

# POLIPLOIDIZACION INDUCIDA DEL HIBRIDO INTERGENERICO ENTRE *Triticum vulgare*, Vil., *Triticum durum*, Desf., CON *Secale cereale*, L.

José Luis Maya de León,<sup>1</sup> Aristeo Acosta Carreón<sup>2</sup> y Salvador Miranda Colín<sup>3</sup>  
Rama de Genética, Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx.

## Sinopsis

El propósito de este trabajo fue el de obtener *triticales* a partir de trigos mexicanos y centenos adaptados a la zona del Valle del Yaqui. En el ciclo 1966-1967, se hicieron en Cd. Obregón, Son., ciento cuarenta y cuatro cruza diferentes entre *Triticum durum*, Desf., *Triticum vulgare*, Vil., con *Secale cereale*, L. Esta semilla es el producto de un gameto con los cromosomas del trigo y otro con los de centeno (ABE para el caso de la cruza de trigo tetraploide con centeno, y ABDE para la  $F_1$  de trigo hexaploide por centeno), lo cual hace estériles a las plantas originadas de la mencionada semilla. En todos los casos en los que se obtuvo semilla se utilizó el trigo como madre y polen del centeno, ya que no fue posible obtener semilla de las cruza en las que se utilizó polen de trigo en centeno. Las plántulas de 3 a 4 días de nacidas fueron tratadas con una solución de colchicina al 0.05% por medio de una técnica muy sencilla en la que se corta el hipocotilo a unos 10 mm. del punto de crecimiento y se pone en contacto con la solución. Se obtuvieron 4 líneas de *triticales* octaploides, lo cual dio un 1.3% de las plántulas tratadas. Es posible aumentar la eficacia del método usando una solución de colchicina al 0.1% por lo menos, y disminuyendo la distancia entre el corte del hipocotilo y el punto de crecimiento. Las líneas obtenidas pueden utilizarse como progenitores dentro de un programa de cereales que incluye a *triticale* como material de trabajo.

## Summary

The purpose of this study was to obtain "*triticales*" from Mexican wheat varieties, and rye varieties adapted to El Yaqui Valley. One hundred and forty four different crosses between *Triticum durum*, Desf., *Triticum vulgare*, Vil., with *Secale cereale*, L were made in Ciudad Obregon, Son., during the 1967 Winter. The seed obtained is a product of a gamete with wheat chromosomes and one with rye chromosomes—ABE for the case of the cross of tetraploid wheat  $\times$  rye, and ABDE for the  $F_1$  of hexaploid wheat  $\times$  rye, this sterilizes the plants grown from these seeds. In all cases in which seeds were obtained, wheat plants were used as female parents. Whenever it was used wheat pollen, and rye plants as female it was impossible to obtain seeds. Seedlings—3 to 4 day old—were treated with a 0.05% colchicine solution by means of cutting the hypocotilus at 10 mm from the growing point and making contact with the solution. Four octaploid *triticale* lines were obtained, that is 1.3% of the treated plants. This percentage can be improved by using a more concentrated solution of colchicine—0.1% at least—and shortening the distance of the cut from the growing point. The obtained lines might be used as progenitors within a program of cereal improvement, in which *triticale* is included as working material.

## Introducción

Al híbrido fértil de la cruza trigo-centeno se le ha venido aplicando el nombre genérico de *Triticale*. Sin embargo, frecuentemente se utiliza el mismo término como nombre común de la planta. El *triticale* es un híbrido con características intermedias de los padres, pero con una potencialidad de rendimiento muy grande, como lo

<sup>1</sup> CIMMYT, Londres Núm. 40. México 6, D. F. México.

<sup>2</sup> Profesor, Rama de Genética, Colegio de Postgraduados, E.N.A., Chapingo, Méx. México.

<sup>3</sup> Profesor investigador, Rama de Genética, Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx., México.

demuestran el tamaño de la espiga y un número de flores dos veces mayor que el del trigo, lo cual se debe quizá a la condición híbrida. Además de su potencialidad de rendimiento, el grano del triticale posee de 2 a 4% más proteínas que el trigo, aventajándolo también en el contenido de lisina que es una proteína indispensable en la dieta animal.

