

Resistencia al polvillo de la caña (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. y Henn.) inducida por mutagénicos en trigo (*Triticum aestivum* L.) variedad Orofén¹

Carmen Sanz de Cortázar² y Ernesto Hacke E³

INTRODUCCION

En los últimos años se ha escrito mucho sobre la inducción artificial de mutaciones como método de mejoramiento. Algunos autores consideran que en especies antiguas como el trigo, con gran cantidad de material en estudio y muchos años de observaciones, es más difícil inducir caracteres novedosos aún no encontrados en la naturaleza que en especies recientemente incorporadas a la agricultura (6). Sin embargo, hay común acuerdo en que el empleo de este método es recomendable en diversos tipos de plantas para provocar cambios en algún gene o en algunos de los genes de un sistema poligénico, creando variabilidad genética utilizable directamente o en combinación con otras fuentes de germoplasma. Este método de Mejoramiento de Combinación ha sido utilizado con éxito por varios mejoradores de plantas (1), (4), (9), (12).

Se ha obtenido hasta ahora una infinidad de mutaciones útiles inducidas tanto por irradiaciones como por mutagénicos químicos. Sin embargo, muchos científicos ven mejores esperanzas en el uso de agentes químicos por ser su acción específica y porque, hasta el momento, han producido más mutaciones por cambios en el gene (puntiformes) con pocos rompimientos cromosomales (7).

En el presente trabajo, realizado sólo con un propósito preliminar, se han usado cuatro agentes mutagénicos químicos para tratar de inducir "resistencia de planta adulta" a un aislamiento, muy virulento del polvillo de la caña (*Puccinia*

graminis Pers. f. sp. *tritici* Eriks. y Henn.) en el trigo de pan (*Triticum aestivum* L.), variedad Orofén. Se eligió esta variedad por ser de buena adaptación y de gran capacidad de rendimiento en las regiones norte y central del país, aunque muy susceptible al polvillo de la caña.

Los mutagénicos elegidos, colchicina, etilenimina (EI), metil-etil-sulfonato (MES) e hidracida maleica (HM), han demostrado ser agentes muy activos en la producción de mutaciones.

La colchicina, alcaloide bloqueador de la formación del huso en la mitosis y considerada como el mejor agente poliploidizador, al ser usada bajo ciertas condiciones ha producido mutaciones diploides en sorgo y en otras especies (3). La etilenimina y el metil-etil-sulfonato son agentes muy usados en la actualidad por la alta frecuencia con que provocan mutaciones puntiformes (1), (2). La hidracida maleica, isómero estructural del uracil, es también un potente mutagénico productor de rompimientos o aberraciones cromosomales (5).

MATERIAL Y METODOS

La variedad Orofén usada en este trabajo es un trigo hexaploide con un número cromosomal de $2n = 42$ (21 pares). La semilla pura de esta variedad fue obtenida del Programa de Mejoramiento de Trigo del Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Su pureza fue comprobada por ausencia de tipos extraños y por su reacción susceptible muy uniforme a un aislamiento puro de polvillo (Cuadro 1).

Los cuatro mutagénicos usados se probaron, en forma tentativa, con las siguientes técnicas: la colchicina se aplicó al 2% en emulsión con lanolina (10) sobre coleóptilos con un desarrollo de 2 a 5 mm. provenientes de semillas sembradas muy superficialmente sobre tierra húmeda en maceteros. La etilenimina se usó en

¹Recepción manuscrito: 16 de junio de 1969.

²Ing. Agr. M. S. Estación Experimental La Platina. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Ing. Agr. Proyecto Trigo. Estación Experimental La Platina. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

una solución acuosa al 0,03% (2); el metil-etil-sulfonato, en una solución acuosa al 0,5% (2), y la hidrácida maleica, en una solución acuosa al 0,012% (5). Estos tres últimos tratamientos se hicieron por espacio de 18 horas y se aplicaron directamente sobre semilla sin remojar, a la temperatura de 27°C. Después de los tratamientos la semilla fue lavada con agua destilada entre 30 y 60 minutos y sembrada en el invernadero en maceteros con tierra húmeda.

