

ANÁLISIS GENÉTICO DE LA TOLERANCIA A *Cercospora* spp. EN LÍNEAS ENDOGÁMICAS DE MAÍZ TROPICAL

GENETIC ANALYSIS OF TOLERANCE TO *Cercospora* spp. IN TROPICAL MAIZE INBRED LINES

Henry Vanegas-Angaritas¹, Carlos De-León² y Luis Narro-León³

¹Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. (vanegashe@uniweb.net.co). ²Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. México. (cdeleon@colpos.mx). ³CIMMYT/CIAT. (l.narro@cgiar.org)

RESUMEN

La mancha gris de la hoja o Cercoporosis del maíz (*Zea mays* L.), causada por el hongo *Cercospora zea maydis* Tehon y Daniels, se ha convertido en una enfermedad de importancia económica en regiones del trópico húmedo productoras de maíz en la República de Colombia. Para implementar un programa adecuado de selección y mejoramiento de tolerancia genética a esta enfermedad fue necesario determinar la herencia de esa tolerancia. Para ésto, cinco líneas endogámicas muy tolerantes y cinco susceptibles a la enfermedad se evaluaron usando un diseño dialélico (Griffing Modelo I), en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. La variable Índice de Enfermedad (IE; escala 1=tolerante; 5=susceptible) de las líneas progenitoras y sus cruzas directas y recíprocas se determinó en tres ambientes, en lotes de siembra directa e inoculadas artificialmente con inóculo de hojas con síntomas de la enfermedad recolectadas en campos de agricultores. En el análisis combinado, hubo diferencias altamente significativas para los progenitores, cruzas directas y recíprocas, aptitud combinatoria general (ACG) y aptitud combinatoria específica (ACE). No hubo diferencias significativas para progenitores vs cruzas ni para cruzas directas vs recíprocas. Consecuentemente, la heterosis no fue importante en el IE (media de los progenitores: 2.97 y para cruzas: 3.03) y no se observaron efectos maternos para estas líneas (media de cruzas directas y recíprocas: 3.03). La suma de cuadrados (SC) para ACG fue tres veces mayor que la SC de ACE; es decir, los efectos aditivos fueron más importantes que los no aditivos. No se observó interacción de progenitores×ambiente. La interacción de ambientes con cruzas, ACG y ACE fue altamente significativa.

Palabras clave: *Cercospora zea maydis*, *Zea mays*, aptitud combinatoria específica, aptitud combinatoria general, efectos recíprocos, mancha gris de la hoja de maíz.

INTRODUCCIÓN

La mancha foliar gris, causada por un complejo del hongo *Cercospora* spp., es una enfermedad que reduce el rendimiento de grano del maíz

Recibido: Noviembre, 2005. Aprobado: Octubre, 2006.
Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 41: 35-43. 2007.

ABSTRACT

Gray leaf spot of maize (*Zea mays* L.), caused by the fungus *Cercospora zea maydis* Tehon & Daniels, has become an economically important disease in tropical humid maize growing areas of the Republic of Colombia. To implement an adequate program of selection and improvement of genetic tolerance to this disease, it was necessary to determine the inheritance of this tolerance. For this purpose, five highly tolerant and five-susceptible maize inbred lines were evaluated using a diallel design (Griffing Model 1), at the Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. Parental lines and their crosses, both direct and reciprocal, were evaluated in three different environments using conservation tillage and were artificially inoculated using a mixture of gray leaf spot infected leaves collected from farmers' fields. The variable Disease Index (DI; scale 1: resistant; 5: highly susceptible) of the parental lines and their direct and reciprocal crosses was determined in three environments, in fields planted under direct planting, artificially inoculated with inoculum prepared using leaves with symptoms of the disease collected from farmers' fields. In the combined analysis, there were highly significant differences for parents, crosses (direct and reciprocal), general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA). There were no significant differences for either parents vs. crosses or for direct vs. reciprocal crosses. Consequently, heterosis was not important in DI (mean for parents: 2.97, and for crosses: 3.03) and no maternal effects were observed for these lines (mean for direct and reciprocal crosses: 3.03). GCA sum of squares (SS) was three fold of the SCA SS, meaning that additive gene effects were more important than non-additive gene effects. No parent×environment interaction was observed. Interaction of environment with crosses, GCA, and SCA were highly significant.

Key words: *Cercospora zea maydis*, *Zea mays*, specific combining ability, general combining ability, reciprocal effects, gray leaf spot of maize.

INTRODUCTION

Gray leaf spot, caused by a complex of the fungus *Cercospora* spp., is a disease that reduces grain yield of maize (*Zea mays* L.)

(*Zea mays* L.) (Ward *et al.*, 1999). En Colombia, en 1999, la enfermedad se presentó en forma epidémica en lotes cultivados con labranza de conservación (Varón, 1999) de la región de Caicedonia (zona cafetera del Valle del Cauca, entre 1150-1500 m de altitud). En el 2000 se detectó su presencia en la zona plana del Valle del Cauca, a 1000 m de altitud, con una severidad incipiente (Huertas)^[4]. La enfermedad ha prevaecido debido a prácticas de cultivo como la siembra continua de maíz-maíz en ambos ciclos agrícolas, riego por aspersión, siembra directa (en la que los residuos de la cosecha anterior permanecen sobre la superficie), la tendencia a no quemar los residuos ni su incorporación mecanizada y el uso de híbridos comerciales introducidos susceptibles a la enfermedad. Además, la época de siembra y de crecimiento del cultivo coincide con el período de mayor precipitación, alta humedad relativa y bajas temperaturas nocturnas, que hacen más vulnerable al cultivo (Varón *et al.*, 2001; FENALCE-CIMMYT, 2001).