Uno de los problemas que se tiene al trabajar con el híbrido es que la  $F_1$  es estéril, pero por medio del alcaloide colchicina en solución acuosa es factible doblar el número cromosómico de la  $F_1$  y obtener el anfidiplóide. De allí la importancia de este trabajo, en el que se trata de obtener el híbrido estable por medio del uso de la colchicina.

#### *Revisión de literatura*

La primera descripción del híbrido es la que publicó Wilson en 1876, reportándolo como estéril, con pedúnculo pubescente parecido al centeno, proveniente de semillas producidas por plantas de trigo. La descripción concuerda perfectamente con las experiencias de investigadores posteriores. El anfidiplóide fue descubierto primeramente por Rimpau en 1888 y descrito en 1891 por el mismo autor (O'Mara, 1953) (6).

El centeno ha sido cruzado con la mayoría de las especies de trigo. Los trigos de 42 cromosomas han sido fecundados con polen de centeno con relativa facilidad, pero los trigos de 28 cromosomas son difíciles de cruzar con el centeno. La crucea recíproca, centeno-trigo, es muy rara (Leonard y Martin, 1963) (3).

En México, el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en colaboración con el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), han introducido en el Programa de Cereales un proyecto de mejoramiento genético de *triticale* en el que se ha venido trabajando desde el año de 1964 (Quiñones, 1966.) (7).

La primera hibridación entre trigo y centeno se realizó en 1876 en forma natural. Bajo condiciones no comunes puede encontrarse en la  $F_2$  alguna planta fértil, con sus 56 cromosomas completos (Wilson, 1876). Pero desde que se descubrieron los efectos de la colchicina en la mitosis celular, se han producido nuevos métodos para incrementar la producción de *Triticale*.

B. R. Nebel y M. L. Ruttle en 1938, demostraron por medio de diversos experimentos que la colchicina actúa sobre la mitosis, inhibiendo la formación del huso acromático, e impidiendo el desplazamiento de los cromosomas en la anafase. Müntzing (1961) (4), polinizando flores de trigo con polen de centeno obtuvo poca semilla, la cual era bastante "chupada" y muy pequeña. Sin embargo, esta semilla germinó y dio lugar a híbridos con 28 cromosomas (21 de trigo + 7 de centeno = 28), los cuales eran vigorosos pero altamente estériles. Pero al tratar plántulas muy jóvenes con una solución acuosa de colchicina dobló el número de cromosomas en algunos tallos. Las espigas formadas en tales tallos dieron origen a un buen número de granos, los cuales produjeron progenies constantes de 56 cromosomas. Biológicamente la planta de 56 cromosomas es de interés ya que el número constante de los mismos ha sido mantenido en la línea de Rimpau por más de 50 generaciones. En la  $F_1$  de cruces trigo-centeno, hay muy poco apareamiento en el momento de la

meiosis, ya que a lo máximo se han llegado a observar de 0 a 3 pares abiertos. Después del doblamiento, la mayoría son bivalentes, aunque en algunos casos se han llegado a observar plantas en las cuales es posible determinar hasta 6 monovalentes. No se ha reportado homología completa entre los cromosomas de trigo y centeno (Clausen *et al.*, 1945) (1).

El origen o los orígenes de *Triticale* pueden dar una idea de cómo obtenerlo (O'Mara, 1953) (6). Uno de ellos es cómo se realizó en la línea de Rimpau, doblamiento somático de los cromosomas, con su correspondiente aparición de fertilidad masculina y femenina. Este es el método más común según O'Mara. Las consecuencias genéticas se pueden predecir más fácilmente en la progenie de la planta, la cual es homocigota en sentido absoluto, ya que cada locus está representado por dos genes, los cuales descienden del mismo gen en la generación inmediata anterior.

