

## EFFECTO DE LA IRRADIACION DE SEMILLAS SOBRE LA AUTOFERTILIDAD EN TREBOL ROSADO\*

JORGE SILVA FUENTES  
Ingeniero Agrónomo M. S.

### INTRODUCCION

La investigación aplicada al mejoramiento de las plantas ha estado siempre basada en el aprovechamiento de la variabilidad natural. Después del descubrimiento de que las radiaciones pueden producir cambios genéticos en las plantas y animales, ha sido posible aumentar esta variabilidad y gracias a ello, poner al alcance del genetista un mayor número de caracteres que lo que antes era posible.

El Trébol rosado (*Trifolium pratense L.*), a semejanza de la mayoría de las otras leguminosas es una especie de polinización cruzada, entomófila y altamente autoesteril. Debido a esta dificultad para autofecundar las plantas de trébol rosado, ha sido hasta la fecha prácticamente imposible obtener líneas autofecundadas que harían el mejoramiento de esta especie más rápido.

### REVISION BIBLIOGRAFICA

La "Teoría de los Factores Antagónicos" ha sido enunciada a fin de explicar la dificultad que existe para autofecundar las plantas de trébol rosado, así como también de otras especies\* (2) (9). Evidencia presentada por Williams y Silow (11), Nidjan (5), Williams (10) y Williams (12) ha demostrado que una serie de alelomorfos múltiples, de los cuales sólo dos pueden ser llevados por una planta diploide, son responsables de la autoesterilidad y de la esterilidad en muchas cruces. Estos alelomorfos controlan la velocidad de crecimientos del tubo del polén en el estilo y su acción es antagónica. Esto significa que sólo los tubos de polén que llevan alelomorfos diferentes son capaces de llegar al ovario y efectuar la fecundación. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias, algunas

---

\* Trabajo presentado a la Universidad de Kentucky para optar al Título de Master of Science en Agricultura.

\* Los números entre paréntesis, se refieren a la literatura consultada.

plantas que llevan alelomorfos idénticos producen unas pocas semillas, debido probablemente a la falta de inhibición de los tubos de polen por el estilo. Este fenómeno ha sido llamado pseudo-autofertilidad y la progenie de estas semillas no es verdaderamente autofértil. Por otro lado se ha demostrado que es posible obtener plantas completamente autofértiles (6), (11), (12), que serían aquellas que llevan el alelomorfo para autofertilidad (Sf) que hace a las plantas portadoras completamente autofértiles. Con excepción de estas últimas plantas, todas las demás plantas de trébol rosado son casi completamente autoestériles o ligeramente pseudo-autofértiles.

Se ha demostrado también que normalmente se producen en forma espontánea mutaciones, con frecuencia que pueden variar entre 10-5 y 10-7 para cualquier gene (1), (3), (8). Esta cifra puede aumentarse, según también se ha demostrado (1), (3) en varios miles de veces por medio de la acción de varios agentes, tales como productos químicos o irradiación. De aquí se puede asumir que las mutaciones del gene S, el cual se ha comprobado es capaz de mutar espontáneamente (4), (7), pueden también aumentarse considerablemente con el empleo de radiaciones. La ventaja del estudio de este gene es que si las mutaciones se producen, pueden identificarse con relativa facilidad por una nueva autofecundación de la semilla producida.

En consecuencia los objetivos de este estudio fueron: (1). Verificar la ocurrencia del gene S en el trébol rosado. (2). Determinar la magnitud y cuan difundida está la autofertilidad en el trébol rosado, al comparar variedades de diferente origen. (3). Comprobar el posible efecto de la irradiación en el incremento de la cantidad de autofertilidad y (4). Dar especial énfasis al porcentaje de semilla producida por pseudo-autofertilidad, en comparación a la producida por verdadera autofertilidad.

#### MATERIAL Y METODOS

Semillas de la variedad Kenland y de la selección Curicó (PF.3064) de trébol rosado, fueron irradiadas en 1959 en el Laboratorio Nacional de Oak Ridge en cooperación con la Universidad de Tennessee, con 30.000 y 100.000 unidades roentgen de rayos gama. Aproximadamente 7.000 plantas fueron autofecundadas en el potrero cubriéndolas con una bolsa de género y refregando las cabezuelas entre los dedos, sin remover la bolsa, a fin de facilitar la autofecundación. Se contó además con alrededor de 200 clones de la variedad Kenland de primera y segunda generación ( $X_1$  y  $X_2$ )\* proveniente de semilla irradiada en 1956 y 1957, en otro estudio, con 30.000; 60.000; 100.000; 125.000 y 150.000 unidades roentgen de rayos gama y con Neutrones por 1.2 y 4 horas, los cuales fueron también autofecundados, refregando las flores, bajo jaulas en el potrero.

---

\*  $X_1$  = plantas obtenidas de semilla irradiada.

\*  $X_2$  = segunda generación después de la irradiación de la semilla.

## RESULTADOS

No se obtuvieron diferencias significativas estimadas por el número de semillas autofecundadas por planta, debido a variedades, tipo de irradiación, niveles de irradiación o generaciones. Los controles no irradiados produjeron tanta semilla como las plantas tratadas.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

De los resultados de este estudio se concluyó que no fue posible obtener ningún aumento en la frecuencia de las mutaciones producidas por los tipos y dosis de irradiación empleados.

También se discutió la posibilidad del empleo de radiaciones sobre el polén y no se estimaron tampoco muy promisorias.