En evaluaciones de control de la enfermedad con uno, dos o tres aplicaciones de fungicidas en épocas críticas del desarrollo de plantas de híbridos comerciales de maíz susceptibles, el rendimiento se ha reducido de 22 a 37.5% en función del fungicida utilizado y de la eficiencia de las aspersiones; en lotes comerciales no protegidos las pérdidas fueron 90% (Tisnés, 2001^[5]; Vanegas *et al.*, 2003^[6]).

Los híbridos de maíz que actualmente se siembran en los climas cálidos de Colombia son susceptibles en diverso grado a esta enfermedad. En Caicedonia (Depto. Valle) y Pereira (Depto. Risaralda) 90% del maíz se cultiva en siembra directa y existen condiciones climáticas propicias para el desarrollo de la enfermedad, como alta precipitación pluvial, alta humedad relativa, variación de temperaturas media diurna/nocturna, nubosidad frecuente y abundancia de inóculo en condiciones naturales, lo que las hace apropiadas para seleccionar germoplasma resistente o muy tolerante. No hay maíces tropicales mejorados con tolerancia genética al complejo de la mancha foliar gris, por lo cual es necesario conocer el tipo de herencia que condiciona la tolerancia al complejo del patógeno *Cercospora* spp. para diseñar un método de mejoramiento genético más eficiente. Por tanto, el propósito de esta investigación fue evaluar progenitores contrastantes para el carácter tolerancia al complejo de *Cercospora*, para conocer la importancia y tipo de efectos genéticos que

(Ward *et al.*, 1999). In Colombia, in 1999, the disease appeared as an epidemic in maize fields cultivated under conservation tillage (Varón, 1999) of the Caicedonia region (coffee growing zone of the Valle del Cauca, between 1150-1500 m altitude). In 2000, its presence was detected in the plain of the Valle del Cauca, at 1000 m altitude, with an incipient severity (Huertas)^[4]. The disease has persisted because of cultivation practices such as the continuous planting of maize-maize in both agricultural cycles, sprinkle irrigation, direct sowing (in which the residues of the previous harvest remain on the ground), the tendency not to burn residues nor to incorporate them mechanically, and the use of introducing commercial hybrids that are susceptible to the disease. Furthermore, the period of sowing and growth of the crop coincides with that of the most abundant rainfall, high relative humidity and low nighttime temperatures, which makes the crop more vulnerable (Varón *et al.*, 2001; FENALCE-CIMMYT, 2001).

In evaluations of control of the disease with one, two or three applications of fungicides in critical periods of plant development in susceptible commercial hybrids, yield has been reduced from 22 to 37.5% according to the fungicides used and the efficiency of the applications; in unprotected commercial plots, the losses were 90% (Tisnés, 2001^[5], Vanegas *et al.*, 2003^[6]).

The maize hybrids that are currently sown in the warm climate of Colombia are susceptible in varying degree to this disease. In Caicedonia (Depto. Valle) and Pereira (Depto. Risaralda), 90% of the maize is grown under direct cultivation, and there are climatic conditions that promote the development of the disease, such as abundant rainfall, high relative humidity, variation of mean daytime/nighttime temperatures, frequent cloudiness and abundance of inoculum under natural conditions, thus making them appropriate for selecting resistant or very tolerant germplasm. There are no improved tropical maize cultivars with genetic tolerance to the gray leaf spot complex, therefore it is necessary to know the type of inheritance that conditions tolerance to the complex of the pathogen *Cercospora* spp. in order to design a more efficient breeding method. Consequently, the purpose of the present investigation was to evaluate contrasting parents for the trait of tolerance to the *Cercospora* complex, to know the importance and

⁴ Huertas, C. A. 2000. Monitoreo de enfermedades de maíz en el Valle del Cauca. Tuluá: ICA. Consejo Regional de Sanidad Vegetal. 22 p.

⁵ Tisnés, M. R. 2001. Experiencias de maíz/soya en siembra directa en Caicedonia. In: Seminario de actualización tecnológica en el cultivo del maíz. FENALCE/ASIAVA. SENA. Tuluá, Valle. 10 p.

⁶ Vanegas, H., C. De León y A. M. Moreno B. 2003. Maíces híbridos subtropical x tropical: Una opción tecnológica para la zona cafetalera. FONADE-SENA-SAC-MINAGRICULTURA-FEDERACAFE-CIMMYT-FENALCE. In: Mem. Seminario Internacional en maíz Carlos De León. Manizales, Caldas, Colombia. Sep. 30, 2003. pp: 1-48

condicionan la herencia de la tolerancia genética a la mancha gris del maíz en germoplasma tropical.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cinco líneas muy tolerantes (1 S5 y 4 S7) y cinco líneas susceptibles (3 S5 y 2 S7) a la mancha foliar gris del maíz, con endospermo amarillo (Cuadro 1), desarrolladas con germoplasma tropical, se sembraron en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT; Ciudad de Palmira, Valle, Colombia; 965 m de altitud, 76° 33' O y 3° 30' N) en el ciclo agrícola 2002 B (noviembre 2002 a marzo 2003), para generar todas las combinaciones posibles requeridas por el diseño de apareamiento dialélico Tipo Griffing Modelo I, que incluye progenitores e híbridos directos y recíprocos. Las líneas se han desarrollado mediante endogamia y selección directa en la zona cafetera marginal baja de Caicedonia, Valle.