Cuadro 1 — Reacciones del inóculo empleado y de la raza 15 B clásica.

Variedad diferencial	R E A C C I O N	
	Inóculo usado	R. 15 B Clásica (b)
1.—Little Club	4 (a)	4
2.—Marquis	4	4 ⁻
3.—Reliance	4	4 ⁼
4.—Kota	4 ⁻	3 ⁺⁺
5.—Arnautka	4	4 ⁼
6.—Mindum	4	4 ⁼
7.—Spelmar	4	4 ⁼
8.—Kubanka	4	3 ⁺⁺
9.—Acme	4	3 ⁺⁺
10.—Einkorn	4	3 ⁺⁺
11.—Vernal	4	4 [±]
12.—Khapli	0	1 ⁼
13.—Lee	x	3-4
14.—Orofén	4	—

- (a) 0 = Inmune
 1 = Resistente
 2 = Moderadamente resistente
 x = Reacción mesotética
 3 = Moderadamente susceptible
 4 = Susceptible

(b) Según Stakman, E. C., Stewart D. M. y Loegering. W. Q. (11).

El tratamiento con colchicina se aplicó a 250 coleoptilos, y cada uno de los tres restantes se hizo sobre 50 semillas (Cuadro 2).

Las plantas sobrevivientes a estos tratamientos fueron cultivadas en invernadero hasta la madurez. Aquellas que presentaron síntomas de poliploidia fueron analizadas citológicamente. Se hicieron observaciones cromosomales usando

el método de frotis con aceto-carmin en las células madres de los granos de polen.

Las plantas de las generaciones M1 y M2 fueron cultivadas en maceteros en invernadero y cosechadas individualmente para su estudio citogenético y fitopatológico.

Para la obtención del inóculo puro, se inocularon previamente nueve series de las variedades diferenciales de Stakman (11), más las variedades Lee y Orofén, con muestras de polvillo recolectadas en la Estación Experimental La Platina. Todas las plántulas de Orofén dieron reacciones de susceptibilidad, pero el inóculo empleado en una de las series sobrepasó en virulencia y pureza a los demás. De esta serie se separaron de la variedad Orofén, mediante una espátula, cinco uredosoros de reacción del tipo 4.

Cada uno de ellos se incrementó separadamente en esta misma variedad y se comprobó su pureza en series diferenciales. De estos cinco aislamientos uredosóricos se eligió uno, para ser usado en este trabajo.

De acuerdo con las reacciones producidas en las variedades diferenciales de Stakman (11), dicho aislamiento es un biotipo que se asemeja a la raza 15 B clásica, excepto en su reacción sobre Lee (Cuadro 1). En esta variedad el inóculo empleado provoca una reacción mesotética, en vez de la reacción característica de moderada susceptibilidad a susceptibilidad.

Con este aislamiento se inocularon diez plántulas M₂, provenientes de las plantas M₁ sobrevivientes a los tratamientos con mutagénicos, cuando las plántulas tenían una sola hoja de 8 cm. de altura. La inoculación, hecha con espátula, se hizo con uredosporas obtenidas de plántulas y plantas adultas infectadas de la variedad Orofén. Se hace presente que el material tratado con mutagénicos se inoculó primeramente en estado de plántula, no obstante que el objetivo básico de esta investigación fue inducir resistencia de planta adulta del trigo al polvillo, pues se ha podido comprobar que existe buena correlación del comportamiento en estado de plántula y en estado adulto a dicha enfermedad (8).

Las plántulas inoculadas se colocaron por espacio de 20 horas a 10°C en cámara de incubación con 100% de humedad relativa y se llevaron a mesones del invernadero, donde se mantuvieron a 22-24°C.

A las dos semanas se leyeron las reacciones y se anotó el número de plántulas resistentes y susceptibles. Las susceptibles se eliminaron.

