

11  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"PRODUCCION DE HAPLOIDES DE TRIGO  
(Triticum aestivum L.) MEDIANTE CRUZAS  
DE MAIZ (Zea mays L.)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
MARIA ALEJANDRA BAEZA SALDIVAR



MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	Pags.
RESUMEN.....	1
I INTRODUCCION.....	2
1.-Generalidades.....	2
2.-CIMMYT.....	6
3.-Mejoramiento genético del trigo.....	10
4.-Capacidad de cruzamiento.....	13
5.-Translocación 1B/1R.....	16
6.-Bandeo cromosómico.....	18
II ANTECEDENTES.....	21
III OBJETIVOS.....	23
IV MATERIAL Y METODOS.....	24
V RESULTADOS Y DISCUSION.....	29
VI CONCLUSIONES.....	34
VII APENDICE.....	35
VIII REFERENCIAS.....	37
IX TABLAS.....	42
X FIGURAS.....	52

## RESUMEN

En algunas variedades del trigo hexaploide *Triticum aestivum* L. , se presenta una translocación que se produjo de manera espontánea entre el brazo corto del cromosoma 1B del trigo y el brazo corto del cromosoma 1R del centeno; dicha translocación se encuentra relacionada con la resistencia a royas y mildes que poseen los trigos que la portan; por lo que resulta de gran interés observar el comportamiento segregante que tiene dicha translocación. En este trabajo, utilizando técnicas de bandedo cromosómico C realizado en 161 plantas de 22 variedades de trigo, fue posible identificar las plantas heterocigóticas para la translocación (1B, 1B/1R); que fueron seleccionadas y polinizadas con maíz para producir plantas haploides de trigo para analizar a través de éstas, el tipo de segregación que manifiesta la translocación. Para llevar a cabo el desarrollo de los embriones haploides inducidos de esta manera, fue necesario efectuar el rescate de estos y mantenerlos en medio de cultivo bajo condiciones controladas hasta hacer su análisis citológico ( conteo y bandedo cromosómico ).

Los resultados obtenidos muestran que de 298 plantas haploides que se produjeron a través de cruza con maíz; 146 presentan el cromosoma 1B normal ( 1B ) y 152 la translocación en el cromosoma 1B ( 1B/1R ), lo que estadísticamente indica que la translocación 1B/1R tiene una segregación de 1:1.

# **I INTRODUCCION**

## **1. GENERALIDADES**

El trigo es la planta alimenticia de más extenso cultivo en el mundo entero. Alrededor de 1 000 millones de seres humanos lo consumen en diversas formas y contribuye en mayor proporción que ningún otro alimento a suministrar calorías y proteínas al hombre.

El trigo es miembro de la familia de las gramíneas, que comprende unos 600 géneros y más de 5 000 especies. Todos los trigos, sean silvestres o cultivados, se hallan incluidos en el género *Triticum*, del cual se conocen comunmente 14 especies ( Aykroyd y Doughty 1978 ). Los grupos difieren también por sus características anatómicas, morfológicas y de otro tipo. Parece ser que los trigos tetraploides y hexaploides han sido originados a partir de los antiguos diploides, generalmente mediante hibridación con gramíneas silvestres afines ( Kimber y Sears 1987, Miller 1987 ). El trigo común ( *Triticum aestivum* L. ) crece en un amplio rango de ambientes en el mundo, de hecho, es el cereal que presenta la mayor adaptación y su producción encabeza a todas las demás especies comerciales, incluyendo el arroz, el maíz y la papa.

