cereal. La roya del tallo causada por el hongo *Puccinia graminis* f. sp *avenae* se presenta en casi todas las áreas del mundo en donde se cultiva la avena, afectando cualquier parte de la planta que se encuentre sobre la superficie del suelo, desde la etapa de plántula, hasta el llenado de grano. Esta enfermedad, afecta significativamente la producción y calidad del grano reduciendo el rendimiento y el peso de grano en 75 % y 60 %, respectivamente (Leyva *et al.*, 2004).

Esta roya, es una enfermedad importante cuando ya está avanzado el ciclo de cultivo, particularmente para las variedades que se siembran o maduran tardíamente en altitudes más bajas. En los climas tropicales húmedos, la roya del tallo puede ser especialmente grave si se prolongan las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad en presencia de inóculo. En esas condiciones, algunas de las resistencias específicas (*Sr6*, *Sr10*, *Sr17*, etc.) son ineficaces a causa de la temperatura e inadecuadas en altas densidades de inóculo (Roelfs *et al.*, 1992).

En Norteamérica se han presentado severas epidemias de roya en 1904, 1916, 1923, 1927, 1935, 1938, 1943, 1949, 1953, 1955 y 1977 (Martens, 1985). También en Manitoba y el este de Saskatchewan, Canadá, ocurridas en 1977 y 2002 con pérdidas estimadas de 35 % y 5 – 10 %, respectivamente (Gold *et al.*, 2005). En México, la roya del tallo es prevaeciente de la región Norte y Valles Centrales de México afectando 220 000 ha (Salmerón *et al.*, 1996).

Dickson, (1963), menciona que el patógeno está ampliamente difundido en todo el mundo, reduciendo el valor del forraje y el rendimiento de grano. Roelfs y Long, (1980), consignan pérdidas en el rendimiento de 4, 5, 7, 10, y 25 % en Dakota del Sur y del Norte, Wisconsin, Iowa y Minnesota, respectivamente. El total de pérdidas en los Estados Unidos fue de 947 450 t. Epstein *et al.*, (1988), indican que la roya del tallo puede causar reducciones significativas en la producción y calidad del grano reduciendo el rendimiento y peso de grano en 75 % y 60 %, respectivamente.

Villaseñor *et al.*, (2005), mencionan que las pérdidas en México en la producción de materia seca en las variedades susceptibles fueron de 32 al 42 %. En variedades como Chihuahua y Juchitepec se han presentado pérdidas de 755.2 y 713.9 kg ha⁻¹, respectivamente; es decir, 36 y 35 % de pérdidas (Leyva *et al.*, 2004).

Las royas en los Valles Altos de la Mesa Central son un factor limitante para el cultivo de la avena (Villaseñor *et al.*, 2001), donde el rendimiento y peso de grano pueden reducir su potencial 75 % y 60 % (Epstein *et al.*, 1988). La producción de materia seca en variedades susceptibles se reduce hasta 32 % y 42 % (Villaseñor *et al.*, 2001). Según Ramírez y Jacobo, (1993), en la región de la Sierra de Chihuahua, esta enfermedad puede reducir la producción de grano entre 30 % y 50 %, quedando el forraje inapetecible para el ganado.

El control de la roya del tallo por el uso de variedades resistentes es una estrategia continua contra hongos patógenos biológicamente dinámicos (Martens, 1985). Las variedades de

avena son un componente tecnológico importante para lograr buenas cosechas. A través de las acciones de investigación en mejoramiento genético hechas por instituciones de investigación agrícola en México, constantemente se ponen a disposición de los productores nuevas variedades con mejores características agronómicas y/o fitopatológicas, con el objeto de reducir las pérdidas ocasionadas por los diferentes factores bióticos y abióticos que inciden en el cultivo (Villaseñor *et al.*, 1998). Fruto de este trabajo, se cuenta en el presente, con una diversidad de genotipos y variedades que responden de manera favorable y distinta a la diversidad de patosistemas presentes en las regiones productoras de avena. Por lo expuesto anteriormente, los objetivos planteados para el presente trabajo fueron:

1. Determinar la herencia de la resistencia a la severidad causada por la roya del tallo en las progenies F₃ de las cruzas entre tres genotipos resistentes de avena y dos susceptibles.
2. Determinar el número y similitud de genes de resistencia en planta adulta y plántula en familias F₃ de cruzas entre seis progenitores de avena resistentes a roya del tallo.
3. Probar diferentes aislamientos de *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* en genotipos de avena para conocer su nivel de resistencia y conocer la diversidad del patógeno en regiones productoras.

HIPÓTESIS

1. La resistencia se hereda de forma vertical y esta conferida por un número pequeño de genes, uno o dos.
2. Los progenitores resistentes tienen genes diferentes de resistencia.
3. Los genotipos de avena evaluados sirven como diferenciales.

4. En las regiones donde se hicieron las colectas están incidiendo más de diez razas de *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*.

CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) 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.)

Luis Antonio Mariscal Amaro^{1*}, Julio Huerta Espino², Héctor Eduardo Villaseñor Mir², Santos Gerardo Leyva Mir³, José Sergio Sandoval Islas¹ e Ignacio Benítez Riquelme¹

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 cruizas 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 de 1:2:1 indicando la presencia de un gen dominante. Para 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* Eriks. y Henn., genes de resistencia.

¹ *Autor responsable (lmariscal@colpos.mx), Colegio de Postgraduados Km. 36.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Montecillo, Edo. de México. Tel (595) 952 02 29 Fax: (595) 9520230.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apdo. Postal 10. C. P. 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel (595) 9542277, 9542877 Ext. 127.

³ Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel. (595) 9521500 Ext. 6179.

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* Eriks. and Henn., resistance genes.

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 vulgare* Pers.) (Leyva *et al.*, 2004), con una producción anual es de 26 millones de 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 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 entre 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 cruzas 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 lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la herencia de la resistencia en plántula y planta adulta, a la severidad del daño causada por la roya del tallo en las progenies F₃ 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 x Karma, Chihuahua x Avemex, Ópalo x Avemex y Ópalo x Calandria. La cruce e historia de selección de dichas variedades (Cuadro 1) y sus características se mencionan a continuación.

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

Progenitor	Cruza e historia de selección
Chihuahua	AB-177 x PUTMAN 61 I-15-11C-1R-2C
Ópalo	CI-7399 (Bond x Rainbow 2 x Hajira x Joannette 3) x Landhafer 4 x Andrew ³
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 x MHF – 7114/ENA – In – N/Jim – Inea/Jim – Inea/Jim – ENA – Oji)] Yuca – Dia”S” I-3841-51C-2C-2C-5C-1C-0C

Chihuahua. Esta variedad se derivó de una cruce entre AB-177 y Putman 61 por hibridación y selección genealógica, en el INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias) y fue registrada en 1967. Se considera susceptible a la roya del tallo (*P. 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 actual para grano es 1.4 ton ha⁻¹ y para forraje de 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, Edo. de México. Su producción para grano es 2.5 ton ha⁻¹; y su uso principal es para forraje (100 pacas de 30 kg). Es importante solo para partes altas, frías y lluviosas en siembras tempranas y para producción de forraje verde (datos no publicados).

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 forraje de 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 cruzas 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 ton 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 cruzas y a finales de mayo se

obtuvo la semilla F_1 . De las semillas F_1 provenientes 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 F_2 ; las semillas restantes de todas las cruzas se guardaron de reserva.

Las semillas F_2 se sembraron en el Campo Experimental Bajío - INIFAP a finales de noviembre del 2006 y se cosecharon 150 plantas al azar que dieron origen a 150 familias F_3 por cruza (la semilla cosechada de cada planta originó a una familia). Las semillas de las familias F_3 de las cruzas Ópalo x Avemex y Ópalo x Calandria fue tomada de la reserva de planes de cruzas 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 repeticiones, 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 colectó 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 $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador. Antes de utilizarse, las urediniosporas congeladas recibieron un tratamiento mediante

un shock térmico con agua a 60°C por 7 minutos 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 F₃ de las cruzas Chihuahua x Karma y Chihuahua x Avemex y 100 familias F₃ para Ópalo x Avemex y Ópalo x 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 cruce se clasificaron de acuerdo a

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

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 % de infección); 3) familias susceptibles: familias homocigóticas con una infección en tallo similar a la del progenitor susceptible (hasta 100 % de infección).

Evaluación en plántula

La evaluación de las cruzas 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 cruzas usadas en la investigación fue tomada de la reserva de la F₃. En charolas de plástico perforadas (20 x 30 x 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 cruzas Chihuahua x Karma, Chihuahua x Avemex, Ópalo x Avemex y Ópalo x 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 bajo 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 PgaMex99.13 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, mientras que 3 y 4 como susceptibles. Las familias con plántulas resistentes y susceptibles fueron las familias segregantes.

Análisis de datos y pruebas estadísticas

Las frecuencias esperadas de las familias F₃ en planta adulta y plántula es bajo el supuesto de que la resistencia es condicionada por uno o dos genes mayores; utilizándose 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 X² con las frecuencias observadas y esperadas. El valor de tablas y la significancia fue determinado de acuerdo a la X² que obtuvieron las proporciones. Para el valor de tablas se tomaron 2 y 1 grado de libertad (n-1), en donde n es el número de grupos de clasificación de familias F₃ (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 un 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).