Cuadro 2 — Material tratado con mutagénicos e inoculado con un aislamiento de *Puccinia graminis tritici*.

Tratamientos	Material tratado	Nº de plantas adultas M_1 sobrevivientes	Plántulas M_2 inoculadas Susceptibles	Resistentes
Colchicina 2%	250 coleoptilos	100	987	13
Etilen-imina 0,03%	50 semillas	25	249	1
Metil-etil-sulfonato 0,5%	50 semillas	26	260	—
Hidracida maleica 0,012%	50 semillas	25	250	—
Sin tratamiento	40 semillas	40	176	—

En cuanto al material resistente, hubo plántulas de reacción 0 y otras de los tipos 1 y 2. Estas últimas se reinocularon en estado adulto. Aquellas de reacción 0 se inocularon por segunda vez al estado de plántula para tener la certeza de que no se trataba de escape a la enfermedad. Sólo aquellas plántulas que demostraron nuevamente reacción 0 fueron inoculadas en estado adulto, al comienzo de la espigadura.

La inoculación e incubación de las plantas adultas se realizó en forma similar a la descrita anteriormente.

RESULTADOS

El resultado de los distintos tratamientos se presentan en el Cuadro 2. De las plantas tratadas con colchicina, el 60% murió en alguna época de su desarrollo sin alcanzar a producir semilla. De estas plantas, un 82% presentaba algún signo de poliploidía, con marcado retraso en su desarrollo y engrosamiento de sus tejidos. Los análisis citológicos demostraron que todas las plantas que semillaron eran hexaploides.

En los tres tratamientos restantes no se presentaron síntomas de poliploidía, pero sólo un 50% de la semilla tratada llegó a producir plantas adultas, debido probablemente al efecto de los mutagénicos sobre la germinación y desarrollo de las plántulas.

El resultado de las inoculaciones fue bastante satisfactorio, pues tanto las plántulas M_2 como los testigos acusaron como promedio 12 pústulas por plántula.

Con el material y las técnicas mutagénicas usadas se obtuvieron dos plantas resistentes de 250 coleoptilos tratados con colchicina y una planta de 50 semillas tratadas con etilen-imina.

DISCUSION Y CONCLUSION

En este trabajo no se han pretendido analizar todas las mutaciones producidas en diferentes caracteres de las plantas tratadas, sino que se ha considerado solamente el carácter "resistencia de planta adulta" de la variedad de trigo Orofén a un aislamiento muy virulento del polvillo de la caña.

Las inoculaciones en la generación M_2 indicaron resistencia de planta adulta al inóculo empleado en dos plantas derivadas de los tratamientos con colchicina y en una del tratamiento con etilen-imina (identificadas como C-2, C-100 y EI-16, respectivamente). Estas plantas M_1 disociaron en su descendencia y dieron resistencia de planta adulta en un total de 8 plantas M_2 del tratamiento con colchicina y en una del tratamiento con etilen-imina (Cuadro 3). Resultados similares a los del presente trabajo se han obtenido en sorgo con colchicina (3) y en trigo candeal (*Triticum durum*) con etilen-imina (2). Sin embargo, no se presentaron cambios de resistencia en aquellas plantas provenientes de semillas tratadas con metil-etil-sulfonato o con hidracida maleica, a pesar del éxito alcanzado con estos agentes por otros científicos (2), (5).

Aunque el presente trabajo tiene sólo naturaleza exploratoria, es necesario recalcar que el material experimental con que se ha trabajado (número de coleoptilos o semillas) es muy reducido. Será necesario verificar estos resultados usando poblaciones más numerosas y condiciones de tratamientos más precisas y controladas. La ausencia de efectos mutagénicos en los tratamientos con MES y con HM podría deberse, por una parte, a la reducida cantidad de semillas tratadas, como también a dosis inadecuadas, a la influencia de las condiciones de temperatura, pH o duración de los tratamientos.