Según Briggles y Curtis (1987) se espera que la población global será de entre 8 y 10 mil millones de seres humanos para principios del siglo XXI. Las implicaciones de esta eventualidad son complejas y numerosas, no menos que las necesidades de duplicar la cantidad de comida durante los siguientes 30 a 40 años. El trigo, el arroz y el maíz proveen cerca del 34 % de las calorías y la mitad de las proteínas que el hombre consume. Por lo tanto no se puede dudar que este cereal tiene un papel primordial y existe la necesidad de incrementar rápida y continuamente su producción, lo cual se puede lograr por dos medios:

a) Por la expansión de las áreas de siembra.

b) Obteniendo un mayor rendimiento por unidad de área, ya que antes, durante y después de la cosecha se provocan cuantiosas pérdidas, que de no

ocasionarse podrían incrementar la obtención de este cereal de manera significativa para ser aprovechado en el consumo humano.

La producción de trigo se concentra entre las latitudes de 30 a 60 ° N y entre los 27 y 40 ° S; la temperatura mínima para que se desarrolle es de 3 a 4 ° C, y la óptima de crecimiento es de 30 a 32 ° C además puede crecer en la mayoría de las localidades donde la precipitación anual oscila entre los 250 y los 1750 mm, este factor parece ser crítico para un desarrollo adecuado. Las mejores cosechas se obtienen en suelos bien drenados que se localizan aproximadamente a 3000 msnm y en algunos países de zonas tropicales, puede crecer desde 2000 a 3200 msnm, incluso se han reportado cosechas entre 4 270 y 4 570 msnm en el Tibet ( Briggle y Curtis 1987 ).

Por todo lo anterior, se puede sugerir que el trigo es una muy importante fuente de alimento para el hombre y es, además, el aporte más importante de carbohidratos en la mayoría de los países de zonas templadas. Es una excelente comida, a pesar de que su grano es deficiente en algunos aminoácidos esenciales (particularmente bajo en lisina ). Su fécula es fácil de digerir, así como sus proteínas. Los granos contienen minerales, vitaminas y lípidos de tal manera que cuando son suplementados con pequeñas cantidades de proteína animal o leguminosas, la combinación resulta altamente nutritiva ( Briggle y Curtis 1987 ).

### Producción mundial

Entre 1960 y 1985 la producción mundial de trigo se incrementó significativamente, mientras que el total de áreas cosechadas tuvo un pequeño ascenso ( USDA 1985, citado en Briggle y Curtis 1987 ). El mayor volumen generado se dió durante el año agrícola de 1984-1985 siendo de 514 mil toneladas. Esto constituyó el doble de la producción anual promedio durante los últimos 25 años. A partir de 1971 a 1981, se elevó más en países desarrollados que en los no desarrollados ( cerca del 50 % de aumento, comparado con el 35 %, respectivamente ) ( Curtis 1982, CIMMYT 1983, citado en Briggle y Curtis 1987 ).

## Producción en México

Durante el período que comprende de 1978 a 1982 se generaron en promedio 4 toneladas por hectárea al año e incluso algunos agricultores obtuvieron hasta 8 toneladas por hectárea.

Prácticamente todo el trigo sembrado en México crece bajo irrigación, obteniéndose en mayores cantidades en los valles costeros del noroeste de los estados de Sonora y Sinaloa. Alrededor de 100 000 hectáreas de trigo son sembradas en la región del Bajío ( Briggly y Curtis 1987 ).

## Descripción de la planta

El trigo presenta una inflorescencia compuesta ( espiga ) que reúne inflorescencias simples ( espiguillas ), la espiga va formándose en la caña a los 15 o 20 días del nacimiento de la plántula y se va elevando a medida que crece el tallo. La flor es hermafrodita tiene 3 estambres y 2 estilos con estigmas plumosos que permanecen cerrados hasta que se provoca la apertura o antesis, lo que coincide con la polinización.

La antesis comienza en la espiga del tallo principal y luego se va produciendo en las de los macollos. Dentro de una misma espiga, las primeras flores en abrirse son las ubicadas en el tercio superior, de ahí el fenómeno continúa hacia arriba y abajo completándose en un lapso de 2 ó 3 días. El tiempo total que dura la antesis en una planta es normalmente de 8 a 9 días. La fecundación de la planta es cleistógama y se lleva a cabo en un período que comprende entre 8 a 30 min, no es común la fecundación cruzada aunque puede ocurrir ( Lerster 1987 ).