Müntzing, en 1939, obtuvo el anfidiplóide a partir de la cruce de *triticale* fértiles con *Triticum vulgare*, al recobrar en la  $F_2$  individuos con 56 cromosomas. Es decir, el método requiere un *triticale* como padre de una línea nueva. Este fenómeno da idea de que es un método con muy pocas probabilidades de éxito, puesto que la única posibilidad de obtener individuos estables en la  $F_2$  es que puedan llegar a combinarse polen y óvulos que no se hayan reducido por lo que respecta al genomio E del centeno. El *triticale* produce gametos ABDE (ABD = 21 cromosomas de trigo y E = 7 cromosomas del centeno); el trigo hexaploide produce gametos ABD; por lo tanto, en la cruce trigo  $\times$  *triticale* pueden producirse gametos desde ABD hasta ABDE; la posibilidad de obtener el anfidiplóide en la  $F_2$  depende del azar, y consistiría en la unión de un óvulo y un grano de polen con la última constitución (ABDE), o sea que es derivado de la autofecundación en el híbrido trigo-*triticale*. Otro método usado en la obtención de anfidiplóides es el que consiste en producir autotetraplóides de especies diferentes por medio del uso de la colchicina y posteriormente, cruzarlos entre sí y de esta manera conseguir el alopoliploide. Por ejemplo, en el caso del *triticale*, sería de la siguiente forma: obtener el autotetraploide del trigo, que para el caso de los trigos hexaploides sería AAAABBBBDDDD con  $2n = 84$ ; por otra parte, el autotetraploide del centeno sería igual a EEEE con  $2n = 28$  cromosomas; teóricamente, el trigo con el número cromosómico doblado produciría gametos AABBDD y el centeno EE, los cuales al unirse darían lugar a un individuo con 56 cromosomas (42 de trigo y 14 de centeno), el cual sería fértil y estable y tendría el genomio completo AABBDEE. Sin embargo, este método ha tenido éxito con otras especies, pero no con el trigo, debido a que el tetraploide de *T. vulgare* y *T. durum* no produce gametos viables, lo cual se debe en parte a que la emigración de los cromosomas durante la anafase de la meiosis no es perfectamente regular, dando lugar a gametos con números de cromosomas muy diversos. En general, puede decirse que, de acuerdo con la opinión de la mayoría de los mejoradores, el método más eficaz para producir híbridos fértiles trigo-centeno es el de doblar los cromosomas de la  $F_1$  híbrida por medio de una solución acuosa de colchicina (O'Mara, 1953) (6).

En Svälof y Ugerup, Suecia, se hicieron en 1950 ensayos de rendimiento y se pudo observar que el híbrido fértil se adapta mejor que el trigo a suelos arenosos,

resiste más a las heladas, fue tan precoz como el trigo y algunas líneas poseían un alto contenido de proteína en el grano, así como buena calidad panadera. En las mismas regiones se observó que después de hibridar, seleccionar y hacer un ensayo de rendimiento, fue posible obtener una línea con el 90% de rendimiento con respecto al testigo Skandia III, variedad de trigo de invierno de buenas características (Müntzing, 1950). Por lo que respecta al grano, se observó que el peso de 1000 granos fue de 52.13 gramos en promedio, mientras que el del trigo fue de 48.17 gramos; o sea que *Triticale* fue un 8% más alto en peso de 1 000 granos que el progenitor de mayor peso, que fue el trigo (Müntzing, 1961) (4). En lo que se refiere al contenido de proteínas, Hall (1959) (2) señala que *Triticale* tuvo un 1.9% más que *Triticum vulgare*. También se pudo determinar, por medio de investigaciones de tipo serológico o bioquímico, que en el anfidiplóide existen las proteínas específicas del trigo y del centeno. Por lo que respecta al contenido de gluten, fue posible determinar que por lo menos este fue tan alto en el *Triticale* como en el trigo, ya que el del primero fue de 34.7% en promedio y el del segundo 32.5% (Müntzing, 1961) (4).

#### *Métodos y Materiales*

En el ciclo 1966-1967, se sembró en Cd. Obregón, Son. en el Campo Experimental del Centro de Investigaciones Agrícolas del Noroeste (CIANO), una colección mundial de variedades de centeno pertenecientes a la especie *Secale cereale*. Esta colección estaba formada por alrededor de 700 variedades, con orígenes muy diversos, y aunque la mayoría de ellas estaban consideradas como centenos de invierno, esto no fue una característica común, aunque todas fueron de ciclo vegetativo largo. Por lo mismo se procuró sembrarlos bastante temprano en relación con las fechas de siembra recomendadas para la zona en el caso del trigo. Se empezaron a sembrar aproximadamente entre los últimos días de septiembre y los primeros días de octubre. Al llegar el momento de la floración de los centenos, se observó que también una de las fechas de progenitores de trigo del programa convencional de mejoramiento lo hacía. Por lo tanto se seleccionaron aquellos centenos que estuvieran produciendo polen y se cruzaron con algunas líneas y variedades de trigo.