Los 10 progenitores y los 90 híbridos resultantes (45 cruzamientos directos y 45 recíprocos) se sembraron en los ciclos de siembra 2003A (abril 2003 a septiembre 2003) y 2003B (noviembre 2003 a marzo 2004) en tres ambientes: CENICAFE-La Catalina 2003A, Caicedonia 2003A y CENICAFE-La Catalina 2003B.

Para la siembra en campo se agruparon generaciones (progenitores y cruces) y se aleatorizaron independientemente en un diseño experimental de parcelas divididas con tres repeticiones por localidad. Las parcelas mayores fueron los progenitores y cruces, y las parcelas menores fueron las progenies resultantes del cruzamiento directo y de las cruces recíprocas. La unidad experimental consistió en un surco de 5 m separados 80 cm; en cada surco se sembraron 11 matas a 50 cm y se dejaron dos plantas/mata después del raleo para establecer una densidad de población equivalente a 50 000 plantas ha⁻¹.

En adición del potencial de inóculo presente en condiciones naturales y para garantizar una presión uniforme de inóculo, las plantas se inocularon artificialmente con suspensiones de conidias y con polvo infectivo aplicado 15, 30 y 45 d después de la siembra. Las hojas enfermas utilizadas como fuentes de inóculo se recolectaron de seis lotes de agricultores con una infección severa de *Cercospora*. En el caso de la aspersión de conidias, el hongo se aisló en cajas de Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar acidulado con ácido láctico (Tuite, 1969). Una vez que el micelio esporuló, la superficie del medio de cultivo se lavó con agua, la dosis se ajustó a 1.5×10⁴ conidias mL⁻¹ con un hematocitómetro y

type of genetic effects that condition the inheritance of genetic tolerance to gray leaf spot of maize in tropical germplasm.

MATERIALS AND METHODS

Five highly tolerant (1 S5 and 4 S7) and five disease-susceptible maize lines (3 S5 and 2 S7) with yellow endosperm (Table 1), developed with tropical germplasm, were sown in the Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Ciudad de Palmira, Valle, Colombia; 965 m altitude, 76° 33' W and 3° 30' N) in the 2002B agricultural cycle (November 2002 to March 2003), in order to generate all of the possible combinations required for the design of a diallel mating model (Griffing Model 1), which includes parents along with direct and reciprocal crosses. The lines have been developed through inbreeding and direct selection in the low marginal coffee growing region of Caicedonia, Valle.

The 10 parents and the 90 resulting crosses (45 direct and 45 reciprocal crosses) were sown in the crop cycles 2003A (April 2003 to September 2003) and 2003B (November 2003 to March 2004) in three environments: CENICAFE-La Catalina 2003A, Caicedonia 2003A and CENICAFE-La Catalina 2003B.

For the field sowing, three generations were grouped (parents and crosses) and were independently randomized in an experimental split plot design with three replicates per location. The major plots were the parents and crosses, and the minor plots were the resulting progeny of the direct crossing and of the reciprocal crosses. The experimental unit consisted of a row of 5m with 80 cm separation between rows; in each row 11 sites were sown at 50 cm and two plants/site after thinning to establish a population density equivalent to 50 000 plants ha⁻¹.

In addition to the potential of the inoculum present under natural conditions and to guarantee a uniform inoculum pressure, the plants were inoculated artificially with suspensions of conidia and with infective powder applied 15, 30 and 45 d after planting. The diseased leaves used as inoculum sources were collected from six fields of growers with a severe infection of *Cercospora*. In the case of spraying of conidia, the fungus was isolated in Petri dishes with a culture medium of potato-dextrose-agar acidulated with lactic acid (Tuite, 1969). Once the mycelia had sporulated, the surface of the culture medium was washed with water, the dose was adjusted

Cuadro 1. Descripción de las líneas de maíz utilizadas (FENALCE-CIMMYT, 2001; CIMMYT, 2003).
Table 1. Description of the maize lines used (FENALCE-CIMMYT, 2001; CIMMYT, 2003).

Línea	Genealogía	Origen	Reacción a <i>Cercospora</i>
L1	CLA12 = SA3(16X25)-2-1-2-4-4B	PM02A-03	Muy tolerante (T)
L2	CLA105 = SA4HC86-13-1-2-5-2-1-2B	PM02A-03	T
L3	CLA111 = SA4HC86-13-1-2-5-7-4-1B	PM02A-03	T
L4	CLA146 = SA3(14X17)-4-3-5-2-3-2-2	PM02A-03	T
L5	CLA160 = SA3(19X25)-2-6-5-6-1-4-1	PM02A-03	T
L6	CLA 7 = SA3(16X25)-2-1-1-2-4B	PM02A-03	Susceptible (S)
L7	CLA17 = SA3(19X25)-2-6-5-2-4B	PM02A-03	S
L8	CLA37 = SA5(26X21)-4-1-5-6-4B	PM02A-03	S
L9	CLA83 = SA3HC122-1-2-6-1-5-2-3B	PM02A-03	S
L10	CLA154 = SA3(16X25)-2-4-3-1-3-3-1	PM02A-03	S

la suspensión resultante se asperjó en las hojas con una aspersora de mochila, al atardecer, para evitar altas temperaturas. En el caso de la preparación del inóculo con polvo infectivo, las hojas enfermas se secaron a la sombra, se molieron finamente y el polvo resultante se aplicó en los cogollos de las plantas (1 g planta⁻¹). La aplicación del polvo infectivo se hizo 2 ó 3 d después de la aplicación de la suspensión. Para asegurar una producción adicional de inóculo, se sembró un híbrido comercial muy susceptible en surcos de bordo.