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

Progenitor	Respuesta
Chihuahua	100% de severidad.
Ópalo	90% de severidad.
Karma	1 - 5% de severidad.
Avemex	1 - 5% de severidad.
Calandria	1 - 5% de severidad.

Las frecuencias observadas (Cuadro 3) en las familias en plántula de la cruce Chihuahua x Karma de 5:51:44, resistentes, segregantes y 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 x 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 x Swan, Adhikari *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 “;” (Fleck). d) Avemex con un tipo de reacción 1. e) Calandria con “;” (Fleck).

Cuadro 3. Distribución y frecuencias relativas de las familias F₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Karma.

Cruza	Total fam.	ResO	ResE	SegO	SegE	SusO	SusE	Rel. Fen.	X ²	Prob. 2GL
Plántula										
Chihuahua x Karma	100	5	6.25	51	50	44	43.75	1:8:7	0.27	0.90 – 0.50
Planta adulta										
Chihuahua x 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 crucea Ópalo x 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 x Avemex y Ópalo x 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 crucea LMHJA (resistente) x Clinton (susceptible a la raza 7) las frecuencias fueron 1: 2: 1, resistente: 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 crucea Culgoa x Swan (Adhikari *et al.*, 1999), así como en 100 líneas F_3 de la crucea Jostrain x Eagle, inoculadas con cinco razas de roya del tallo, donde la relación fenotípica 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 crucea OT328/'Dumont' contra la raza NA25, 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.

Cuadro 4. Distribución y frecuencias relativas de las familias F₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Avemex.

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

En la cruce Ópalo x 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 x Rodney 0² y C. I. 3034 x 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.

Cuadro 5. Distribución y frecuencias relativas de las familias F₃ en plántula y planta adulta de las cruzas con el progenitor resistente Calandria.

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

ResO= resistentes observados; ResE= resistentes esperados; SegO= regregantes observados; SegE= regregantes 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 cruzas 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 del 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.
- 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. 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.

CAPÍTULO II. PRUEBA DE SIMILITUD DE GENES DE RESISTENCIA A ROYA DEL TALLO EN GENOTIPOS DE AVENA

SIMILARITY TEST OF RESISTANCE GENES TO STEM RUST IN OAT GENOTYPES

Luis Antonio Mariscal Amaro^{5*}, Julio Huerta Espino⁶, Héctor Eduardo Villaseñor Mir⁶, Santos Gerardo Leyva Mir⁷, José Sergio Sandoval Islas⁵ e Ignacio Benítez Riquelme⁵

RESUMEN

Se determinó la similitud de genes de resistencia en seis genotipos de avena (*Avena sativa* L.) resistentes a roya del tallo causada por el hongo *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *avenae*, mediante el análisis de la progenie F₃ derivada de la cruce entre ellos. En invernadero y en estado de plántula, cada progenitor por separado tuvo lecturas de 0, ; y 1, indicando resistencia ante el aislamiento PgaMex99.13. También en invernadero y en estado de plántula, todas las familias F₃ de todas las cruces fueron resistentes, indicando que los seis progenitores tienen el mismo gen de resistencia contra el aislamiento probado. En campo; sin embargo, aunque se hicieron inoculaciones del mismo aislamiento, las familias en todas las cruces mostraron diferentes niveles de infección, algunos mayores a 60 % indicando la incidencia de otras razas distintas a la inoculada, para las cuales el gen de resistencia en común en los progenitores no fue efectivo.

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

^{5*}Autor responsable (lmariscal@colpos.mx), Colegio de Postgraduados Km. 36.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Montecillo, Edo. de México. Tel (595) 952 02 29 Fax: (595) 9520230.

⁶ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apdo. Postal 10. C. P. 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel (595) 9542277, 9542877 Ext. 127.

⁷ Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel. (595) 9521500 Ext. 6179.

ABSTRACT

The similarity of resistance genes was tested in crosses of F₃ progenies derived from six stem rust resistant oat genotypes. Parents at seedling growth stage under greenhouse conditions showed readings of 0, ; and 1 indicating resistance to stem rust isolate PgaMex99.13. In greenhouse, similar results with F₃ families provided evidence that parents have the same resistance gene against this particular isolate. However, under field conditions, families from all crosses inoculated with the same isolate showed different levels of infection. Levels of infection higher than 60% were observed. This indicated the incidence of other rust races different from the inoculated and the ineffectiveness of the common resistance gene against them.

Keywords: Test of similarity, *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *avenae* Eriks. and Henn., *Avena sativa* L.

INTRODUCCIÓN

La avena (*A. 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 vulgare* Pers.) (Leyva *et al.*, 2004), con una producción anual de 26 millones de t de grano (Gold *et al.*, 2005). En México en 2008, para avena forrajera se sembraron 730 671 ha, la producción fue 11 022 151 t con un rendimiento de 15.5 t ha⁻¹. El valor de la producción fue de \$3 606 304. Para grano la superficie sembrada fue 104 519 ha, la producción fue 148 136 t y un rendimiento de 1.5 t ha⁻¹, siendo el valor de la producción de \$312 658. Los principales estados productores fueron Chihuahua, Durango, México, Zacatecas e Hidalgo con una producción de 71 237 t, 13 595 t, 12 913 t, 2 420 t y 2 265 t de grano, respectivamente. En el 2008, en los Valles Altos de México, de avena para grano, se

cultivaron 15 178 ha con un rendimiento de 1.8 t ha⁻¹ para forraje fue 96 761 ha con un rendimiento promedio de 18 t ha⁻¹ (SIAP, 2009).

Las royas son las enfermedades más destructivas en avena afectando desde la etapa de plántula hasta el llenado de grano (Leyva *et al.*, 2004) y en los Valles Altos de la Mesa Central son el factor biótico más limitante para el cultivo de la avena (Villaseñor *et al.*, 2001). La roya del tallo causada por el hongo *P. graminis* Pers. f. sp. *avenae* Eriks. and Henn puede reducir el rendimiento (75 %) y peso de grano (60 %) (Epstein *et al.*, 1988), al igual que la producción de materia seca (32 a 42 %) en variedades susceptibles (Villaseñor *et al.*, 2001). 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 pérdidas generales (Leyva *et al.*, 2004).

En México no hay estudios sobre la diversidad genética en la resistencia a roya del tallo que tienen las variedades de avena sembradas en los Valles Altos de México. La falta de estudios quizá se deba a la dificultad para hacer las cruzas en este cultivo, por lo complicado que es trabajar con las espiguillas, y a la poca importancia que hasta hace pocos años se le dio al patógeno. Solo en países como Australia, Canadá y Estados Unidos se han hecho estudios en donde se ha observado el (datos no publicados).

Para un uso más eficiente de las fuentes de resistencia que poseen los genotipos de avena en México, es necesario conocer el modo de herencia de la resistencia, en este caso en particular, la similitud y cuánta de genes; sin embargo, las bases genéticas en el germoplasma de este cultivo es en gran parte desconocido.

Como en el caso de otros cereales, uno muy similar que es el trigo, el número de genes que poseen los genotipos de avena resistentes al hacer las cruzas entre ellos se obtiene al ajustar las frecuencias de las plantas o plántulas en F_2 o de las familias F_3 a frecuencias esperadas como la 13:3 y/o 7:8:1 y la 63:1 para dos y tres genes de resistencia involucrados, respectivamente.

Artie y Frey (1959) al hacer estudios genéticos entre genotipos resistentes de avena a roya del tallo, encontraron evidencia de segregaciones 13:3 para plántulas resistentes y susceptibles, indicando la existencia de un par de genes confiriendo la resistencia, uno dominante proporcionado por uno de los progenitores y un gen recesivo dado por el otro. Welsh *et al.* (1961) encontraron evidencia de segregaciones 63:1 para resistentes y susceptibles en plántulas de una cruce entre progenitores resistentes indicando la presencia de tres genes confiriendo la resistencia que se pueden heredar independientemente. Adhikari *et al.* (1999) en cruzas entre el progenitor resistente ‘Omega’ con otras 15 líneas resistentes, observó que todas las familias de estas cruzas fueron resistentes homocigóticas, indicando que la falta de segregantes susceptibles se debió a que los progenitores tenían los mismos genes o que si estos genes eran diferentes probablemente eran genes ligados o alélicos.

Se hicieron cruzas entre líneas conteniendo cada una de ellas un gen de resistencia específico, siendo el gen *Pg10* constante en una de las líneas progenitoras. En todas las cruzas hubo segregación de plantas resistentes y susceptibles. Sin embargo, en las cruzas *Pg1/Pg10*, *Pg2/Pg10*, *Pg3/Pg10* y *Pg4/Pg10* inoculadas con la raza NA1, la segregación de plantas se ajustó a una proporción de 15:1 (resistentes: susceptibles), esperada para dos genes dominantes. Similarmente, para las cruzas *Pg8/Pg10*, *Pg9/Pg10* y *Pg13/Pg10* inoculadas con NA27, se observaron proporciones de 3:1 (*Pg8/Pg10*), esperada para un solo gen, 13:3 (*Pg9/Pg10* y

Pg13/Pg10) esperada para un gen dominante y uno recesivo, y 15:1 esperada para dos genes dominantes en la cruce *Pg15/Pg10* (Harder, 1999).

