

# Descripción y evaluación de un método de tratamiento con colchicina en híbridos de trigo (*Triticum aestivum* L.) por centeno (*Secale cereale* L.)

Frascaroli, C. J.; Rolando, R. O.; Badiali, O. J., Coraglio, J. C., Lovey, R. J. y Almandoz, M. C.

## RESUMEN

Se describe y evalúa un método de tratamiento con colchicina denominado "Método de Inyección en Macollas", para la duplicación del número de cromosomas en híbridos de trigo (*Triticum aestivum* L.) por centeno (*Secale cereale* L.).

Se efectuaron a mano las emasculaciones y los cruzamientos para la obtención de las plantas híbridas F<sub>1</sub>.

En el primer año de evaluación se compara el "Método de Inyección en Macollas" con el "Método de Corona Modificado". Los resultados de plantas poliploides logradas con ambos métodos no expresan diferencias significativas en el análisis estadístico, pero sí se observan importantes diferencias en el consumo de colchicina, siendo notablemente menor en el "Método de Inyección en Macollas". Este método permite por lo tanto tratar un gran número de plantas con una concentración más baja de la droga.

En los dos años siguientes se utiliza sólo el "Método de Inyección en Macollas". La eficiencia de los tratamientos se incrementa en el tercer año del experimento, lográndose los mejores resultados.

## SUMMARY

This paper deals with the description and evaluation of a method of colchicine treatment called "Tiller Injection Method" to obtain duplication of chromosome number in wheat (*Triticum aestivum* L.) x rye (*Secale cereale* L.) hybrids.

Emasculations and crossings to obtain the F<sub>1</sub> hybrids were manually performed. "Tiller Injection Method" with "Modified Crown Method" were compared in the first year of evaluation. There were no significant differences in the statistical analysis of the number of polyploid plants obtained with both methods; however, great differences were observed in the colchicine consumption, it being notably lower when using the "Tiller Injection Method". Thus, this method allows a large number of plants to be treated with a lower drug concentration.

In the following two years only the "Tiller Injection Method" was used. Treatment efficiency increased in the third year of the experiment, thus yielding better results.

C.J. Frascaroli, C.C. N° 5, 2601 Murphy, Santa Fe; R.O. Rolando, O.J. Badiali, R.J. Lovey y M.C. Almandoz, Cátedra de Cereales y Oleaginosas, Fac. de Cs. Agropecuarias, UNC; J.C. Coraglio, Cátedra de Forrajes y Manejo de Pasturas, Fac. de Cs. Agropecuarias, UNC.

## INTRODUCCION

El triticale (X *Triticosecale Wittmack*) es un nuevo cereal creado por el hombre, y los primeros informes referidos a cruzamientos de trigo por centeno datan de 1875 (Wilson, 1875), éstos eran estériles y no producían semillas.

En 1891, Rimpau obtuvo semillas de un híbrido de trigo por centeno. Intentos previos a 1937 no tuvieron éxito, hasta que el descubrimiento de la colchicina que inhibe la formación del huso acromático en las divisiones celulares con la producción de células poliploides (Dermen y Emsweller, 1961), dio un nuevo impulso a los trabajos orientados a la obtención de triticales, como lo señalan los informes de Briggie, L.W. (1969), Muntzing, A. (1973a), Larter, B. N. (1974) y Zillinsky, F. J. (1974).

A partir de 1971, el equipo de Cereales y Oleaginosas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba, inició sus trabajos de cría, con el objeto de obtener triticales argentinos adaptados a las condiciones ecológicas, con tolerancia a las enfermedades y plagas comunes de la región semiárida de Córdoba, mediante el cruzamiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) x centeno (*Secale cereale* L.).

Los híbridos estériles  $F_1$  obtenidos fueron tratados con solución acuosa de colchicina por el método de Corona Modificado (Siddiqui, 1971) y el método desarrollado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba denominado "Inyección en macollas". La descripción de este método de tratamiento con colchicina y su evaluación fue el objetivo de este trabajo.

## MATERIALES Y METODOS

El material híbrido fue obtenido mediante el cruzamiento de trigos argentinos (*Triticum aestivum* L.) como progenitores femeninos y centeno (*Secale cereale* L. cv. INSAVE F. A.) como progenitor masculino. Los cruzamientos se realizaron a campo. La emasculación se realizó manualmente eliminando las anteras de la primera y segunda flor de cada espiguilla, desechándose las demás flores y las espiguillas de la base y del ápice de la espiga. La polinización se efectuó manualmente utilizando polen fresco entre 48 y 72 horas después de la emasculación.