Con la experiencia acumulada durante el proceso de selección de las líneas se optó por utilizar el Índice de Enfermedad (IE) por planta con una escala de severidad de la enfermedad de 1 a 5, con subdivisiones de 0.5: 1=muy pocas o prácticamente sin lesiones; 2=escasa presencia de lesiones en el primer tercio inferior de la planta; 3=lesiones moderadas en la hoja que acompaña la mazorca superior y abundantes lesiones en las hojas inferiores a la mazorca; 4=lesiones severas en dos terceras partes del follaje de la planta excluyendo el tercio superior; 5=toda la planta afectada. Esta escala se aplicó en plantas adultas 20 d después de floración con base en la metodología de Thompson *et al.* (1987) y validada por Saghai-Marooif *et al.* (1993).

Los datos del dialélico se analizaron usando el método de Hallauer y Miranda (1981) que combina ventajas de análisis de dialélicos del modelo Gardner y Eberhart (1966) y los de Griffing (1956). Por tratarse de un Modelo I o fijo, ya que las líneas se seleccionaron por su reacción particular de tolerancia o susceptibilidad al complejo *Cercospora* spp., y constituyen la población que se estudiará, el análisis dialélico se restringe a la evaluación de efectos genéticos, especialmente de los valores de aptitud combinatoria general (ACG) y aptitud combinatoria específica (ACE).

Se utilizó el programa SAS y el software GENES para efectuar los análisis de varianza de la variable correspondiente al ID para el complejo *Cercospora* spp., por ambiente y el análisis combinado de los tres ambientes considerados. Se determinó la significancia de los factores principales (ambientes, genotipos, cruzamientos, progenitores vs cruza, ACG y ACE) así como la interacción con ambientes y el cuadrado medio del error del experimento.

El modelo lineal usado en el análisis de cruza dialélicas (método de Hallauer y Miranda, 1981) fue:

$$Y_{ijk} = \mu + li + p_{j(i)} + g_k + g_l + s_{kl} + r_{kl} + lg_{lk} + lg_{ll} + ls_{lk} + lr_{lk} + e_{ijk}$$

donde, μ =media; Y_{ijk} = observación de los cruzamientos en la dirección ijk ; Li = efecto del ambiente i ; $P_{j(i)}$ = efecto de la repetición j en la localidad i ; Gk = efecto de ACG del progenitor k ; Gl = efecto de ACG del progenitor l ; S_{kl} = efecto de ACE del progenitor k y j ; r_{kl} = efecto recíproco de progenitores k y l ($r_{kl} = -r_{lk}$); e_{ijk} = error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de grano (t ha⁻¹) de las líneas progenitoras y sus valores de ID de la enfermedad se muestran en el Cuadro 2.

to 1.5×10⁴ conidia mL⁻¹ with a hemacytometer, and the resulting suspension was sprayed on the leaves with a portable sprayer, at sunset, to avoid high temperatures. In the case of the preparation of the inoculum with infective powder, the diseased leaves were dried in the shade, then finely ground and the resulting powder was applied on the shoots of the plants (1 g plant⁻¹). The application of infective powder was made 2 or 3 d after the application of the suspension. To insure an additional production of inoculum, a very susceptible commercial hybrid was planted in border rows.

With the experience accumulated during the selection process of the lines, it was decided to use the Disease Index (DI) per plant with a disease severity scale of 1 to 5, with subdivisions of 0.5: 1=very few or almost no lesions; 2=scant presence of lesions in the lower first third of the plant; 3=moderate lesions in the leaf of the upper ear and abundant lesions in the leaves below the ear; 4=severe lesions in two thirds of the foliage of the plant excluding the upper third; 5=the entire plant infected. This scale was applied in adult plants 20 d after flowering based on the methodology of Thompson *et al.* (1987) and validated by Saghai-Marooif *et al.* (1993).

The data of the diallel were analyzed using the method of Hallauer and Miranda (1981) which combines advantages of analysis of diallels of the Gardner and Eberhart (1966) model and those of Griffing (1956). Because it is Model 1 or fixed model, given the fact that the lines were selected according to their particular reaction of tolerance or susceptibility to the *Cercospora* spp. complex, and make up the population to be studied, the diallel analysis is restricted to the evaluation of genetic effects, especially of the values of general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA).

The SAS program and GENES software were used to carry out the analysis of variance of the corresponding variable to the DI for the *Cercospora* spp. complex, per environment and the combined analysis of the three environments considered. The significance was determined of the principal factors (environments, genotypes, crosses, parents vs. crosses, GCA and SCA) along with the interaction with environments and the mean square of the experimental error.