Produjeron polen a tiempo 43 variedades, las cuales se cruzaron con algunos de los trigos para pasta y para pan que estaban dentro del lote de progenitores. Se hicieron 149 cruzas.\* De ellas, 64 se hicieron entre trigos hexaploides y centenos, y las 85 restantes fueron entre trigos duros y centenos. En todos los casos se utilizó el centeno como progenitor masculino, en primer lugar por recomendarlo así la literatura y la experiencia, ya que es común, en el caso en que se realizan cruzas entre especies o géneros diferentes que el porcentaje de semilla formada sea mayor cuando se utiliza como progenitor masculino el de menor número de cromosomas. Sin embargo, también se intentó hacer la craza recíproca, pero en ninguno de los casos, que fueron alrededor de 25, pudo observarse formación de grano, mientras que cuando el trigo se utilizó como madre inmediatamente se notó la formación

\* En el presente trabajo se utiliza el concepto de craza para designar al híbrido entre dos progenitores diferentes, independientemente del número de flores polinizadas.

de semilla. Por lo tanto se prosiguió cruzando en este sentido siempre. Se intentó hacer el máximo de polinizaciones por cruza dentro del tiempo disponible, habiéndose considerado que 4 espigas con 20 florecillas cada una, en el caso de las cruzas con trigos para pastas, era suficiente, mientras que en el caso de los trigos harineros se polinizaron 3 espigas con el mismo número de florecillas, por cada cruza que se realizó.

Según Müntzing (4), las mayores posibilidades de éxito para la obtención de autopoliploides y alopoliploides inducidos por medio de la solución acuosa de colchicina, se hallan en la aplicación de la misma al hipocotilo de la plántula.

En la investigación presente se utilizaron en un principio dos métodos o técnicas para el tratamiento con colchicina:

1. Se pusieron a germinar 5 semillas por cruza como máximo, en el caso de que hubiera más de tal número, y cuando era menor que dicha cantidad la semilla disponible por cruza, se puso a germinar el total de grano que se tuviera. De este grupo de semillas, y en cada cruza, una parte de ellas se trató con este método y otra con la técnica número dos, lo cual se hizo sólo en un principio, ya que posteriormente éste fue el único método empleado. Para la germinación se utilizaron cajas de petri o vidrios de reloj que eran colocados en la oscuridad hasta que las plántulas alcanzaban una longitud de poco más de un centímetro. Inmediatamente después se colocaban las cajas o los vidrios de reloj en un lugar donde estuvieran en contacto con la luz para que las plántulas desarrollaran clorofila; después de 24 horas en la luz se procedía a cortar el hipocotilo de las plántulas por medio de unas tijeras a una distancia de 8 a 10 mm, aproximadamente, del punto de crecimiento. Inmediatamente se colocaron las plántulas con el hipocotilo cortado, sobre una caja de plástico llena con una solución de colchicina a una concentración de 0.05% y cubierta con una tela o malla de alambre. Las plantitas quedaron en posición invertida, es decir, con las raíces al aire y los pequeños tallos pasando a través de los orificios de la malla y en contacto con la solución de colchicina. Sobre las raíces al aire se colocó papel filtro húmedo, tratando de lograr con ello que las funciones de las plántulas se realizaran lo más normalmente posible. Como cámara húmeda se usó una campana de cristal de las utilizadas en los laboratorios como secadores, a la cual se le sustituyó el cloruro de calcio por el mismo volumen de agua para que al cerrarla herméticamente funcionara como se deseaba. La cajita con las plántulas permaneció en esta cámara en contacto con la colchicina en las condiciones ya descritas, por espacio de 6 horas. Inmediatamente después se sacaron las plantitas de la colchicina, se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de la solución del alcaloide, y posteriormente se procedió a plantarlas en macetas, donde se identificó la técnica de tratamiento y la cruza con una estaquita de plástico numerada. Con este método (número uno) se trataron 303 plántulas que sobrevivieron al tratamiento y no fueron autopolinizaciones de trigo. (Fig. 1.)