En avena, en la evaluación de las cruces de los progenitores Burnett x C. I. 3030, Burnett x C. I. 2710 y Burnett x C. I. 3031 contra la raza 6 de roya del tallo, las segregaciones de plántulas F₂ en las tres cruces se ajustaron satisfactoriamente a la proporción 13 resistentes: 3 susceptibles. En estos casos, dos pares de genes independientes parecen estar segregando. En cada uno de estos casos, Burnett contribuyó con el alelo dominante y el otro progenitor (C. I. 3030, C. I. 2710 ó C. I. 3031) contribuyó con el alelo recesivo en el que la resistencia fue recesiva (Browning y Frey, 1959).

También en avena y en otros cereales, la similitud de genes de resistencia que se puede observar al evaluar las progenies resultantes de las cruces entre progenitores resistentes se hace evidente cuando no se observa segregación, en dichas progenies, de familias homocigóticas susceptibles y/o en algunos casos de familias clasificadas como segregantes. Murphy *et al.* (1958) al evaluar cruces entre progenitores resistentes x susceptibles de avena encontraron en 111 familias evaluadas la presencia de solo una familia homocigótica susceptible sugiriendo el ajuste a una proporción esperada de 37:26:1 cuando tres genes dominantes operan en la resistencia. También encontraron que en una de las cruces todas sus familias F₃ fueron resistentes y moderadamente resistentes a la raza 276 de roya de la corona, siendo que el progenitor C. D. 3820 exhibe un grado de resistencia más alto y distinto que el progenitor C. I. 4748, con base en esto se concluyó que el gen o genes de resistencia que tienen estos dos genotipos son alélicos,

explicando la ausencia de segregantes susceptibles entre la progenie. Lo anterior sin embargo no prueba que los progenitores posean en común un locus de resistencia.

McKenzie *et al.* (1970) también encontraron evidencia de genes de resistencia alélicos o muy ligados al gen *Pg4* en el progenitor CW490-2, esto lo observaron al evaluar las familias F₃ de la cruce (CW490-2 x Rod.O³) x Rodney en donde ninguna de las 160 familias probadas segregaron o fueron susceptibles a la raza C5 de roya del tallo.

Dick (1966) al evaluar la cruce entre los progenitores C. D. 3820 x C. D. 7994, ambos resistentes a la raza 264 de roya de la corona, encontró que la segregación de las familias F₃ de dicha cruce se ajustaron a la proporción 7 resistentes: 8 segregantes: 1 susceptible cuando se probaron ante la raza 294. Estos resultados se explicaron asumiendo la presencia de dos genes de resistencia, el *Pc-15* de C. D. 3820 y un segundo de C. D. 7994.

Se ha propuesto la teoría de la similitud de genes de resistencia en genotipos resistentes en varios trabajos como en el caso de McKenzie *et al.* (1965) en donde concluyeron que en la cruce entre los progenitores Rosen's Mutant x C. I. 6829, estos dos progenitores poseen el mismo gen 'H' que confiere resistencia a la raza 6AF de roya del tallo, esto al observar que todas las 33 familias F₃ fueron resistentes. Esto mismo se observó en la cruce 'Ukraine' x C. I. 6829 en donde todas las 25 familias F₃ fueron resistentes a la raza 6AF en estado de plántula. Aparentemente el genotipo Ukraine también tuvo el mismo gen 'H' de resistencia.

En trigo, Singh y McIntosh (1984) en intercruzas entre los progenitores resistentes Gatcher, Timgalen y SUN27A encontraron que dentro de las progenies de plántulas F₂ no hubo plántulas

homocigóticas susceptibles ya que solo hubo plántulas con fenotipos ubicados dentro del rango mostrado por sus respectivos progenitores resistentes. Estos resultados proveyeron evidencia genética de que estos tres progenitores comparten el mismo o los mismos genes de resistencia.

Navabi *et al.* (2003) evaluaron familias F₅ de intercruzas entre los progenitores resistentes Saar, Simorgh, Homa, Parastoo y Cocnoos, para estudiar la similaridad de genes de resistencia. Algunas de las familias presentaron severidades tan altas como un 50% a 70%. Esto indicó que, a pesar de que los progenitores tienen al menos un gen en común, los otros genes adicionales en ellos fueron diferentes. En las cruzas de Simorgh y Homa con Parastoo se observó menos segregación en cuanto a la severidad en las generaciones F₂ y F₅ indicando que quizás estos progenitores tuvieron dos genes aditivos en común.

Se evaluaron las generaciones F₂ de las cruzas entre tres trigos sintéticos hexaploides, SH1, SH3 y SH4, considerados como resistentes ante el ataque de la roya de la hoja. Las cruzas entre SH1 x SH3 y SH3 x SH4 segregaron en una relación 15 resistentes: 1 susceptible, determinando así la presencia de dos genes dominantes independientes controlando la resistencia en cada cruce, confirmando con ello la presencia de un gen simple dominante en los SH1, 3 y 4. Por otro lado, a pesar de que en la evaluación de la generación F₂ de la cruce SH1 x SH4 se hicieron dos evaluaciones, no hubo segregación de la resistencia, lo cual estaría indicando que el gen que presentan los progenitores SH1 y el SH4 es el mismo (Aguilar *et al.* 2000).

Con base en los antecedentes, el objetivo de este estudio fue determinar el número y similitud de genes de resistencia en planta adulta y plántula en familias F₃ de cruzas entre seis progenitores de avena resistentes a roya del tallo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cruzamientos

Se realizaron tres cruzamientos entre los genotipos Prog. 15, Prog. 19, Prog. 23, Prog. 26, Prog. 28 y Prog. 40, originando las cruzas Prog. 15 x Prog. 40, Prog. 19 x Prog. 26 y Prog. 28 x Prog. 23. La craza e historia de selección de estos genotipos se presentan en el Cuadro 1.

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

Progenitor	Cruza e Historia de selección
Prog. 15	PMG-/3/83-109(5-0C)8C-0C/KARMA I-4373-0C-2CE-1RE-4C-0R
Prog. 19	PMG-81/81-65(7-0C)11C-0C/F2-CV-83(5-0C)7C-0C I-4496-0R-23C-1C-0R
Prog. 23	(815A-129-72-C1-648/SR-CPX)2/3/BLENDA//KARMA I-4538-0C-5C-0R-0C-1C-0R
Prog. 26	HUA”S”/ZAFIRO/4/OBSIDIANA I-4514-0C-0C-0R-4C-0R
Prog. 28	PMG-83/83-109(5-0C)8C-0C/KARMA I-4373-0C-2CE-1RE-5C-0R
Prog. 40	BLENDA//PMG-83/83-109(7-0C)-7C-0C/3/OBSIDIANA I-4516-0C-2C-0R-0C-1C-0R

Las cruzas se hicieron en el ciclo Invierno-Primavera de 2006, en el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) del INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).

Obtención de las generación F₁, segregantes F₂ y familias F₃

De las semillas F₁, provenientes de dos espigas seleccionadas de cada craza, se sembraron en campo 50 semillas en el ciclo primavera-verano de 2007. De cada craza se cosecharon todas las plantas para obtener 150 semillas, las cuales dieron origen a la generación F₂; las semillas restantes se guardaron de reserva. Las semillas F₂ se sembraron en el Campo Experimental de Roque, Guanajuato (CIRCE) del INIFAP en noviembre del 2007 y se cosecharon 150 plantas al azar que dieron origen a 150 familias F₃ por craza (la semilla cosechada de cada planta dio origen a una familia).

Aislamiento del patógeno

El aislamiento del patógeno utilizado en el estudio se colectó en Tepatitlán, Jalisco, en el verano de 1999, en la variedad Rarámuri y designado como PgaMex99.13; aislamiento que es virulento en las variedades comerciales de avena. Este aislamiento se incrementó en la variedad Ópalo y las esporas colectadas se mantuvieron a -55 °C en un congelador hasta que fueron usadas en campo. El aislamiento PgaMex99.13 es una variante de la raza NA32 (Fetch y Jin, 2007) pero con virulencia a *Pg15*. Su fórmula de avirulencia/virulencia es 1,8,15,a/2,3,4,9,13,16⁸.

Evaluación en planta adulta, manejo experimental e inoculaciones

⁸ Luis Antonio Mariscal Amaro, Estudiante de Maestría, Colegio de Postgraduados, lmariscal@colpos.mx.

La evaluación en planta adulta, se efectuó en el ciclo primavera-verano de 2008 en el CEVAMEX. Se sembraron 132, 149 y 100 familias F₃ de las cruzas Prog. 15 x Prog. 40, Prog. 19 x Prog. 26 y Prog. 28 x Prog. 23 respectivamente, en surcos dobles (1 m largo; 30 cm separación). En los bordos y entre las calles del experimento se sembraron semillas de la variedad susceptible Chihuahua, la cual actuó como fuente de inóculo y dispersante. El diseño experimental fue bloques completamente al azar con dos repeticiones, 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.