The linear model used in the analysis of diallelic crosses (method of Hallauer and Miranda, 1981) was as follows:

$$Y_{ijk} = \mu + li + p_{j(i)} + g_k + g_l + s_{kl} + r_{kl} + lg_{lk} + lg_{ll} + ls_{lk} + lr_{lk} + e_{ijk}$$

where, μ =media; Y_{ijk} = observation of the crosses in the direction ijk ; Li = effect of the environment i ; $P_{j(i)}$ = effect of the repetition j in the locality i ; Gk = effect of the GCA of the parent k ; Gl = effect of the GCA of the parent l ; S_{kl} = effect of the SCA of the parent k and j ; r_{kl} = reciprocal effect of parents k and l ($r_{kl} = -r_{lk}$); e_{ijk} = experimental error.

RESULTS AND DISCUSSION

The grain yield (t ha⁻¹) of the parent lines and their DI values of the disease are shown in Table 2.

Cuadro 2. Rendimiento de grano y reacción a *Cercospora* de 10 líneas progenitoras.
Table 2. Grain yield and reaction to *Cercospora* of 10 parent lines.

Línea	Rendimiento grano (t ha ⁻¹)				ID <i>Cercospora</i>			
	Loc. 1	Loc. 2	Loc. 3	Media 3 Locs.	Loc. 1	Loc. 2	Loc. 3	Media 3 Locs.
CLA12 (T)	2.63	1.15	0.36	1.38	3.5	3.8	3.8	3.7
CLA105 (T)	2.13	0.76	0.80	1.23	2.8	2.5	2.5	2.6
CLA111 (T)	1.80	0.96	1.66	1.47	2.3	1.5	1.2	1.7
CLA146 (T)	1.33	1.86	0.48	1.22	2.8	3.2	2.7	2.9
CLA160 (T)	1.72	1.11	0.48	1.11	2.2	2.0	1.8	2.0
CLA7 (S)	1.80	0.67	0.49	0.98	3.3	3.3	3.2	3.3
CLA17 (S)	1.70	0.57	0.57	0.95	3.5	2.7	2.7	2.9
CLA37 (S)	1.22	0.51	0.21	0.65	4.3	4.2	4.2	4.2
CLA83 (S)	2.41	1.64	0.69	1.58	2.5	2.2	2.3	2.3
CLA154 (S)	1.74	0.37	0.30	0.80	4.5	4.3	3.3	4.1
Media	1.85	0.96	0.60	1.14	3.17	2.97	2.77	2.97
Media T	1.92	1.17	0.76	1.28	2.72	2.60	2.40	2.58
Media S	1.77	0.75	0.45	0.99	3.62	3.34	3.14	3.37

T: muy tolerante; S: susceptible.

Las localidades 1, 2 y 3 corresponden a Caicedonia 2003A, La Catalina 2003A y La Catalina 2003B.

Los análisis de varianza individuales (Cuadro 3) muestran que en los tres ambientes hubo una alta

The analyses of variance of individuals (Table 3) show that in the three environments there was a

Cuadro 3. Análisis de varianza del diseño dialélico por ambiente para Índice de Enfermedad al complejo *Cercospora* spp., en 10 líneas de maíz tropical y sus cruzamientos directos y recíprocos.**Table 3. Analysis of variance of the diallelic design per environment for Disease Index to the *Cercospora* spp. complex in 10 tropical maize lines and their direct and reciprocal crosses.**

Fuente de variación	GL	Ambiente	SC	CM	Fc	Significancia
Repeticiones	2	1	2.36	1.18	5.24	**
		2	4.65	2.32	11.15	**
		3	1.30	0.65	3.17	*
Genotipos	99	1	109.33	1.104	4.9	**
		2	130.42	1.317	6.33	**
		3	109.38	1.105	5.39	**
Padres	9	1	20.06	2.22	9.86	**
		2	27.91	3.10	14.9	**
		3	25.48	2.83	13.8	**
P vs C	1	1	0.156	0.156	0.69	NS
		2	0.003	0.003	0.01	NS
		3	0.181	0.181	0.88	NS
Cruzas	89	1	89.11	1.00	4.44	**
		2	102.5	1.15	5.52	**
		3	83.72	0.94	4.58	**
Directas	44	1	85.79	1.95	8.66	**
		2	97.62	2.22	10.6	**
		3	76.38	1.73	8.43	**
ACG	9	1	54.97	6.10	27.1	**
		2	64.03	7.11	34.1	**
		3	58.82	6.53	31.85	**
ACE	35	1	29.02	0.82	3.64	**
		2	33.42	0.95	4.56	**
		3	16.91	0.48	2.34	**
Recíprocas	45	1	5.11	0.11	0.488	NS
		2	5.05	0.112	0.53	NS
		3	7.99	0.178	0.86	NS
Error	198	1	44.63	0.225		
		2	41.34	0.208		
		3	40.69	0.205		

CV(%) Ambientes 1, 2 y 3: 16, 14 y 16.

Medias de infección en ambientes 1, 2 y 3: 2.9, 3.2 y 2.9.

significancia de varios componentes de variación, incluyendo genotipos, representado por la variación entre cruzas con efectos de mayor magnitud debida a los cruzamientos directos. Los componentes estadísticamente no significativos fueron progenitores vs cruzas y el efecto de los cruzamientos recíprocos.

Al descomponer los efectos de ACG y ACE en cada ambiente, la magnitud de los cuadrados medios también fueron significativos, lo que concuerda con Coates y White (1998) quienes indican que la ACG y ACE fueron significativas para las líneas estudiadas. En el grupo de líneas tropicales utilizadas en el presente estudio, los efectos de ACG son mayores que los del componente ACE y recíprocos; es decir, en estas líneas debe primero agotarse la varianza genética aditiva debida a ACG, para luego aprovechar la ACE en cruzamientos específicos.