2. Con el segundo método se trataron 50 plántulas solamente. El método consistió en dejar que las plantas desarrollaran hasta la época del amacollamiento;



FIGURA 1. A la derecha puede apreciarse cómo se colocaron las plántulas (de la semilla  $F_1$  de triticale octaploide), con el hipocotilo en contacto con la solución de colchicina y las raíces quedaron en el aire. A la izquierda, la cámara húmeda utilizada.

inmediatamente después se procedió a descubrir el cuello de las mismas con un chorro de agua para eliminar la tierra que las cubría. Luego se cubrió ajustadamente con algodón a todos los hijuelos o tallos de la planta, tratando que el algodón quedara lo más cerca posible del punto de crecimiento, o sea, próximo al cuello del tallo. Las plantas se introdujeron a una cámara húmeda metálica completamente oscura, y allí se empaparon los algodones con una solución de colchicina al 1%. Permanecieron en la oscuridad por espacio de 48 horas, lapso durante el cual sólo se destapaba la cámara húmeda a intervalos de 10 a 12 horas para checar que los algodones estuvieran bien humedecidos, y si esto no sucedía se volvía a aplicar la solución de colchicina con un gotero. Después de esto se sacaron las macetas, se cubrió la zona del cuello del tallo con tierra y se dejaron en el invernadero.

Cabe mencionar que los tratamientos fueron hechos separando el total de cruizas en grupos de diez en diez, más o menos cada 8 días, con el objeto de no tener grupos muy grandes de plantas por tratar en una sola vez, y con el objeto de obtener una eficiencia mayor. Debido a esto, el total de plantas ya tratadas se terminó de cosechar en junio de 1968. La cosecha se hizo espiga por espiga, es decir, si una planta mostraba 2 espigas con grano formado, por ejemplo, la semilla no se mezcló, ya que como es sabido, el efecto de la colchicina es enteramente local, y por lo tanto es posible encontrar en una misma planta tallos con sectores diferentes.

A continuación se procedió a sembrar en el campo toda la semilla de una sola espiga en un surco, haciendo un total de 77 surcos de dos y medio metros de longitud, en los cuales hubo un promedio de 10 plantas.

La identificación de las plantas híbridas es relativamente fácil, ya que su fenotipo es muy característico y diferente a los de trigo y centeno (Figuras 2 y 3); por otra parte, todas aquellas plantas que tuvieron la apariencia del híbrido y espigas con grano, era indiscutiblemente que habían sido afectadas por la colchicina, doblándoles el número cromosómico. Sin embargo y con el propósito de tener una mayor seguridad y también de conocer el grado de poliploidía de las plantas críticas, se procedió a muestrear espigas de la segunda generación después del tratamiento. El objetivo fue el de observar la meiosis de 3 a 4 plantas, por lo menos, de cada uno de los 77 surcos sembrados en el verano de 1968 en Chapingo, para determinar el número de cromosomas, y de esta manera conocer exactamente si era el anfidiplóide o simplemente autopolinizaciones. El método utilizado para la observación de los cromosomas meióticos fue el del "aplastado" con carmín acético.



FIGURA 2. Espiga de triticales octaploide fértil y estable. (CIANO, Cd. Obregón, Son., ciclo 1968-1969.)



FIGURA 3. Plantas de triticales octaploide en la primera generación posterior al doblamiento cromosómico logrado por el tratamiento de plántulas con colchicina. Las plantas son normales y con espigas grandes. (CIANO, Cd. Obregón, Son., ciclo 1968-1969.)

### *Resultados y Discusión*

Al llevarse a cabo las cruzas en Cd. Obregón, Son., se pudo observar que durante el ciclo 1966-1967 las condiciones climáticas fueron muy buenas para la obtención de grano de la cruce entre trigo como madre, y centeno como padre; esto es importante ya que en ciclos anteriores se pretendió cruzar los dos géneros, y no fue posible obtener grano; sin embargo, en esas ocasiones no se pretendió realizarlas en una época tan temprana del ciclo como en esta última vez, iniciándose las cruzas a fines de enero. Otra medida que contribuyó al éxito fue que se procuró hacer el máximo de polinizaciones las primeras horas hábiles del día, o ya muy tarde, cuando el sol no calentaba tanto y consecuentemente la temperatura fue mucho más propicia para la germinación del grano de polen del centeno sobre el estigma del trigo.