Antes de la fecundación el ovario es globoso, bicarpelar y unilocular, es muy pequeño pues tiene un milímetro de ancho y uno de altura y presenta un óvulo anátropo. El gineceo es ínfero. En el momento de la fecundación el ovario sigue siendo pequeño, pero a partir de entonces comienza a desarrollarse y continúa aumentando de tamaño hasta tres o cuatro semanas. Después de 28 a 35 días, cesa la acumulación de agua e inicia el incremento del aporte de materia seca, con lo que también empieza a tener lugar una reducción de tamaño. Tres o cuatro semanas más determinan el fin de la madurez ( Kirby y Appleyard 1987 ).

El grano es un cariopside, o sea, un fruto seco indehisciente, estando la semilla bien adherida al fruto; la proporción de cada uno de sus componentes varía según forma y tamaño, pero en términos generales puede aceptarse la siguiente:

Embrión o germen.....	2 %
Endospermo.....	85 %
Cubiertas externas.....	13 %

## 2. CIMMYT

El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo es una institución privada, no lucrativa, financiada internacionalmente, de investigación científica y de capacitación que brinda especial enfoque al desarrollo de un programa a nivel mundial sobre mejoramiento de los cultivos de maíz, trigo, triticale y cebada a países en desarrollo.

Los orígenes del CIMMYT se asientan en 1943 dentro de un programa cooperativo de investigación y capacitación personal entre la Fundación Rockefeller y la Secretaría de Agricultura de México. Se genera en 1966, con el objetivo primordial de elevar los rendimientos de los cultivos de cereales en los países en desarrollo, siendo además un centro de investigación agrícola internacional ( CIMMYT 1987 ).

Para realizar su objetivo, en el CIMMYT se :

- llevan a cabo miles de cruza anuales con la finalidad de obtener material genético con rendimientos más altos, adaptación más amplia, mayor tolerancia a factores ambientales desfavorables, mejor resistencia a enfermedades y a insectos y calidad nutritiva superior; además actúa como el centro de una red de intercambio de germoplasma y ensayos entre científicos de alrededor de 125 países.
- generan procedimientos de investigación para alcanzar un mejoramiento más efectivo de los cultivos e intensificar programas de investigación para la producción.
- brinda ayuda a las naciones en desarrollo para organizar programas de investigación sobre maíz y trigo a través de colaboración y consultas en materia de investigación para el mejoramiento de los cultivos y el manejo de los mismos.

La investigación se realiza en cinco estaciones experimentales en México, cuatro de las cuales son operadas por el CIMMYT y una por el Instituto Nacional de Investigación Agrícola ( INIA ). Las cinco tienen un rango de altitud que va desde el nivel del mar hasta 2 640 msnm y difiere

marcadamente en los rangos de temperatura, humedad y radiación solar, de tal manera que el germoplasma experimental puede estar expuesto a muchas condiciones ambientales ( Mujeeb-Kazi y Jewell 1985 ).

### Investigaciones en trigo

El trigo proporciona más de la cuarta parte de la producción total de los granos de cereales más importantes y constituye la principal fuente de calorías para más de 1.5 millones de personas ( Mujeeb-Kazi y Jewell 1985 ).

Entre los principales granos de cereales, el trigo ha sido el que ha presentado la mayor tasa de rendimiento durante los últimos veinte años. Cerca de 35 millones de hectáreas de las zonas de las que se extrae en los países en desarrollo está sembrada con variedades que portan en su ascendencia germoplasma del trigo del CIMMYT.