Se estableció una epidemia artificial 28 d después de la siembra (dds) mediante la inoculación de esporas frescas del aislamiento PgaMex99.13 (concentración 1×10^6 esporas mL⁻¹ de aceite mineral) en los bordos y en las calles del experimento. 7 d después de la primera inoculación, se repitió el procedimiento para todas las familias y otros 10 d más tarde, una tercera para asegurar el establecimiento de la enfermedad.

La toma de datos, se hizo 20 d después de la última inoculación, cuando se observaron las primeras infecciones en los progenitores moderadamente resistentes. Con base en los niveles de (infección) severidad, todas las familias F₃ de cada cruce se clasificaron en dos categorías:

1. Familias resistentes. Familias homocigóticas con una infección similar en el tallo a la del progenitor resistente, desde OR=0 % de infección (totalmente resistente), hasta 20MR=20 % de infección (moderadamente resistente).
2. Familias susceptibles. Familias homocigóticas con una infección mayor a 60MS=60 % de infección (moderadamente susceptible).

Evaluación en estado de plántula e inoculación

La evaluación en plántula se llevó a cabo en el 2009 en el CEVAMEX-INIFAP. Las familias F₃ de las tres cruzas se sembraron en 14 charolas de plástico perforadas (20 x 30 x 5 cm) donde se agregó una mezcla de tierra preparada y peat moss (60 y 40 %, respectivamente) dejando un centímetro del borde; la tierra se emparejó, con otra charola encima presionando ligeramente para acabar de emparejarla y comprimirla un poco. Posteriormente se agregó agua hasta que la tierra estuvo totalmente húmeda. Finalmente, con una prensa de metal con 48 picos, se marcaron 48 perforaciones en cada charola quedando ocho hileras con seis perforaciones cada una.

En cada perforación se pusieron 10 semillas de cada familia de cada cruz. A las charolas se les agregó una pequeña cantidad de tierra solo para tapar las perforaciones y se agregó más agua para humedecerla. Al final de la siembra se tenían las 14 charolas cada una con semilla de 48 familias. Siguiendo la misma metodología, se sembró otra charola con los seis progenitores más dos variedades (Chihuahua y Ópalo) como testigos susceptibles al mismo aislamiento (PgaMex99.13). Estas charolas se mantuvieron en el invernadero a una temperatura de 20°C noche y 23°C día. 14 d después de la siembra se procedió con la inoculación mediante-boquillas aspersoras, suspendiendo las urediniosporas frescas en aceite mineral Soltrol®. Las charolas se etiquetaron y se dejaron secar hasta que el aceite se evaporara y se metieron en cámara de rocío por 13 h 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

Catorce días después de la inoculación cuando hubo presencia de pústulas y niveles de hasta 100 % de infección en las dos variedades testigo susceptibles, se tomaron los datos clasificando las familias en tres grupos:

1. Familias resistentes. Familias completamente resistentes, con plántulas con infecciones iguales a sus progenitores correspondientes; infecciones no mayores a 10 %.
2. Familias segregantes. Familias con plántulas resistentes: infecciones no mayores al 10 % y plántulas susceptibles con infecciones mayores de 60 hasta 100 % en las hojas.
3. Familias susceptibles. Familias con plántulas completamente susceptibles con infecciones mayores de 60 hasta 100 % en las hojas.

Análisis de datos y pruebas estadísticas

Las frecuencias esperadas de las familias F_3 en planta adulta, se propusieron bajo el supuesto de que la resistencia es condicionada por uno o dos genes mayores. Se utilizaron las frecuencias de las familias homocigóticas susceptibles, para determinar el número de genes de resistencia, basándose en la proporción 13:3 (Resistentes: Susceptibles) para un gen dominante y uno recesivo y la de 63:1 para tres genes dominantes (Gardner *et al.*, 1998).

Se hicieron pruebas X^2 con las frecuencias observadas y esperadas. El valor de tablas y la significancia fue determinado de acuerdo a la X^2 que obtuvieron las proporciones. Para el valor de tablas se tomó un 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 el porcentaje de infección alcanzado por los progenitores y las variedades testigos susceptibles en plántula al aislamiento PgaMex99.13. Se puede observar que evidentemente, los progenitores moderadamente resistentes aunque si presentaron cierto grado de severidad este no fue alto. Estos niveles altos de resistencia son debido a que estos genotipos resistentes tuvieron padres con buenos niveles de resistencia (Cuadro 1) como el progenitor 15, 23 y 28 con Karma en común como uno de sus padres o como el progenitor 26 y el 40 con Obsidiana en común como uno de sus padres. Karma y Obsidiana en su momento se escogieron por sus altos niveles de resistencia. Karma ante el aislamiento PgaMex99.13 tuvo un nivel de severidad de 1-5% (Mariscal *et al.*, 2009), nivel igual al de los progenitores en que formó parte como uno de sus padres. Se concluye entonces que los genes de resistencia de cinco de los seis genotipos utilizados en este estudio probablemente provienen de Karma y Obsidiana. Es importante mencionar que Karma, Obsidiana, Zafiro y Blenda, padres de cinco de los progenitores moderadamente resistentes evaluados en este estudio (Cuadro 1), tienen en común al genotipo Diamante como uno de sus padres, que es considerado como la principal fuente de genes de resistencia contra la roya del tallo (Información personal⁹).

Las variedades Chihuahua y Ópalo como testigos susceptibles presentaron niveles de infección ante el aislamiento iguales a los observados por Mariscal *et al.* (2009). Estos niveles altos de severidad al ser observados ayudaron para el inicio de la toma de datos en las familias.

⁹ Carlos Márquez Gutiérrez, Colaborador del Programa de Mejoramiento Genético de Avena del INIFAP – CEVAMEX.

Cuadro 2. Porcentaje de infección de los seis progenitores de avena y las dos variedades testigo.

Progenitor	Infección en %
Prog. 15	5-10
Prog. 19	1-5
Prog. 23	1-5
Prog. 26	1-5
Prog. 28	1-5
Prog. 40	1-5
Chihuahua	100
Ópalo	90

En las familias de las tres cruzas evaluadas en estado de plántula Prog. 15 x Prog. 49, Prog. 19 x Prog. 26 y Prog. 28 x Prog. 23 no se encontraron familias completamente susceptibles o con niveles de severidad tan altos como Ópalo o Chihuahua, solo alcanzaron niveles de infección iguales o ligeramente menores a la de sus progenitores ($\leq 1-5\%$). La ausencia de familias susceptibles en las tres cruzas indicó que en estos seis progenitores existe un gen en común que les confiere resistencia al aislamiento PgaMex99.13 en condiciones controladas de invernadero. Estos datos coinciden con lo mencionado por Adhikari *et al.* (1999) que al hacer la cruce entre la variedad Omega con 15 líneas resistentes de avena para observar si estos genotipos poseían genes en común encontró que en todas las plantas F₁ fueron resistentes y que en la F₂ las poblaciones no segregaron dando reacciones resistentes similares a las de sus progenitores. En plántulas F₂ que

fueron trasplantadas en campo, todas estas se comportaron como resistentes. Puesto que Omega posee el gen *Pga* y no hubo una segregación susceptible en ninguna de las cruzas, estos autores concluyeron que también las líneas tenían el mismo gen, o que si genes diferentes pudieran estar involucrados estos debieron ser alélicos. Además de este autor, autores como Murphy *et al.* (1958), McKenzie *et al.* (1970 y 1965), Singh y McIntosh (1984) y Aguilar *et al.* (2000), llegaron a conclusiones similares.

De acuerdo con la fórmula de avirulencia/virulencia del aislamiento probado PgaMex99.13 que es $1,8,15,a/2,3,4,9,13,16$, los progenitores moderadamente resistentes podrían estar compartiendo alguno de los genes de resistencia *Pg1*, *Pg8*, *Pg15* o *Pga* para los cuales el aislamiento del hongo es avirulento.

En el estudio en estado de planta adulta en campo se presentaron familias moderadamente resistentes y susceptibles (Cuadro 3), observándose diferentes niveles de infección algunos que alcanzaban hasta 100%. Ya que se esperaba un nivel de infección igual al que se presentó en el estudio de plántula en invernadero, niveles iguales o menores al 5%, se concluyó que la presencia de niveles de infección tan altos en campo indica que una o más razas diferentes al aislamiento inoculado PgaMex99.13 estuvieron incidiendo al momento de tomar los datos. Al parecer el gen de resistencia en común que comparten los progenitores y que se observó en estado de plántula no fue efectivo en las familias que estuvieron en campo por lo cual se presentaron familias susceptibles con los elevados niveles de infección. Si bien, la presencia de familias susceptibles indica que el gen de resistencia que los progenitores comparten no fue efectivo en campo, la

presencia de familias resistentes indica, por otro lado, que los otros genes de resistencia que estos progenitores tienen se expresaron en ese momento mostrando diferentes niveles de resistencia a las demás razas que incidieron.

El Cuadro 3 solo se presenta como referencia para corroborar que efectivamente si hubo familias susceptibles en campo, sin hacer ningún tipo de clasificación.