Basándose en la iniciación de la formación del grano, puede decirse que más del 60 o 70% de las florecillas polinizadas formaron grano. Sin embargo, con posterioridad se observó que muchos de los embriones parcialmente formados murieron dentro de la flor, lo cual podría deberse a una posible incompatibilidad entre

el padre y la madre, por lo que también se pensó que cuando sea posible hacerlo, sería recomendable tomar los embriones ya formados, aunque el resto de la semilla no lo esté, y cultivarlos en forma artificial en algún medio de cultivo. Esto nos permitiría aprovechar el máximo de cruzas, pero en una cantidad de tiempo mucho mayor, lo cual no fue posible hacer en el presente trabajo. El problema anterior se hizo más notorio en el caso de las cruzas entre los trigos tetraploides y los centenos, aunque también lo hubo en menor escala cuando estaban involucrados los trigos hexaploides. Quizá esto se deba a que hay una mayor afinidad entre el genomio DD con el genomio EE del centeno que la que pudiera haber con los genomios AA y BB. Sin embargo, también fue marcada la diferencia en la cantidad de grano formado, entre una y otra línea o variedad, tanto dentro de los trigos para pastas como en los harineros, ya que ésta varió desde el 1% hasta el 40% aproximadamente, dentro de los trigos duros, y desde el 1% hasta el 100% dentro de los trigos harineros.

Se hicieron un total de 85 cruzas diferentes con los trigos tetraploides, en 81 de las cuales se obtuvo grano. La cantidad de grano por cruz a varió en la forma que ya se indicó, es decir del 1 al 40%. En total se obtuvieron 579 granos de 6 800 flores polinizadas, lo cual da un porcentaje promedio de 8.5%. El grano que se obtuvo de las cruzas con *T. durum* fue más "chupado" en general, lo cual se refleja en el hecho de que el 38% de los granos, aproximadamente, no germinó. Esto, aunado al hecho de que un buen porcentaje de las cruzas tenían menos de 5 granos en total, hizo que el número de plántulas tratadas fuera mucho menor que el de las hechas con trigos harineros. En relación con el número total de cruzas *T. durum* × *S. cereale*, de 81 cruzas, 46 de ellas tuvieron menos de 5 granos con 2.4 granos de promedio.

Por lo que respecta a las cruzas con los trigos harineros, se hizo un total de 64 cruzas diferentes y en 63 de los casos se obtuvo grano, cuyo porcentaje varió, como ya se indicó, desde el 1 al 100%, con un promedio de 11.3% del total de florecillas polinizadas, ya que se obtuvo un total de 545 granos de 3 840 flores polinizadas. De 63 cruzas con grano que se obtuvieron en este caso, 22 de ellas tuvieron menos de 5 granos con 3.1 de promedio.

Posiblemente puede asociarse el hecho de que los granos que se obtuvieron de las cruzas entre trigos harineros por centenos estaban en mejores condiciones que cuando se usaron trigos para pastas, con el hecho de que en el primer caso sólo un 27% no germinaron mientras que en el segundo el 38%, ya mencionado, no germinó.

Por lo que respecta a las técnicas de doblamiento utilizadas, se ve claramente que mientras que con el método uno se trataron 303 semillas, con el método dos sólo se trataron 50. Esto se hizo así porque desde un principio las metas eran más que comparar la eficacia de una técnica con respecto a la otra, la de obtener el máximo de plantas fértiles, y fue visible desde un principio que mientras que las plantas tratadas con el método dos no presentaban síntomas de haber sido afectadas por la colchicina, las plántulas tratadas con la técnica uno presentaban alrededor de un 10% de plántulas con síntomas de crecimiento diferencial entre los tejidos de las hojas y tallos, es decir, presentaban las llamadas "quimeras",

trigo duro por centeno fueron autopolinizaciones, mientras que el grano de cruza de harineros por centeno presentaban 2.9% de autopolinización, dando un promedio de 3.9%.