Las semillas obtenidas de los cruzamientos, previo a la germinación, fueron desinfectadas con un lavado con etanol 95% durante 2 minutos, luego de escurridas se sumergieron en  $Cl_2Hg$  al 0,2% acidificado con 5 ml de CIH concentrado por litro por un lapso de 3 minutos, posteriormente se lavaron con agua estéril.

Las semillas se pusieron en cámaras de germinación a 22°C; cuando emergieron las raicillas y el coleoptile, las plántulas fueron repicadas a macetas de 250 cm<sup>3</sup> donde continuaron su crecimiento.

Los métodos utilizados para la inducción de poliploidías fueron los siguientes:

**Método de Corona** (Según Sears, E.R., 1941a,

modificado por Siddiqui, K.A., 1971): consiste en tratar macollas de plantas bien desarrolladas (5 macollas o más) con solución acuosa de colchicina al 0,25%. Las macollas son introducidas a través de orificios hechos en una placa de telgopor y ajustadas en su base con algodón cubierto en su parte superior con glicerina para evitar el paso de colchicina a las raíces, ya que de las observaciones de Sears surge que las concentraciones de colchicina suficientemente altas para inducir poliploidías en macollas, generalmente son letales para las raíces.

Las macollas son rodeadas en su base con algodón saturado con colchicina al 0,25%. Para evitar variaciones en la concentración de colchicina y favorecer el rápido crecimiento cada planta es cubierta con una bolsa de polietileno durante 48 horas. Después del tratamiento las macollas son lavadas con agua destilada y las plantas trasladadas a invernáculo por 15 días, para luego ser trasplantadas a campo.

**Método de Inyección en Macolla** Este método de tratamiento es una modificación del método de inyección de coleoptiles, usado por Perak, J. T., 1940 y Rommel, M. 1961, realizado por el equipo de Cereales y Oleaginosas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

El procedimiento consistió en tratar las plantas que desarrollaron cuatro o cinco hojas, usando una jeringa de 2,5 cc. con una aguja hipodérmica muy fina (utilizada en odontología), la cual se introduce en la base de la planta, inmediatamente sobre el ápice de crecimiento y se inyecta la solución de colchicina al 0,1% (aproximadamente 0,25cc) hasta que se observa que el liquido comienza a salir por la parte central de la hoja más nueva emitida por la planta. Este tratamiento se repite a medida que la planta desarrolla nuevos macollos para aumentar la frecuencia de poliploidías.

La diferencia entre este método y el utilizado por Perak (1940) y Rommel (1961) consiste en que estos autores inyectaban la solución de colchicina en las plántulas cuando éstas recién habían emitido el coleoptile, introduciendo la aguja a través del poro que se encuentra en el ápice del mismo. Las modificaciones introducidas se justifican en que tratando una planta cuando tiene 5 hojas está suficientemente desarrollada como para resistir el efecto de la colchicina, evitándose la alta mortalidad de plántulas que ocurre cuando se las trata al estado de coleoptile.

Se determinó que la descendencia de los cruzamientos eran híbridos cuando se produjo la emisión de las espigas, ya que éstas diferían de los progenitores en número de espiguillas y forma de la espiga. La poliploidización se confirmó por la fertilidad de la descendencia.

En el análisis estadístico de los datos se usó el método de contraste de dos proporciones poblacionales. (Dixon y Massey, 1971).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el primer año de evaluación (1981) el porcenta-

je de poliploides logrados con el Método de Corona Modificado no difiere significativamente del Método de Inyección en Macollas de acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos. (cuadro 1).

El Método de Corona Modificado se dejó de utilizar en los períodos sucesivos, debido al elevado consumo de colchicina.

Año	Método de tratamiento	Nº de plantas tratadas	Poliploides obtenidos	%
1981	Corona modificado	47	3	6,3 a
	Inyección en macollas	113	6	5,3 a
1982	Inyección en macollas	316	6	1,9
1983	Inyección en macollas	79	27	34

Los valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente  $\alpha = 0,05$

Cuadro 1: Resultados de los tratamientos con colchicina en híbridos de trigo-centeno durante 1981, 1982 y 1983

Si se analizan los porcentajes obtenidos en los tres períodos con el Método de Inyección en Macollas, éstos son muy diferentes, pero presentan una media ponderada de 7,65% de plantas poliploides que comparados con el 6,3% del Método de Corona Modificado no representan una diferencia estadística significativa.