Aunque no fue posible en este estudio separar en forma precisa la semilla producida por autofertilidad de aquellas producidas por pseudo-autofertilidad, se estimó que el porcentaje de plantas que producían semilla debido a autofertilidad fue de 3,9 y 7,1 para las poblaciones de plántulas y clonal respectivamente. En cambio, los correspondientes porcentajes para pseudo-autofertilidad fueron 20,9 y 65,9. Los más altos porcentajes de semilla obtenida en la población clonal, pueden atribuirse al manipuleo más intenso y de un mayor número de cabezas florales que la población de plántulas. Esto sugiere la posibilidad de que el término pseudo-autofertilidad sea una designación poco exacta, ya que la mayoría, si es que no la totalidad de las plantas de trébol rosado, pueden producir algo de semilla, si se opera con suficientes cabezas florales.

Se sugirió un método de mejoramiento que utilizando el alto porcentaje de pseudo-autofertilidad presente, permite obtener líneas autofecundadas, las cuales se combinarían para obtener híbridos simples y posteriormente híbridos dobles.

## CONCLUSIONES

En conformidad a los objetivos establecidos se llegó a las siguientes conclusiones:

(1) Es posible aislar plantas autofértiles siempre que se autofeunde un considerable número de plantas; (2) El porcentaje de autofertilidad es casi igual en plantas de distinto origen; (3) Las perspectivas de aumentar el porcentaje de autofertilidad en trébol rosado, ya sea a través de irradiación con rayos gamma o neutrones, no parece ser muy factible y (4) La semilla autofecundada debe producirse, en la mayoría de las plantas de trébol rosado si es que no en todas, por pseudo-autofertilidad, siempre que se opere con un número elevado de cabezas florales. Bajo las condiciones de campo fue, debido a la extrema variabilidad, difícil de separar la semilla producida por pseudo-autofertilidad de la producida a través del mecanismo del gene (Sf).

## R E S U M E N

Semillas de trébol rosado de las variedades Kenland y Curicó, se irradiaron con rayos gama, se plantaron y refregaron a mano en el potrero. No se encontró diferencias significativas en número de semillas por planta, en las variedades, ni en los diferentes niveles de irradiación al compararlos con los controles no irradiados.

También se estudiaron clones  $X_1$  y  $X_2$  de la variedad Kenland que se mantuvieron bajo jaulas y que provenían de semillas irradiadas con neutrones y rayos gamma. No se obtuvo diferencias significativas estimadas en número de semillas por cabezuela, entre los clones irradiados y sus controles respecto a tipos de irradiación, generaciones o entre los niveles de irradiación. Se obtuvo diferencias altamente significativas al comparar los clones irradiados con unos pocos auto-fértiles.

Se demostró la ocurrencia de semilla producida por pseudo-fertilidad haciéndose una separación teórica entre ambas.

Sobre la base de este estudio se discutió las posibilidades de usar semilla irradiada en un programa de mejoramiento y se sugirió un método de hibridación empleando la semilla pseudo-fétil.

## S U M M A R Y

Red clover seeds of Kenland and Curicó varieties were irradiated with gamma rays, grown bagged and hand rubbed in the field. No significant differences were found in seeds per plant, in different varieties or different levels of irradiation when tested against the non irradiated control.

Caged  $X_1$  and  $X_2$  clonal material of Kenland red clover which had been irradiated as seeds with neutron and gamma irradiations was also studied. No significant differences estimated in seeds per head, were obtained among the irradiated clones and their controls in types of irradiation, in generations or in levels of irradiation. Highly significant differences were obtained between irradiated and a few self-fertile clones.

The occurrence of seed produced by pseudo-fertility and by self-fertility was demonstrated and a theoretical separation between them was made.

The possibilities of using irradiation seed in a breeding program were discussed based on the results of this pilot study.

A method of hybridization utilizing the pseudo-fertile seed was suggested.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.— Eherenberg, L., I. Granhall and A. Gustafson The productions of beneficial hereditary traits by means of ionizing radiation Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy. Vol. 12: 31133. 1955.

- 2.— East, E. M. and Park, J. B. Studies on Self-fertility. II Pollentube growth. *Genetics* 3: 353-366. 1918.
  - 3.— Gustafson, Ake and O. Tedin. Plant Breeding and Mutations. *Acta Agriculturae Scandinavica* 4: 633-638. 1954.
  - 4.— Lewis, D. Mutation of the Incompatibility gene. I. Spontaneous mutation rate. *Heredity* 2:219-236. 1948.
  - 5.— Nidjam, F. F. Kruisingen met *Trifolium pratense* L. (Sumario en Inglés) *Genetics* XIV: 161-274. 1932.
  - 6.— Rinke, E. H. and Johnson, I. J. Self-fertility in red clover in Minnesota. *Jour. Amer. Soc. Agron.* 33:512-532. 1941.
  - 7.— Pandey, K. K. Mutations of self-incompatibility alleles in *Trifolium pratense* and *Trifolium repens*. *Genetics* 41:327-353. 1953.
  - 8.— Sparrow, A. H. and Pond, Virginia. Some cytogenetic and morphogenetic effects of ionizing radiation in plants. *Radioactive Isotopes in Agriculture Conference*: 125-139. U. S. Atomic Energy Comisión. 1956.
  - 9.— Stout, A. B. The genetics of incompatibilities in homomorphic flowering plants. *Bot. Rev.* 4:275-369. 1938.
  - 10.— Williams, R. D. Genetics of red clover and its bearing on practical breeding. IV Internat, Grass Congress Report: 238-251. 1937.
  - 11.— ——— and R. A. Silow. Genetics of red clover. Compatibility I. *Jour. Genet.* 27:341-362. 1933.
  - 12.— Williams, W. Genetics of red clover (*Trifolium pratense* L.) Compatibility III The frequency of incompatibility S. allele in two non pedigree populations of red clover. *Jour. Genet.* 48:69-79. 1947.
-