Cuadro 3. Familias F₃ resistentes y susceptibles observadas en campo de las cruzas entre los seis progenitores resistentes.

Cruza	No. familias	Familias resistentes	Familias susceptibles
Prog. 15 x Prog. 49	132	113	19
Prog. 19 x Prog. 26	149	109	40
Prog. 28 x Prog. 23	100	79	21

Respecto a la presencia de otras razas de roya del tallo, la siembra de las familias F₃ en campo se hizo en el mes de julio del 2008, periodo en que se ha observado en los campos del INIFAP – CEVAMEX, la incidencia de royas tanto de la hoja como del tallo en los cultivos de trigo y avena que ha sido constante durante años, aún sin inducir epifitias, por lo que la presencia de urediniosporas año tras año es inminente. La presencia de las primeras infecciones por *P. graminis* f. sp. *avenae* de forma natural en estos campos se ha visto en el mes de agosto por lo

que hubo mucha oportunidad de que otras razas de roya del tallo se establecieran en este experimento cuando las plantas tenían una etapa de desarrollo adecuada para el establecimiento de las primeras urediniosporas (información personal¹⁰).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos a nivel de plántula en invernadero, los progenitores 15, 19, 23, 26, 28 y 40, poseen un gen en común que les confiere resistencia al aislamiento de roya del tallo PgaMex99.13, aunque este gen no fue efectivo contra las razas que incidieron cuando las progenies de sus cruzas estuvieron en campo. De acuerdo con la fórmula de avirulencia/virulencia del aislamiento probado, estos seis progenitores podrían estar compartiendo ya sea el gen *Pg1*, *Pg8*, *Pg15* o el *Pga*.

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.
- Aguilar, R. V. H., P. R. Singh, G. J. D. Molina, y E. J. Huerta. 2000. Herencia de la resistencia a la roya de la hoja en cuatro trigos sintéticos hexaploides. *Agrociencia* 34:235-246.
- Artie, J. B., and K. J. Frey. 1959. The inheritance of new sources of oat stem rust resistance. *Plant Disease Reporter*. 43 (7): 768-771.

¹⁰ Dr. Héctor E. Villaseñor Mir, Jefe Nacional del Programa de Mejoramiento de Trigo y Avena del INIFAP – CEVAMEX y C. Carlos Márquez Gutiérrez, Colaborador del Programa de Mejoramiento Genético de Avena.

- Browning, J. F.; and K. J. Frey. 1959. The inheritance of new sources of oat stem rust resistance. *Plant Disease Reporter* 43(7):768-771.
- Dick, P. L. 1966. Inheritance of stem rust resistance and other characteristics in diploid oats, *Avena strigosa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 8:444-450.
- 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.
- 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.
- Mariscal, A. L. A., E. J. Huerta; M. H. E. Villaseñor, M. S. G. Leyva, I. J. S. Sandoval, y R. I. Benítez. 2009. Genética de la resistencia a roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. & Henning) en tres genotipos de avena (*Avena sativa* L.). *Agrociencia* 43: 869-879.

- McKenzie, R. I. H.; G. Fleischmann, and G. J. Green. 1965. A close association of stem and crown rust resistance in 'Ukraine' and 'Rosen's Mutant' oats. *Crop Sci* 5:551-552.
- McKenzie, R. I. H., J. W. Martens, and T. Rajhathy. 1970. Inheritance of stem rust resistance in a Tunisian strain of *Avena sterilis*. *Can. J. Genet. Cytol.* 12:501-505.
- Murphy, H. C., F. J. Zillinsky, M. D. Simons, and R. Grindeland. 1958. Inheritance of seed color and resistance to races of stem and crown rust in *Avena strigosa*. *Agronomy Journal (USA)* 50:539-541.
- Navabi, A., R. P. Singh, J. P. Tewari, and K. G. Briggs. 2003. Genetic analysis of adult plant resistance to leaf rust in five spring wheat genotypes. *Plant Disease (USA)* 87:1522-1529.
- SIAP. 2009. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2008. www.siap.gob.mx. Enero 2009.
- Singh, R. P., and R. A. McIntosh. 1984. Complementary genes for reaction to *Puccinia recondita tritici* in *Triticum aestivum*. I. Genetic and linkage studies. *Can. J. Genet. Cytol. (Canada)* 26:723-735.
- 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.

CAPÍTULO III. SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE AVENA PARA USO COMO DIFERENCIALES EN LA IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE ROYA DEL TALLO

OAT GENOTYPES SELECTION AS DIFFERENTIAL FOR IDENTIFICATION OF STEM RUST RACES

Luis Antonio Mariscal Amaro^{11*}, Julio Huerta Espino¹², Héctor Eduardo Villaseñor Mir¹², Santos Gerardo Leyva Mir¹³, José Sergio Sandoval Islas¹¹ e Ignacio Benítez Riquelme¹¹

RESUMEN

La identificación de razas fisiológicas de *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*, mediante diferenciales, es importante en los programas de mejoramiento genético de avena para lograr resistencia y el conocimiento de la dispersión regional del patógeno y su evolución. Se probaron 50 aislamientos monopustulares de roya del tallo causada por *P. graminis* f. sp. *avenae* en 24 genotipos de avena (*Avena sativa* L.) para determinar la diversidad del patógeno de muestras colectadas en seis estados de México. Los genotipos Cevamex, Obsidiana, Papigochi, Diamante, Rarámuri, Chihuahua y el Progenitor 7, de los 24 probados, expresaron diferentes tipos de infección, y pueden ser utilizados como diferenciales para observar la diversidad del patógeno y para determinar la prevalecencia de razas. Al utilizar estos siete genotipos de avena se encontraron 24 razas del patógeno. Las variedades Agata, Avena desnuda, Menonita y Saia mostraron el mayor nivel de resistencia ante todos los aislamientos probados. Los progenitores 11, 12 y 13 tuvieron

¹¹ *Autor responsable (lmariscal@colpos.mx), Colegio de Postgraduados Km. 36.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Montecillo, Edo. de México. Tel (595) 952 02 29 Fax: (595) 9520230.

¹² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apdo. Postal 10. C. P. 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel (595) 9542277, 9542877 Ext. 127.

¹³ Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carr. México – Texcoco, 56230, Chapingo, Edo. de México. Tel. (595) 9521500 Ext. 6179.

buen nivel de resistencia al igual que las variedades 12, 14, 27, 28, 36, 43, 44. Existe gran variabilidad genética en los aislamientos probados de *P. graminis* f. sp. *avenae* colectados en seis estados. Siete de los genotipos probados como diferenciales pueden utilizarse para identificar las razas fisiológicas del hongo. Se identificaron 24 razas fisiológicas distintas del patógeno.

Palabras clave: Diferenciales, diversidad genética, roya del tallo, razas.

ABSTRACT

The identification of physiologic races of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*, by means of differentials, is important in the programs of genetic oat improvement to obtain resistance and the knowledge of the regional dispersion of the pathogen and its evolution. Fifty-monopustules isolates of the stem rust fungus caused by *P. graminis* f. sp. *avenae* were tested in 24 oat genotypes to evaluate the pathogen diversity of samples collected in six states of Mexico. The seven genotypes (Cevamex, Obsidiana, Papigochi, Diamante, Rarámuri, Chihuahua and Progenitor 7) that showed different infection types were selected as differentials to evaluate the pathogen diversity and incidence of stem rust. These indicated the presence of 24 stem rust races. The highest level of resistance to tested cultures was showed by Agata, Avena desnuda, Menonita, and Saia. Acceptable resistance was showed by progenitors 11, 12 and 13, and varieties 12, 14, 27, 28, 36, 43 and 44. There is a great genetic variability in the proved isolations of *P. graminis* f. sp. *avenae* collected in six states. Seven of the proved genotypes as differentials can be used to identify the physiological races of the fungus. 24 different physiological races of the pathogen were identified.

Keywords: Differential plants, genetic diversity, oat stem rust, races.

INTRODUCCIÓN

La identificación de razas fisiológicas de *P. graminis* f. sp. *avenae* es importante en los programas de mejoramiento genético de avena (Roelfs y Martens, 1988) para los siguientes propósitos: 1) provee datos comparativos del comportamiento de los genotipos hospedantes inoculados con aislamientos específicos, como base para producir mejores variedades resistentes; 2) contribuye a comprender el comportamiento de los genes que condicionan resistencia en el hospedante y su interacción con la patogenicidad en el hongo; 3) provee un método de análisis genético del hospedante y el patógeno; 4) detecta nuevas o razas potencialmente peligrosas así como también nuevos genotipos hospedantes. Además los datos de los estudios de razas reflejan tendencias a largo plazo en las poblaciones del patógeno (Stewart y Roberts, 1970).

Roelfs y Martens (1988) mencionan que en trigo (*Triticum aestivum* L.), Stakman y Levine en 1992 publicaron la primera clave para designar razas fisiológicas de la roya del tallo basada en 12 genotipos diferenciales a los cuales, se agregaron 16 diferenciales más. A partir de este grupo de diferenciales se identificaron 120 razas (Huerta y Singh, 2000). La aceptación de hospedantes diferenciales con un solo gen para identificar razas fue inmediata por su utilidad en el mejoramiento de cultivares y en la comprensión de los cambios en la población del patógeno (Roelfs y Martens, 1988).