Aun con la variación observada entre genotipos en los tres ambientes, las medias de IE fueron cercanas a un valor de 3 (en escala 1 a 5) lo que indica un alto nivel de infección en los ambientes.

El análisis de varianza combinado (Cuadro 4) también atribuyó una porción significativa de la variación a los genotipos. Las líneas son bastante homocigóticas y no hay una población referencia para realizar inferencias. Por tanto, cada progenitor constituye una población sobre la que se deriva información genética y, siendo un modelo fijo, la evaluación se restringe a estimar efectos de ACG y ACE según lo establecido por Hallauer y Miranda (1981). Los cuadrados medios para cada efecto genético fueron altamente significativos, aunque la magnitud de los cuadrados medios para ACG fueron 11 veces mayores que el componente de ACE o los efectos recíprocos.

Al combinar genotipos (modelo fijo) con ambientes (modelo aleatorio), el modelo se convirtió en mixto y la prueba de los factores principales de la variación (genotipos, progenitores, progenitores vs cruzas, cruzas directas, cruzas recíprocas, ACG y ACE) se realizó usando como denominador la interacción por ambiente correspondiente. En este caso, los componentes resultaron altamente significativos ($p \leq 0.01$), incluyendo los efectos de cruzamientos recíprocos, exceptuando solamente progenitores vs cruzas. Cuando las interacciones se probaron con el Cuadrado Medio del Error (CME), todas las interacciones fueron altamente significativas, excepto en progenitores \times ambiente y cruzas recíprocas \times ambiente.

Los efectos de ACG (Cuadro 5) fueron negativos y significativamente diferentes de cero para tres de las cinco líneas altamente tolerantes a *Cercospora*, cuyo orden fue CLA 111, CLA 105 y CLA 160, lo que significa que estas líneas fueron las de mayor tolerancia a la enfermedad. Además, las medias del IE de

high significance of various components of variation, including genotypes, represented by the variation among crosses with effects of greater magnitude due to the direct crosses. The components that were not statistically significant were parents vs. crosses and the effect of the reciprocal crosses.

As the effects of GCA and SCA were analyzed in each environment, the magnitude of the mean squares was also significant, which concurs with Coates and White (1998), who indicate that the GCA and SCA were significant for the lines studied. In the group of tropical lines used in the present study, the effects of GCA are greater than those of the SCA component and are reciprocal; that is, in these lines the additive genetic variance due to GCA should first be exhausted, to later utilize the SCA in specific crosses.

Even with the variation observed among genotypes in the three environments, the means of DI were close to a value of 3 (on a scale of 1 to 5), which indicates a high level of infection in the environments.

The combined analysis of variance (Table 4) also attributed a significant portion of the variation to the genotypes. The lines are highly homozygotic, and there is no reference population for making inferences. Therefore, each parent constitutes a population on which genetic information is derived, and being a

Cuadro 4. Análisis de varianza combinado de tres ambientes, para Índice de Enfermedad en *Cercospora* spp., de cruzas dialélicas posibles entre 10 líneas de maíz tropical.

Table 4. Combined variance analysis of three environments, for Disease Index in *Cercospora* spp. of possible diallelic crosses among 10 tropical maize lines.

Fuente de variación	GL	SC	CM	Fc	Prob.
Ambiente	2	12.42	6.21	4.48	ns
Rep (Amb.)	6	8.32	1.39		
Genotipos	99	281.94	2.85	8.39	***
P vs C	1	0.25	0.25	0.07	ns
Padres	9	59.29	6.59	25.69	***
Cruzas	89	222.40	2.50	8.01	***
Directas	44	213.19	4.85	9.09	***
ACG	9	158.48	17.61	16.38	***
ACE	35	54.71	1.56	3.97	***
Recíproca	45	9.21	0.20	2.15	***
Amb. \times Genotipos	198	67.20	0.34	1.59	***
P vs C \times Amb.	2	7.08	3.54	16.60	***
Amb. \times Padres	18	4.62	0.26	1.20	ns
Amb. \times Cruzas	178	55.50	0.31	1.46	***
Directas \times Amb.	88	46.91	0.53	2.50	***
ACG \times Amb.	18	19.35	1.07	5.04	***
ACE \times Amb.	70	27.57	0.39	1.85	***
Recíproca \times Amb.	90	8.58	0.10	0.45	ns
Error	594	126.68	0.21		
TOTAL	899	496.55			
CV (%)			15		
Media			3.02		

Cuadro 5. Efectos de aptitud combinatoria general y media del Índice de Enfermedad por *Cercospora*.
Table 5. Effects of general combining ability and mean of Disease Index for *Cercospora*.