Se hicieron alrededor de 250 preparaciones para hacer conteos cromosómicos en los 77 surcos sembrados. De ellos, 73 surcos eran plantas de trigo normal y cuatro surcos eran triticales octaploides, es decir, provenían de la cruza entre *T. vulgare* y *S. cereale*. Estos últimos cuatro surcos provenían de cuatro plantas diferentes de la generación anterior, aunque tres de ellos tenían los mismos progenitores. De acuerdo con esto podemos decir que un 1.3% del total de plántulas tratadas con la técnica número uno fueron "dobladas", mientras que con la técnica número dos no se obtuvo una sola planta en condición anfidiplóide. El porcentaje "doblado" fue muy bajo, pero pudo observarse que el porcentaje de plantas muertas tratadas fue muy bajo también, un 10%, lo que hace suponer que incrementando la dosis, ya sea aumentando la concentración de la solución de colchicina, o aumentando el tiempo de exposición de las plántulas, así como acercando el punto de corte en los hipocotilos al punto de crecimiento, es posible obtener un mayor porcentaje de plantas con el número cromosómico doblado. Es factible también, que algunas de las plantas que no eran fértiles, pudieran haber tenido su número cromosómico doblado y no produjeran semilla debido a que los centenos que se utilizaron como progenitores masculinos no eran líneas puras, sino variedades. El centeno presenta problemas de autoincompatibilidad y por lo tanto en muchos de los casos es totalmente de polinización cruzada, mientras que el anfidiplóide *Triticale* conserva en este sentido las características del trigo, o sea la autopolinización.

#### Conclusiones

1. Es posible obtener semilla de la cruza trigo-centeno, ya sea con el trigo tetraploide, *Triticum durum*, o con el hexaploide, *Triticum vulgare*. El único requisito es utilizar como progenitor femenino el trigo y como progenitor masculino el centeno. No fue posible obtener grano de la cruza recíproca, o sea centeno como madre y polen del trigo.
2. Los cruzamientos deben hacerse entre las 6 y 9 horas y entre las 17 y 19 horas, aproximadamente, con el fin de evitar que las temperaturas altas interrumpian la germinación del polen o lo destruyan, especialmente en zonas donde se presente el problema de temperaturas elevadas durante el mediodía.
3. De los ocho a diez días después de haber polinizado se observó que en un porcentaje muy elevado (70% aproximadamente) de las florecillas, se empezaba a desarrollar el grano, pero a medida que fue avanzando el ciclo en muchos de los casos el grano se fue "chupando" totalmente. Esto fue especialmente notable en las cruza de *T. durum* × *S. cereale*. Debido a esto, mucho del grano se perdió en la misma planta y un gran porcentaje del que se cosechó no germinó. Para evitar lo anterior sería conveniente que cuando se quiera aprovechar mejor los embriones formados, se haga un cultivo artificial de los mismos, extrayéndolos de la plan-

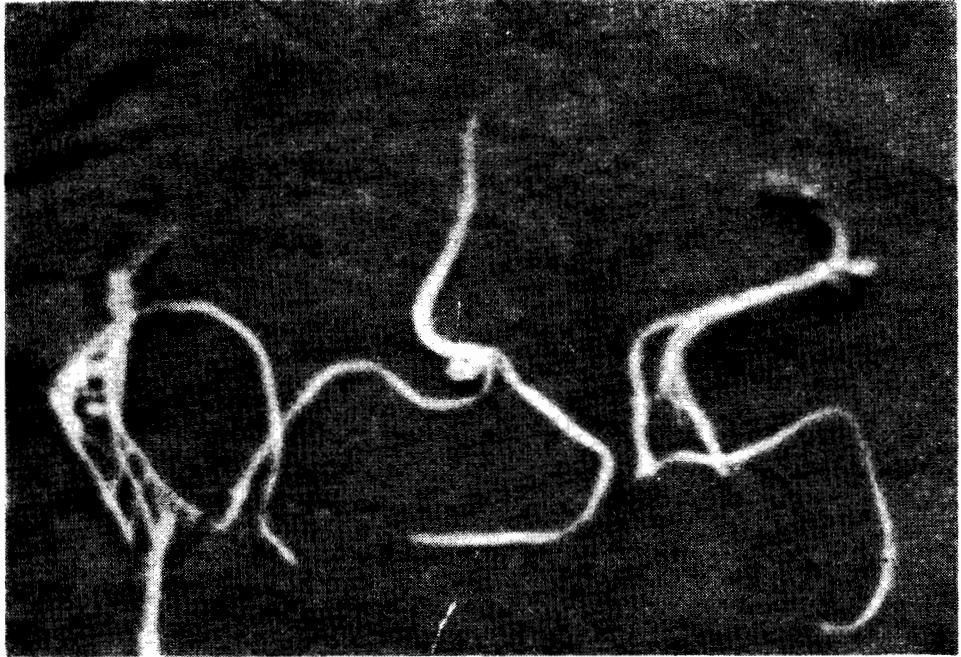


FIGURA 4. En el centro puede observarse una plántula que no presenta síntomas de haber sido afectada por la colchicina. A los lados, plántulas con "quimeras" producidas por la colchicina.

debido al efecto de la colchicina sobre unas partes de la planta, mientras que en otras no (Fig. 4), Esto sugirió, lo que muy posiblemente sucedió, que la técnica uno (aplicación de la colchicina colocando las plántulas en posición invertida, sobre una malla de alambre que cubre una caja con solución), es superior a la número dos.