En avena ha sido difícil lograr el consenso para designar una sola nomenclatura de identificación y designación de razas fisiológicas de roya del tallo. La falta de uniformidad se debe: 1) a que distintas variedades se utilizan como un mismo diferencial; 2) los ambientes en que las razas son identificadas son diferentes; 3) los sistemas de designación de las razas también

son diferentes. La confusión surge cuando por nomenclatura se designan nuevas razas que fisiológicamente pueden ser las mismas a las ya clasificadas (Stewart y Roberts, 1970).

Stewart y Roberts (1970) mencionan que Stakman *et al.*, 1923, identificaron las primeras razas de roya del tallo en avena con las diferenciales: Victory, White Tartar y Monarch. Después que en 1925 Bailey publicó una clave analítica para formas fisiológicas diferenciadas con las variedades White Tartar, Richland y Joannette Strain. Posteriormente, el descubrimiento de la subraza 7A en la variedad Rodney condujo al uso de esta variedad como nueva diferencial. En 1962 se anexó como diferencial el genotipo Eagle x C.I. 4023 (C.I. 8111) cuando, dentro de éste, Welsh *et al.*, (1962) describieron el gen F. Selección Santa Fe (C.I. 5844) (gen H) también fue usada como una diferencial suplementaria desde 1966. Por último, estos autores señalan que Saia (*Avena strigosa* Schreb.) ha sido usada como diferencial suplementaria desde que Stewart y colaboradores reportaron que en este genotipo se produjeron infecciones por el aislamiento 5A.

Con el sistema de identificación de razas descrito por Stewart y Roberts (1970) usando 7 diferenciales, se encontraron 97 razas. Con el sistema propuesto por Fetch y Jin (2007), con 13 genotipos que tenían los genes *Pg1*, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16 y *Pga*, se identificaron 67 razas. Actualmente en México no existe un sistema de nomenclatura de razas para la roya del tallo, ni diferenciales propios previamente identificados; los utilizados provienen de los EE. UU. o Canadá los cuales no se adaptan a las condiciones del país haciendo difícil su multiplicación.

En la selección de cultivares diferenciales se considera que: 1) los genes produzcan una reacción diferencial; 2) los hospedantes no sean afectados por temperatura, luz o densidad de inóculo; 3) que tengan un solo gen para que el fenotipo del patógeno sea medido claramente; 4) haya cantidad suficiente de semilla del genotipo para usarse en los ensayos. Una línea diferencial con poca semilla puede ser utilizada como suplementaria. Algunas de las líneas disponibles con un solo gen son difíciles de cultivar en diferentes áreas del mundo por su falta de adaptación (Roelfs, 1985).

El objetivo de la presente investigación fue probar diferentes aislamientos de *P. graminis* f. sp. *avenae* en 24 genotipos de avena, con el propósito de conocer su nivel de resistencia, su reacción a la diversidad del hongo e identificarlas como diferenciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos de *P. graminis* f. sp. *avenae*

Los aislamientos del hongo mantenidos en refrigeración (-55° C) provinieron de colectas hechas del 20 al 23 de octubre del 2006, por el Programa de Mejoramiento Genético de Avena del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) – CEVAMEX (Cuadro 1) .

Cuadro 1. Relación de aislamientos de *P. graminis* f. sp. *avenae*, origen de colecta y variedad huésped.

No. Aislamiento	Variedad	Municipio	Estado
1	Chihuahua	Cuyuaco	Puebla
2	Karma	San Juan Yucuita	Oaxaca
3	Menonita	San Juan Yucuita	Oaxaca
4	Prog. 42	Mazapiltepec de Juárez	Puebla
5	Karma	Mazapiltepec de Juárez	Puebla
6	Avemex	San Juan Yucuita	Oaxaca
7	Chihuahua	CEMOAX*	Oaxaca
8	Avemex	Mazapiltepec de Juárez	Puebla
9	Teporaca	Sandoval	Aguascalientes
10	Obsidiana	Sandoval	Aguascalientes
11	Chihuahua	Sandoval	Aguascalientes
12	Ópalo	Sandoval	Aguascalientes
13	Avemex	Sandoval	Aguascalientes
14	Karma	Sandoval	Aguascalientes
15	Avemex	Pabellón de Arteaga	Aguascalientes
16	Karma	Pabellón de Arteaga	Aguascalientes
17	Obsidiana	Pabellón de Arteaga	Aguascalientes
18	Chihuahua	Pabellón de Arteaga	Aguascalientes
19	Avemex	Valle de Guadiana	Durango
20	Obsidiana	Valle de Guadiana	Durango

21	Chihuahua	Francisco I. Madero	Hidalgo
22	Ópalo	Francisco I. Madero	Hidalgo
23	Karma	CEZAC**	Zacatecas
24	Obsidiana	CEZAC	Zacatecas
25	Chihuahua	CEZAC	Zacatecas

*Sitio Experimental Mixteca Oaxaqueña

**Campo Experimental Zacatecas

Genotipos de avena

La semilla de los 24 genotipos utilizados fue proporcionada por el Programa de Mejoramiento Genético del INIFAP - CEVAMEX. La cruce e historia de selección de dichos genotipos (Cuadro 2) se mencionan a continuación.

Cuadro 2. Cruza e historia de selección de los genotipos de avena utilizadas en el estudio.

Genotipo	Cruza e Historia de selección
Agata	KAR/GAL/ZAF/KAR/3/BLEND//KAR I-4533-0C-3C-0R-0C-2C
Avena desnuda	<i>Avena nuda</i> L.
Avemex	PMG-84/84-54 MGA1004-0C-0C-0C-0C-2Z-0C
Chihuahua	AB-177 x Putnam 61 I-15-11C-11-2C
Diamante	1955-A-39-3-2 Curt/Impala/ENA

	I-1314-5R-103C-101R-0Z
Karma	8232-CI-9291-CROSS/COLLI
	II-3947-11C-7C-8C-1C-0C
Menonita	{“(Gue)Paco-AB177 ² xC-CN/ENA(F1)-DIA”S”}/Boyeros
	I-3531-22R-4C-6C-2C-1C-0C
Obsidiana	TPCxMFH 7114/ENA INN//Jim INCA/3/Jim ENA/4/OJI/5/YUCA DIA
	I-4449-0R-0C-5CE-2RE-0C-0R
Ópalo	(Bond x Rainbow 2 x Hajira x Joannette 3) x Landhafer 4 x Andrew ³
	CI-7399
Papigochi	Cruzas sin identidad
Rarámuri	Tippecanoe/Minhafer/7114/ENA/Indii-N/Jimenez/Elloitos
Saia	CI-7010
Turquesa	[F ₂ CV-83(5-0C)8C-0C]/KARMA I-4373-0C-0C-7CE-0R-0C
Prog. 7	(IOR-S97 CV-8A)
Prog. 11	PMG-/3/83-109(5-0C)8C-0C/KARMA

I-4373-0C-2CE-1RE-4C-0R

Prog. 12 PMG-81/81-65(7-0C) 11C-0C/F2-CV-83 (5-0C) 7C-0C

I-4496-0R-23C-1C-0R

Prog. 13 PMG-83/83-109(5-0C)8C-0C/KARMA

I-4373-0C-2CE-1RE-5C-0R

Var. 12 (815A-129-72-CI-648/SR-CPX)2/3/BLEND//KARMA

I-4538-0C-5C-0R-0C-1C

Var. 14 (815A-129-72-CI-648/SR-CPX)2/OBSIDIANA//OBSIDIANA

I-4538-0C-0C-0R-1C-0R

Var. 27 PMG-83/83-109(5-0C)8C-0C/KARMA

I-4373-0C-2CE-1RE-6C-0R

Var. 28 BLEND//PMG-83/83-109(7-0C)-7C-0C73/KARMA

I-4515-0C-0C-0R-5C-0R

Var. 36 KARMA/GALEANA/2/TPCMHF7114/ENA-INN/IIM-
INCA/3/IIM-ENA/4/OJI/5/YUCA DIA "S"/6/KARMA/
I-4528-0C-0C-0R-2C-0R

Var. 43 KARMA "S"//DIA"s"/HUA"s"/5/ZAFIRO/4/DIAR-31/815A-188-

72-CI-648/SR-CPX

I-4543-0C-0C-0R-1C-0R

Var. 44

KARMA "S"/"DIA"s"/HUA"s"/5/ZAFIRO/4/DIAR-31/815A-188-

72-CI-648/SR-CPX

I-4543-0C-0C-0R-2C-0R

El experimento se llevó a cabo en los invernaderos del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), ubicado en el Batán, Edo. de México.

Manejo de los genotipos en el invernadero

Los genotipos de avena se sembraron en charolas de plástico perforadas (20 x 30 x 5 cm) se agregó una mezcla de tierra preparada y peat moss (60 y 40% respectivamente). Posteriormente con una prensa de metal con 48 picos se marcaron 48 perforaciones en cada charola quedando ocho hileras con seis columnas.