Progenitor	Línea	Ambiente 1	Ambiente 2	Ambiente 3	Combinado	
					ACG	Media del IE
G (1)	CLA 12	-0.046	0.241	0.178	0.1337	3.7
G (2)	CLA105	-0.383	-0.0258	-0.364	-0.3287	2.6
G (3)	CLA111	-0.690	-0.577	-0.627	-0.6225	1.7
G (4)	CLA146	0.047	-0.183	0.147	0.0025	2.9
G (5)	CLA160	-0.115	-0.146	-0.289	-0.185	2.0
G (6)	CLA7	0.409	0.072	0.166	0.2087	3.3
G (7)	CLA17	0.297	0.216	-0.008	0.1587	2.9
G (8)	CLA37	0.322	0.466	0.616	0.4649	4.2
G (9)	CLA83	-0.177	-0.377	-0.258	-0.2725	2.3
G (10)	CLA154	0.335	0.547	0.441	0.4399	4.1
DP (Gi):		0.065	0.062	0.062	0.036509	
DP (Gi-Gj):		0.096	0.092	0.09	0.054424	

dichas líneas fueron 1.7, 2.6 y 2.0, mientras que la media general de infección fue 3.02. Con excepción de la línea CLA83, los progenitores susceptibles mostraron valores positivos de ACG; las líneas CLA37 y CLA154 fueron las más susceptibles, con valores de 4.2 y 4.1.

La varianza de los efectos estimados de ACG [DP(gi)=0.03] y de la diferencia entre dos estimadores de ACG [DP(Gi-Gj)=0.05] confirman la validez estadística (en valor absoluto) de estas estimaciones que fueron muy disímiles entre los progenitores.

Los efectos de ACE (Cuadro 6, arriba de la diagonal) indicaron que los cruzamientos no necesariamente obedecieron a las expectativas basadas en el comportamiento promedio de los progenitores. Así, sólo una de las combinaciones específicas estuvo formada por ambos progenitores resistentes (L1×L2, que correspondió a CLA 12×CLA 105) en el cual no hay efecto materno como se verifica con el recíproco. Las otras combinaciones específicas sobresalientes estuvieron conformadas por la combinación entre una

fixed model, the evaluation is restricted to estimating effects of GCA and SCA according to what was established by Hallauer and Miranda (1981). The mean squares for each genetic effect were highly significant, although the magnitude of the mean squares for GCA was 11 times greater than the SCA component or the reciprocal effects.

When genotypes were combined (fixed model) with environments (random model), the model became mixed and the test of the principal factors of the variation (genotypes, parents, parents vs. crosses, direct crosses, reciprocal crosses, GCA and SCA) was conducted using the interaction per corresponding environment as denominator. In this case, the components were highly significant ($p \leq 0.01$), including the effects of reciprocal crosses, with the exception only of parents vs. crosses. When the interactions were tested with the Mean Square Error (MSE), all of the interactions were highly significant, except in parents×environment and reciprocal crosses×environment.

Cuadro 6. Efectos de aptitud combinatoria específica y recíprocos en la respuesta a infección por *Cercospora* spp., de 10 líneas de maíz tropical.

Table 6. Effects of specific and reciprocal combining ability in the response to the infection by *Cercospora* spp. of 10 tropical maize lines.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		-0.63	-0.09	0.03	-0.27	0.47	0.07	-0.27	0.30	0.39
2	0.00		0.42	0.14	-0.21	0.38	0.08	-0.07	-0.08	-0.04
3	-0.25	-0.09		0.33	-0.07	-0.46	0.28	-0.17	0.01	-0.25
4	0.00	0.05	0.05		0.20	-0.49	0.11	-0.09	-0.01	-0.22
5	0.00	0.00	0.05	-0.05		0.04	0.19	0.08	-0.22	0.26
6	-0.05	0.39	0.05	-0.05	-0.10		-0.09	0.09	-0.06	0.12
7	-0.10	-0.15	-0.05	0.00	0.00	0.00		-0.10	-0.11	-0.42
8	-0.25	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.05		0.27	0.26
9	0.00	0.05	0.15	0.05	-0.05	0.10	0.00	-0.20		-0.09
10	0.09	0.00	0.20	-0.05	0.05	0.00	0.00	0.20	0.00	

línea tolerante con una línea susceptible (*i.e.*, L3×L6 y L4×L6), e incluso por combinaciones entre progenitores susceptibles L7×L10 y cruza donde se esperaría una mayor contribución de tolerancia de la línea 3 (CLA 111) que registró el más bajo ID a través de localidades.

Las estimaciones de efectos recíprocos (Cuadro 6, abajo de la diagonal) se reparten proporcionalmente: una tercera parte fue negativa, otra positiva y la fracción restante igual a cero, lo que explicaría, al menos parcialmente, la pequeña magnitud comparativa que exhibió el cuadrado medio de efectos recíprocos (0.2) en el análisis de varianza (Cuadro 3) en comparación con los cuadrados medios para ACG y ACE. Pero, dado que alcanzó una diferencia estadística altamente significativa, no se debe descartar que, adicional a los efectos genéticos del núcleo, haya efectos maternos o citoplásmicos en los materiales con resistencia a *Cercospora*, porque Huff *et al.* (1988) consideraron que estos efectos tenían menor importancia que los de ACG y ACE, a pesar de los efectos recíprocos significativos.

CONCLUSIONES

En las líneas de maíz tropical evaluadas, la acción génica aditiva es de mayor importancia en la determinación de la tolerancia al complejo de *Cercospora* spp. La mejor combinación específica estuvo formada por dos líneas muy tolerantes: CLA12 y CLA105. Líneas con alto nivel de tolerancia no necesariamente producen híbridos tolerantes; además, no se debe descartar la influencia de efectos maternos o citoplásmicos. La acumulación de genes de tolerancia mediante mejoramiento poblacional y la generación de sintéticos con alto grado de tolerancia ofrecen una alternativa para programas de mejoramiento de maíz tropical con tolerancia genética a este complejo patogénico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Ing. Freddy Salazar, Investigador Asistente del Programa Suramericano de Maíz del CIMMYT; al Ing. Roberto Tisnés Mejía, de la Asociación de Productores ASOGRANDE, Caicedonia, Depto. Valle y al Ing. José Darío Arias, Director de la Subestación Experimental La Catalina de CENICAFE, Pereira, Depto. Risaralda.