Cuadro 3 — Reacción de plántula y planta adulta en las progenies M_2 derivadas de 3 plantas mutantes M_1 inoculadas con un aislamiento uredosórico semejante a la raza 15 B de *Puccinia graminis tritici*.

Tratamiento	Plantas M_1 que dieron plantas M_2 resistentes	Nº de plántulas inoculadas en M_2 de cada mutante	Nº de plántulas M_2		Nº de plantas adultas M_2 Resistentes
			Resis- tentes (a)	Suscep- tibles (b)	
Colchicina 2%	1 (C-2)	10	6	4	2
	1 (C-100)	10	7	3	6
Etilen-imina 0,03%	1 (EI-16)	10	1	9	1
Testigos		176 (c)	0	176	0

(a) Resistentes: Notas 0-2

(b) Susceptibles: Notas 3, 4 y x

(c) Número total de testigos

RESUMEN

Se usaron cuatro mutagénicos químicos: colchicina, etilen-imina (EI), metil-etil-sulfonato (MES) e hidracida maleica (HM) para tratar de inducir resistencia de planta adulta a un aislamiento muy virulento de un biotipo semejante a la raza 15 B clásica (11) del polvillo de la caña (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. y Henn.) en el trigo de pan (*Triticum aestivum* L.) variedad Orofén.

Se obtuvieron 2 plantas resistentes provenientes de 250 coleóptilos tratados con colchicina, y 1 planta proveniente de 50 semillas tratadas con etilen-imina (EI).

SUMMARY

Four chemical mutagens: colchicine, ethyleneimine (EI), ethylmethanesulfonate (EMS) and maleic hydrazide (MH) were used to induce adult plant resistance to a virulent isolate of a biotype similar to that of the classical 15 B (11) of stem rust (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. and Henn.) in spring wheat (*Triticum aestivum* L.), cult. Orofén.

Two resistant plants were obtained from 250 coleoptiles treated with colchicine, and 1 plant from 50 seeds treated with ethyleneimine (EI).

LITERATURA CITADA

1. DOMMERGUES, P. Mutagenèses expérimentale. Ann. D'Amélior. Plantes, 12 (1) :67-68. 1962.
2. EDWARDS, L. H. and WILLIAMS, N. D. Mutagenic and chromosomal effects of X-rays and alkylating chemicals on *Triticum durum* Desf. "Lakota". Crop. Sci. 6 (3) :271-272. 1966.
3. FRANZKE, C. J. and ROSS, J. G. Colchicine-induced variants in sorghum. J. Hered. 43:107-115. 1952.
4. GAUL, H. Use of induced mutants in seed propagated species. In Symp. on Mutation and Plant Breeding. Washington D.C. NAS-NRC. Publication 891. 1961. pp. 206-251.
5. GRANT, W. F. and HARNEY, P. M. Cytogenetic effects of maleic hydrazide treatment of tomato seed. Canad. J. Genet. Cyt. 2:162-174. 1960.
6. GREGORY, W. C. The efficacy of mutation breeding. In Symp. on Mutation and Plant Breeding. Washington D. C. NAS-NRC. Publication 891. 1961. pp. 461-486.
7. ———— Mutation Breeding. In Plant Breeding. Kenneth J. Frey ed. Ames, Iowa, Univ. Press. 1966. pp. 189-218.
8. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. Tercera Memoria Anual. Santiago, Chile, I. I. A. 1967. p. 116.
9. MAC KEY, J. Mutation breeding in Europe. Brookhaven Symp. in Biol. 9:141-156. 1956.
10. SEARS, E. R. Amphidiploids in seven chromosome tritinae. Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 336. 1941. 46 p.
11. STAKMAN, E. C., STEWART, D. M. and LOEGERING, W. Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. Washington D.C. U.S.D.A. ARS. E 617. 1962. 53 p.
12. WALLACE A. T., Mutagenic agents. Agric. Sci. Rev. 2(2):1-8. 1964.