En cada perforación se sembraron 15 semillas de cada genotipo de avena, se sembraron solo las hileras 1, 3, 5, 7, la restantes se dejaron sin sembrar. El hecho de que se sembraran hileras salteadas ayudó a que las plántulas se desarrollaran más vigorosas y permitió mayor paso de luz que beneficio al hongo. A las charolas se les agregó una pequeña cantidad de tierra para tapar las perforaciones y se humedecieron. Las 50 charolas, cada una con los 24 genotipos, se mantuvieron en el invernadero a 20 °C noche y 23 °C día. 14 d después de la siembra se procedió con la inoculación de los 50 aislamientos monopustulares.

Obtención de aislamientos monopustulares

Veinticinco vasos de unisel de 6 oz con cinco perforaciones en la base se llenaron con una mezcla de tierra preparada y peat moss (60 y 40% respectivamente) dejando dos centímetros de borde, la tierra se emparejó, se presionó y comprimió ligeramente y posteriormente se agregó agua hasta que estuvo totalmente húmeda. Se distribuyeron 15 semillas de la variedad susceptible de avena ópalo en cada uno de los vasos, se agregó tierra suficiente para tapar las semillas y se humedecieron. Los vasos se mantuvieron en el invernadero 20 °C noche y 23 °C día.

Cuatro días después de la siembra a los vasos con las semillas ya emergidas se les agregó el herbicida MH-30 (3,6-dihydrozy-pyridazine, 99%), en una dosis de 0.2 g/L/96 vasos. El MH (ácido maléico) inhibe el punto de crecimiento meristemático por lo que solamente la hoja primaria se extiende al máximo, las plantas no crecen y se hacen más susceptibles (Benkeblia, 2004). 7 d después de la aplicación se procedió a hacer la inoculación con urediniosporas de las diferentes colectas.

Mencionadas anteriormente, las cápsulas con las urediniosporas se les agregó aceite mineral Soltrol® y mediante boquillas aspersoras las urediniosporas de cada cápsula se inocularon en cada vaso previamente identificados. En estos vasos se permitió que el aceite se evaporara y se colocaron en una cámara húmeda por 13 h de rocío y 3 h de luz. Después los vasos se mantuvieron en jaulas separadas en el invernadero a 20 °C noche y 23 °C día. 7 d después de la inoculación cuando se observaron las primeras pústulas, con unas tijeras, en cada vaso se dejaron solo tres hojas cuidando que cada una de estas tuviera solo una pústula y esta separada una de otra para evitar una mezcla. Las urediniosporas de cada pústula conformaron un cultivo monopustular. Las colectas de cada monospustular se hicieron con boquillas colectoras, se

almacenaron en cápsulas de gelatina etiquetadas y se mantuvieron en un congelador a -55°C . Se obtuvieron 75 monopustulares, 3 por colecta (marcados como A, B y C), utilizándose al final solo 50 (A y B) dejando de reserva los restantes.

Para el incremento de los aislamientos, se sembraron en vasos de unisel semillas de la variedad Ópalo siguiendo la misma metodología de siembra e inoculación mencionada anteriormente. Los vasos se mantuvieron en jaulas separadas en el invernadero a 20°C noche y 23°C día, hasta la colecta.

Inoculación de aislamientos en los genotipos de avena

Las urediniosporas de los aislamientos se rehidrataron. Las plántulas de cada una de las charolas sembradas anteriormente se inocularon con cada uno de los aislamientos. Las charolas se identificaron y se dejaron secar y se colocaron en cámara húmeda por 13 h de rocío y 3 h de luz; luego se mantuvieron en invernadero a 20°C noche y 23°C día.

Toma de datos

Catorce días después de la inoculación cuando hubo presencia de pústulas se tomaron los tipos de infección (TI) en los genotipos utilizando la escala de clasificación de 0 – 4 (Cuadro 3) donde valores de 3 y 4 son plántulas susceptibles, y de 0, ;, 1, 2 y X al igual que puntos intermedios son resistentes (Roelfs, 1992).

Cuadro 3. Respuestas del hospedante y descripciones de las reacciones de infección usadas para evaluar roya del tallo en plántulas de avena.

Respuesta del Hospedante (clase)	TI Escala 0 - 4	Síntomas o signos de la enfermedad
Immune	0	Ningún uredinio presente.
Casi immune	;	No uredinio pecas cloróticas o necróticas presentes que indican hipersensibilidad.
Muy resistente	1	Uredinios pequeños rodeados por necrosis.
Moderadamente resistente	2	Uredinios pequeños o de tamaño mediano a menudo rodeados por clorosis o necrosis; puede haber una isla verde rodeada por un borde clorótico o necrótico.
Heterogénea	X	Uredinios de tamaño variable distribuidos al azar en una sola hoja.
Moderadamente susceptible	3	Uredinios de tamaño mediano que está asociado con cierta clorosis.
Susceptible	4	Uredinios grandes sin clorosis.

(En la escala: **0**.; **1**, **2**, y **X** son resistentes, **3** y **4** son susceptibles). Las reacciones de infección se detallan de la siguiente manera: = uredinios muy pequeños en la reacción de infección; - uredinios algo pequeños en la reacción de infección; + uredinios grandes en la reacción de infección; ++, uredinios muy grandes en la reacción de infección; **C** indica más clorosis de lo normal; **N** presencia de necrosis en la reacción de infección. (Escala Modificada después de Roelfs *et al.*, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen diferencias en virulencia de los aislamientos colectados en las diferentes regiones productoras, presentándose diferentes TI, 0, ;, 1, 3 y 4. Siete de los 24 genotipos mostraron una respuesta diferencial por lo que se podrían utilizar como diferenciales; tal es el caso de Chihuahua, Avemex, Obsidiana, Papigochi, Diamante, Rarámuri y Progenitor 7 con diferentes TI: avirulentos a algunos aislamientos con TI 1, X y virulentos con TI 3 ó 4. Además, estas siete diferenciales seleccionadas tienen la ventaja de que están adaptadas a las condiciones climáticas de México un punto importante para tomar en cuenta al hacer la selección de hospederos diferenciales como lo menciona Roelfs, (1985).

Estos genotipos poseen varios genes de resistencia por los diferentes TI que mostraron ante los aislamientos, Avemex, Obsidiana, Papigochi, Rarámuri, y el Prog. 7 al parecer tienen dos genes de resistencia, uno confiriendo resistencia con un TI 1 para los aislamientos 2, 5, 12, 5 y 2, y el otro mostrando un TI X a los aislamientos 17, 8, 11, 5 y 22. Chihuahua y Diamante al parecer solo tienen un gen de resistencia cuyo TI es "X" en respuesta a los aislamientos 2 y 20; o bien, Chihuahua y el Progenitor 7 que mostraron ambos TI, X y 3. Por consiguiente, Avemex, Obsidiana, Papigochi, Diamante, Rarámuri, Chihuahua y el Progenitor 7 al ser diferenciales, se pueden usar para estimar cuantas razas de *P. graminis* f. sp. *avenae* están incidiendo en las zonas productoras.

Los genotipos con resistencia ante todos los aislamientos fueron Agata, Avena desnuda, Menonita y Saia. Karma mostró resistencia a la mayoría de los aislamientos, solo con el

aislamiento 16B tuvo un TI X. Turquesa solo mostró un TI X con el aislamiento 18A. Ópalo fue el único genotipo susceptible a todos ellos.

Los progenitores 11, 12 y 13 fueron los más resistentes con TI 0, ; y 1, ante todos los aislamientos a excepción del progenitor 12 con X ante el aislamiento 18A. Estos genotipos son importantes como fuentes de resistencia para futuros planes de cruzas en los programas de mejoramiento de avena. Las variedades 12, 14, 27, 28, 36, 43, 44, mostraron un buen nivel de resistencia ante la mayoría de los aislamientos, solo algunas de estas variedades mostraron un TI X ante los aislamientos 16B y 18A.

Los aislamientos más virulentos fueron 16A, 16B, 18A y 18B ya que hicieron que algunos genotipos con TI 0, ; y 1 (ante otros aislamientos), mostraran un TI X.

El número de razas fisiológicas que se pueden diferenciar depende de las variedades diferenciales disponibles y de los tipos de reacción, 0, ;, 1, 2 y X como resistentes y 3 y 4 como susceptibles (Lacadena, 1970). En este estudio se utilizaron dos tipos de reacción: resistentes y susceptibles, si se dispone de n variedades diferenciales, el número total de razas fisiológicas diferenciables será 2^n . Si este fuera el caso, en esta investigación se hubieran encontrado $2^n=2^7=128$ razas del patógeno; sin embargo, utilizando solo una diferencial se encontraron 2 aislamientos diferentes, con dos diferenciales 4, con tres 6, con cuatro 10, con cinco 16, con seis 22 y con las siete 24 lo que equivale a 24 razas del patógeno.