LITERATURA CITADA

- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2003. Reporte Anual, Programa Suramericano de Maíz. CIMMYT/CIAT. Palmira, Colombia. 77 p.
- Coates, S. T., and D. G. White. 1998. Inheritance of resistance to gray leaf spot in crosses involving selected resistant inbred lines of corn. *Phytopathology* 88: 972-982.

The effects of GCA (Table 5) were negative and significantly different from zero for three of the five lines highly tolerant to *Cercospora*, whose order was CLA 111, CLA 105 and CLA 160, which means that these lines were those of highest tolerance to the disease. In addition, the means of the DI of these lines were 1.7, 2.6 and 2.0, whereas the general mean of infection was 3.02. Except for line CLA83, the susceptible parents showed positive values of GCA; lines CLA37 and CLA154 were the most susceptible, with values of 4.2 and 4.1.

The variance of the estimated effects of GCA [DP(gi)=0.03] and of the difference between two estimators of GCA [DP(Gi-Gj)=0.05] confirm the statistical validity (in absolute value) of these estimations which were very different among the parents.

The effects of SCA (Table 6, above the diagonal) indicated that the crosses did not necessarily conform to the expectations based on the average behavior of the parents. Thus, only one of the specific combinations was formed by both resistant parents (L1×L2, which corresponded to CLA 12×CLA 105) in which there is no maternal effect as is verified with the reciprocal cross. The other outstanding specific combinations were comprised by the combination between a tolerant line and a susceptible line (*i.e.*, L3×L6 and L4×L6), and even by combinations among susceptible parents L7×L10 and crosses where a higher contribution of tolerance would be expected of line 3 (CLA 111), which registered the lowest DI through localities.

The estimations of reciprocal effects (Table 6, below the diagonal) are proportionally distributed: a third part was negative, another was positive and the rest was equal to zero, which would explain, at least in part, the small comparative magnitude exhibited by the mean square of reciprocal effects (0.2) in the variance analysis (Table 3) compared with the mean squares for GCA and SCA. However, given that a highly significant difference was reached, the possibility should not be overlooked that, in addition to the genetic effects of the nucleus, there are maternal or cytoplasmic effects in the materials with resistance to *Cercospora*, as Huff *et al.* (1988) considered that these effects had less importance than those of GCA and SCA, in spite of the significant reciprocal effects.

CONCLUSIONS

In the tropical maize lines evaluated, the additive genetic action is of major importance in the determination of tolerance to the *Cercospora* spp. complex. The best specific combination was formed by

- FENALCE-CIMMYT (Federación Nacional de Cerealistas-CIMMYT). 2001. Búsqueda de resistencia genética a la mancha gris del maíz (*Cercospora zea-maydis*) en maíz tropical en Colombia. Fondo Parafiscal de Importación de Cereales y Leguminosas. FENALCE. Bogotá. Proyecto 58. 13 p.
- Gardner, C. O., and S. A. Eberhart. 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics* 22:439-452.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel-crossing system. *Aust. J. Biol. Sci.* 9: 463-493.
- Hallauer, A. R., and J. B. Miranda F. 1981. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Iowa St. Univ. Press. Ames, IA. 468 p.
- Huff, C. A., J. E. Ayers, and R. R. Hill, Jr. 1988. Inheritance of resistance in corn (*Zea mays*) to gray leaf spot. *Phytopathology* 78: 790-794.
- Saghai-Maroo, M. A., S. W. Vancoyoc, G. Y. Yu, and E. L. Stromberg. 1993. Gray leaf spot disease of maize: Rating methodology and inbred line evaluation. *Plant Dis.* 77: 583-587.
- Thompson, D. L., R. R. Berquist, G. A. Payne, D. T. Bowman, and M. M. Goodman. 1987. Inheritance of resistance to gray leaf spot in maize. *Crop Sci.* 27: 243-246.
- Tuite, J. 1969. *Plant Pathological Methods*. Burgess Publ. Co. Minneapolis, Minn. 239 p.
- Varón de A., F. 1999. Conozca la mancha gris del maíz (*Cercospora zea-maydis*). Public. FENALCE-ICA, Palmira. Lab. Diagnóstico Sanidad Vegetal, ICA. 3 p.
- two highly tolerant lines: CLA12 and CLA105. Lines with high tolerance level do not necessarily produce tolerant hybrids; furthermore, the influence of maternal or cytoplasmic effects should not be discarded. The accumulation of tolerance genes through population breeding and the generation of synthetics with a high degree of tolerance offer an alternative for breeding programs of tropical maize with genetic tolerance to this pathogenic complex.

—End of the English version—



- Varón de A., F., C. De León, C. A. Huertas, O. R. Grajales y H. Vanegas. 2001. Mancha anular, nueva enfermedad foliar del maíz en el Valle del Cauca. *Asoc. Colombiana de Fitopatología (ASCOLFI)* 27: 24-25.
- Ward, J. M. J., E. L. Stromberg, D. C. Nowell, and F. W. Nutter. 1999. Gray leaf spot: a disease of global importance in maize production. *Plant Dis.* 83: 884-894.