Los resultados obtenidos no se comparan con los porcentajes logrados por Cauderón y Saigné (1961) de 58,5% con el Método de Macolla Modificado. Las mismas autoras informan que Sanchez Monge obtuvo 46% de efectividad con triticales hexaploides y 77% con triticales octoploides. Nuestros resultados son inferiores a aquéllos y muy variables, pero para la última experiencia muestra una mejora muy importante en la eficiencia del tratamiento.

La variabilidad de los resultados logrados en las distintas experiencias en que se utilizó el Método de Inyección en Macollas, probablemente se deba al momento de aplicación, al número de tratamientos realizados en una misma planta, a la calidad de la colchicina utilizada, a una mejora de la eficiencia del operador que practicó el tratamiento. Siddiqui (1971) mencionando a otros autores, sugirió que el aumento de la eficiencia de los tratamientos dependería del genotipo de la planta tratada, la temperatura ambiente, la calidad e intensidad de la luz y de las condiciones de crecimiento. Esto sugiere que habría que realizar investigación adicional a fin de dilucidar cuál de estos factores es el que mayor influencia ejerce sobre el incremento de la eficiencia de la poliploidización.

Comparando las concentraciones y el consumo de

colchicina del Método de Corona respecto al Método de Inyección de Macollas, se observó que se consumieron 5cc de solución de concentración 0,25% por macolla para el Método de Corona, mientras que por el Método de Inyección en Macollas se consumieron 0,22cc de solución de concentración 0,1% por macolla. De esto se deduce que con 100cc de solución se pueden tratar 454 plantas por el Método de Inyección en Macollas, contra 20 plantas o macollas que se tratarían por el Método de Corona, siendo la concentración usada para el Método de Inyección en Macolla 60% inferior al Método de Corona. Midiendo el peso de la colchicina consumida por el Método de Corona se utilizan 12.5 mg por planta, mientras que por el Método de Inyección en Macolla se usan 0,22 mg. de droga, lo que porcentualmente representa el 1,7% de consumo de colchicina respecto al primer método.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir diciendo que los resultados obtenidos con los Métodos de Corona y de Inyección en Macollas son comparables y que no hay diferencias significativas entre ellos. Se puede mejorar la eficiencia de los tratamientos y obtener resultados muy promisorios con el método de Inyección en Macollas utilizado en este trabajo.

Es de destacar sin embargo, que el consumo de colchicina es notablemente inferior por el método de Inyección en Macolla respecto al de Corona, lo que se traduce en una economía importante de droga.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con aporte (subsidios) del CONICET.

## BIBLIOGRAFIA

- Briggle, L. W., 1969. Triticale: a review. *Crop Science* 9 (2) 197-202.
- Bushuk, W. y E. N. Larer, 1980. Triticale: Production, Chemistry and Technology. *Advances in Cereal Science and Technology* 3: 115-157.
- Cauderón, Y. y B. Saigné, 1961. Obtention d'amphiploides a partir de F1 (*Triticum aestivum* L. x *Secale cereale* L.) *Ann. Amelior Plant* 11: 369-373.
- Dermen, H. y S. L. Emsweller, 1961. The use of colchicine in plant breeding. *Agr. Res. Ser. U. S.; Dept. Agr. ARS.* 23-24. Mimeog. Quoted by Bumham. 1962.
- Dixon y Massey, 1971. *Introducción al Análisis Estadístico Segunda Edición.* E. McGraw Hill. Co. México.
- Larer, E. N., 1974. A review of the historical development of triticales. En: *Triticale: First Man Made Cereal.* Ed. por C y C. Tsen. pp. 35-52. Amer. Assoc. Cereal Chemist. St. Paul Minn.
- Muntzing, A., 1973a. *Int. Triticale Symp. CIMMYT.*
- Perak, J. T., 1940. *Triticum durum* tetraploide obtenido por colchicina. *Anales del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina.* Tomo 2.: 7-8.
- Rommel, M., 1961. Aneuploidy, seed set and sterility in

- artificially induced autetraploid *Hordeum vulgare* L. *Can. J. Genet. Cytol.* 3: 272-282.
- Sears, E. R., 1941a. Amphidiploids in seven chromosome triticinae. *Res. Bull. Mo. Agr. Exp. Sta.* 336 00p.
- Sears, E. R., 1941b. Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphidiploids in the triticinae. *IBID* 337 oop.
- Siddiqui, K. A., 1971. Induction of poliploidy in multigeneric hybrids. in the group Triticaceae. *Hereditas* 67(2): 191-204.
- Wilson, A.S., 1875. In the fertilization of cereals. *Trans Proc. Bot. Soc. Edimburgh.* 12: 237-242.
- Zillinsky, F. J., 1974. The development of triticale. *Advances in agronomy.* Vol. 26: 315-346.