De acuerdo con las interacciones diferenciales observadas al agrupar solo los TI que mostraron los siete diferenciales, en los campos experimentales del CEMOAX inciden dos razas de *P. graminis* f. sp. *tritici*. Esto permitió diferenciar al aislamiento 7A del 7B por que las variedades Rarámuri y Papigochi son susceptibles a 7A y resistentes a 7B. La región de San Juan Yucuita hay más variabilidad en cuanto a la virulencia del patógeno por lo que se cree que existen cuatro razas. Los aislamientos 3B, 6B y 6C son iguales con los mismos TI para todas las diferenciales, siendo virulentos, a excepción de Prog. 7, el aislamiento 3A es diferente ya que es virulento para todas las diferenciales, los aislamientos 2A y 2C son diferentes entre si y con el resto, el 2A es virulento en Obsidiana y Prog. 7 y el 2C es virulento para todas a excepción de Papigochi. Entonces los aislamientos 2A, 2C, 3A y 3B=6B=6C son diferentes.

En las regiones de Sandoval y Pabellón de Arteaga, se encontró la mayor diversidad en los aislamientos. En Sandoval podrían existir nueve razas, esto se explica haciendo algunas comparaciones, por ejemplo, que los aislamientos 9A y 9C son los mismos por que causan los mismos TI en las diferenciales y estos son diferentes al resto, el 11A y 11B son diferentes ya que 11A es virulento en todas las diferenciales a excepción de Avemex y el 11B solo en Chihuahua, Obsidiana y Prog. 7 y en el caso del 12A y 13B estos aislamientos son los mismos ya que son virulentos a todas las diferenciales. Por lo tanto las nueve razas serían, 9A=9C, 10A=10B, 11A, 11B, 13A=13B, 12C, 13A, 14A y 14B. En Pabellón de Arteaga hay cinco diferentes, 15A y 15C son los mismos ya que causan los mismos TI, estos dos diferentes al resto, 16A y 16B también son los mismos, 17B es diferente del 17C porque este último si es virulento en Chihuahua y 18A y 18C son los mismos, las cinco razas son, 15A=15C, 16A=16B, 17B, 17C y 18A=18C.

En la región de Valle de Guadiana, hay cuatro razas distintas, ya que los aislamientos 19B, 19C, 20A y 20C son todos diferentes por sus TI, de estos el 20A es el más virulento en todas las diferenciales a excepción de Papigochi que mostró resistencia. En la región de Francisco I. Madero, existe evidencia de tres razas, la primera el aislamiento 21A que fue avirulento en todas las diferenciales, la segunda el 21B que solo causó virulencia en Papigochi y la tercera los aislamientos 22B y 22C que causaron los mismos TI. En la región de Cuyuaco, solo hay evidencia de una sola raza, los aislamientos 1A y 1B que causaron los mismos TI; pero en la región de Mazapiltepec de Juárez se observaron cuatro razas distintas, 4A=4B, 5A, 5B y 8A=8B.

Por último, en los campos experimentales del CEZAC hay evidencia de que inciden tres razas diferentes, 23A=23B, 24A= 24B y 25A=25C.

Se observaron en total 24 razas distintas: (1) 7A=2C=20A=5B; (2) 7B; (3) 2A; (4) 3A=13B=12A=1A=1B=5A; (5) 3B=6B=6C=22C=22B=24A=24B; (6) 9A=9C=4A=4B; (7) 10A=10B; (8) 11A; (9) 11B; (10) 12C; (11) 13A; (12) 14A; (13) 14B=21A; (14) 15A=15C=25A=25C; (15) 16A=16B; (16) 17B; (17) 17C; (18) 18A=18C; (19) 19C; (20) 19B; (21) 20C; (22) 21B; (23) 8A=8B; (24) 23A=23B (Cuadro 4).

CONCLUSIONES

Existe gran variabilidad genética en los aislamientos probados de *P. graminis* f. sp. *avenae* colectados en seis estados. Siete de los genotipos probados pueden ser utilizados no solo para

observar la diversidad genética del patógeno si no que también usarse como diferenciales para hacer la identificación de razas fisiológicas del hongo causante de la roya del tallo en avena. En estos genotipos seleccionados fue fácil observar distintas interacciones diferenciales por lo que se corroboró una relación gen a gen en este patosistema.

Se identificaron 24 aislamientos diferentes lo que equivaldría a 24 razas distintas del patógeno con base en la respuesta ante siete genotipos de avena. Por la colindancia de estos estados al Estado de México y al Distrito Federal, productores importantes de avena, estas mismas razas pudieran estar presentes también.

Cuadro 4. Diferencias en los tipos de reacción de los genotipos de avena utilizados como diferenciales y las veinticuatro diferentes razas encontradas.

Genotipo	Razas encontradas																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Cevamex	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R
Chihuahua	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S
Diamante	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Obsidiana	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S
Papigochi	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
Rarámuri	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Prog. 7	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R

R = resistencia (TI 1, 2 y X), S = susceptibilidad (TI 3 y 4).

LITERATURA CITADA

- Benkeblia, N. 2004. Effect of maleic hydrazide on respiratory parameters of stored onion bulbs (*Allium cepa* L.). Brazilian Journal of Plant Physiology 16(1). Obtenido de la red www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202004000100007. Mayo del 2009.
- Fetch Jr., T. G., and Y. Jin. 2007. Letter code system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. Plant Dis. 91: 763-766.
- Huerta, E. J. 1992. Analysis of wheat leaf and stem rust virulence on a worldwide basis. P.H. D. Thesis. University of Minnesota. 472 p.
- Lacadena, J. R. 1970. Genética vegetal – Fundamentos de su aplicación. Segunda edición. AGESA. Madrid, España. pp 121-127.
- Roelfs, A. P. 1985. Race specificity and methods of study. *In: The Cereal Rust. Vol. I.* Academic Press, New York. 131-161 pp.
- Roelfs, A. P., and J. W. Martens. 1988. An international system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathology 78: 526 – 533.
- Roelfs, A. P., R. P. Singh, y E. E. Saari. 1992. Las royas del trigo. CIMMYT. México, D.F. 81 pp.
- Stewart, D. M. and B. J. Roberts. 1970. Identifying races of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. A modified International System. Technical Bulletin No. 1416. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture. U. S. A. 23 p.

CONCLUSIONES GENERALES

-  En los tres genotipos estudiados, la genética de la resistencia a la roya del tallo es de herencia simple y está condicionada por un número reducido de genes (uno a dos).
-  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.
-  El tipo de acción génica en todas las cruzas fue dominante.
-  Los progenitores 15, 19, 23, 26, 28 y 40, poseen un gen en común que les confiere resistencia al aislamiento de roya del tallo PgaMEX99.13.
-  De acuerdo con la fórmula de avirulencia/virulencia del aislamiento probado, estos seis progenitores podrían estar compartiendo ya sea el gen *Pg1*, *Pg8*, *Pg15* o el *Pga*.
-  Existe gran variabilidad genética en los aislamientos probados de *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* colectados en seis estados.
-  Siete de los genotipos probados pueden ser utilizados no solo para observar la diversidad genética del patógeno si no que también usarse como diferenciales para hacer la identificación de razas fisiológicas del hongo causante de la roya del tallo en avena.
-  En estos genotipos seleccionados fue fácil observar distintas interacciones diferenciales por lo que se corroboró una relación gen a gen en este patosistema.
-  Se estima que en los seis estados están incidiendo 24 razas distintas del patógeno con base en la respuesta de siete genotipos de avena.

LITERATURA CITADA EN INTRODUCCIÓN GENERAL

- Dickson, J. G. 1963. Enfermedades de las plantas de gran cultivo. Salvat. Barcelona, Esp. 584 p.
- 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 Disease 72 (2): 154-156.
- 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.
- 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. Revista Mexicana de Fitopatología 22:166-171.
- Martens, J. W. 1985. Oat stem rust. In: The Cereal Rust. Vol. II. Academic Press, New York. 103-129 pp.
- Ramírez, L. M. N., y C. J. L. Jacobo. 1993. El patosistema de la roya del tallo de la avena en la Sierra de Chihuahua. Revista Mexicana de Fitopatología 11:47-63.
- Roelfs, A. P. and D. L. Long. 1980. Analysis of recent oat stem rust epidemics. Phytopathology 70 (5):436-440.
- Roelfs, A. P., R. P. Singh y E. E. Saari. 1992. Las royas del trigo. CIMMYT. México, D.F. 81 pp.
- Salmeron, J. J., D. F. Harder and J. Chong. 1996. Identification of oat genotypes resistant to stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae*) and crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*). Revista Mexicana de Fitopatología 14(1):15-19.
- Villaseñor, M. H. E., O. A. Limón, E. J. Huerta, G. Ma. F. Rodríguez y R. E. Espitia. 2005. El cultivo de la avena en los Valles de México. In: Día de campo CEVAMEX – 2005, Memoria Técnica. Chapingo, Estado de México. pp 60-68.

Villaseñor, M. H. E., R. E. Espitia, and G. C. Márquez. 1998. Karma nueva variedad de avena para la producción de grano y forraje en México. Folleto Técnico No. 11. INIFAP CIRCE – CEVAMEX. 16 p.

Villaseñor, M. H. E., R. E. Espitia, and G. C. Márquez. 2001. Registration of “Cevamex” oat. *Crop Science* 41 (1): 266-267.