Además, en la técnica de aplicación de la colchicina por medio de algodones humedecidos con solución (número dos), se utilizó una cantidad de solución mayor y con concentración mayor, por lo que el gasto del alcaloide es mucho mayor, y por lo tanto, bastante caro. Utilizando la solución en cajitas, además de que la concentración es menor, la solución puede usarse dos o tres veces, si se tiene cuidado de conservarla en el refrigerador.

El aspecto externo de las plantas  $F_1$  tratadas con colchicina, hizo posible distinguir aquellas que eran fértiles, así como diferenciar las que eran autopolinizaciones y las que eran cruzas. Para ratificar lo anterior y previendo que las que fueran autopolinizaciones podrían haber sido dobladas, y por lo tanto ser autoploides inducidos, los cuales podrían ser muy interesantes para trabajos posteriores, se procedió a muestrear durante la meiosis de la siguiente generación con el objeto de hacer conteos cromosómicos. Es importante señalar que ninguna de las plantas que presentaban el fenotipo de autopolinizaciones (como el de trigo), fue estéril, mientras que la mayoría de las que presentaban características de cruzas si lo fueron. Esto ayudó a determinar que el 4.9% de los granos de cruzas de

ta madre unos 15 a 20 días después de haber polinizado, que es cuando han alcanzado su máximo desarrollo.

4. La técnica para el doblamiento del número de cromosomas en la cual se invierte la plántula con el hipocotilo cortado en contacto con una solución de colchicina y las raíces al aire (número uno), da buenos resultados. Sin embargo, es necesario investigar las condiciones óptimas de las variables, longitud del corte del hipocotilo, concentración de la solución de colchicina, y tiempo de exposición de las plántulas a la solución, con el fin de lograr mayor eficiencia. Hay que considerar también que en el presente trabajo el corte se hizo aproximadamente a unos 10 mm. del punto de crecimiento, que la concentración fue de 0.05% y que el tiempo de exposición fue de 6 horas.

5. Es probable que algunas de las plantas  $F_1$  de la cruce trigo-centeno que fueron tratadas con colchicina hayan doblado el número de cromosomas, convirtiéndose en anfidioides. Sin embargo, como heredaron del trigo el carácter de autógamas y del centeno heredaron posiblemente el carácter de autoincompatibles, no fueron fecundadas y por tal razón no fructificaron. Esto sugiere que en trabajos posteriores se crucen con el trigo líneas puras de centeno que no sean autoincompatibles, con el fin de aumentar el porcentaje de híbridos fértiles.

#### Bibliografía

1. CLAUSEN, J. y COLS. *Experimental studies on the nature of species*. Carneg. Inst. Wash. Publ. 564 p. 1945.
2. HALL, O. *Immuno-electrophoretic analysis of allopolyploid ryewheat and its parenteral species*. Hereditas (45): 495-504. 1959.
3. LEONARD, W. H. y J. H. MARTIN. *Cereal Crop*. New York. Mcmillan C. (17): 470. 1963.
4. MÜNTZING, A. *Genetic Research*. Stoochholm, Sweden. 288-290. 1961.
5. NEBEL, B. y RUTTLE. *The cytological and genetical significance of colchicine*. The Jour. of Her. (29): 3-9. 1938.
6. O'MARA, J. G. *The cytogenetics of triticales*. The Bot. Rev. (19):(10): 587-588. 1953.
7. QUIÑONES, M. A. *Mejoramiento genético del anfiploide triticales*. Tesis profesional, Fac. de Ciencias Biológicas. U.N.A.M. (4): 18. México, 1966.
8. SEARS, E. R. *The cytology and genetics of the wheat and their relatives*. Advances in Genetics. II: 240-265. 1948.