### Desarrollo de germoplasma

El propósito central de los programas de mejoramiento del trigo que el CIMMYT promueve es el de generar germoplasma con una amplia adaptación y que responda al manejo para ser distribuido principalmente en los países en desarrollo, por tal motivo, se evalúa este material en varias localidades de la República Mexicana que presentan condiciones ambientales contrastantes y posteriormente en diferentes lugares del mundo; de tal modo que el CIMMYT ha podido crear germoplasma con buena adaptación tanto en latitudes de 53° N como en latitudes de 35° S.

El Centro distribuye una gran cantidad de germoplasma de trigo harinero de alto rendimiento, éste material posee buenas características de molienda y panificación, portando además resistencia a muchas de las enfermedades que se presentan en la zona de producción de los países no industrializados.

Además se ha dado gran importancia a la creación de germoplasma de trigo harinero de alto rendimiento que muestra una mejor adaptación a suelos problema, condiciones de sequía y condiciones desfavorables de altas o bajas temperaturas.

Otro objetivo de gran importancia es la reducción de la sensibilidad a las enfermedades del germoplasma de trigo harinero del CIMMYT, donde se

da particular importancia a las royas; ya que es la enfermedad que más amenaza la obtención de trigo

#### Investigación de Cruzas Amplias en el CIMMYT

La mayoría de los trabajos sobre cruzas amplias, comenzaron en 1972, con la colaboración del CIMMYT y otros Centros. La primera prioridad en el CIMMYT en la investigación de cruzas amplias del trigo fué la de introducir más proteínas y más lisinas a través del trigo mejorado (*Triticum aestivum* L.) a partir de cebada (*Hordeum vulgare*). La producción de híbridos y el mejoramiento de métodos para transferir genes de diferentes especies al trigo fueron otros de los objetivos que contemplaba el programa ( Mujeeb-Kazi y Jewell 1985 ).

El criterio para definir cruzas amplias en el CIMMYT es el siguiente:

- a) Una craza amplia, como en una hibridación normal, resulta de una F1 con el complemento cromosómico de ambos padres.
- b) Es importante que la F1 pueda poseer un fenotipo intermedio entre los padres.
- c) En la F1 las plantas masculinas pueden ser estériles.

Estos híbridos usualmente requieren de cruzas especiales y de técnicas de rescate de embriones; los que son capaces de producirse normalmente son autofértiles, pudiendo ser evaluados y seleccionados como parte del plan de mejoramiento y ser involucrados en programas de cruzas amplias. Esta información se extrae de especies relacionadas al trigo y al maíz, no con la finalidad de generar nuevas especies sino para el mejoramiento en ambos cultivos.

El proyecto de cruzas amplias en trigo hace énfasis en el mejoramiento, específicamente, en la incorporación de tolerancia a altas concentraciones de aluminio, cobre y sales presentes en los suelos; además de generar resistencia a mildew, royas y desecación ( Mujeeb-Kazi y Bernard 1982 ).

Se ha observado que algunas especies son excelentes fuentes de resistencia o tolerancia. Estas incluyen a especies tales como *Aegilops*, *Agropyron*, *Elymus*, *Hayhaldia* y *Secale*.. La hibridación del trigo con especies relacionadas ha sido alarmantemente baja, en principio porque presenta barreras de cruzamiento que inhiben la hibridación y además por el hecho de que los embriones se desarrollan pobremente.

### 3. MEJORAMIENTO GENETICO EN EL TRIGO

Durante la evolución de las Triticeae la base genómica de 7 pares de cromosomas homólogos ha sido modificada seguida de una especiación y alopoliploidización. De cualquier manera, el grado de similitud u homología ( Huskins 1931, citado en Gale y Miller 1987 ) se mantiene. El material genético puede ser transferido a *T. aestivum* directamente a partir de especies relativamente cercanas, con uno o más genomas en común con los trigos cultivables, mediante el uso de técnicas citogenéticas. La triplicación de gran parte del material genético en los hexaploides ( $2n=6X=42$ ) provee dos posibilidades que pueden ser explotadas en este tipo de transferencia; primero, el trigo puede tolerar la pérdida o adición de cromosomas enteros, comunmente sin afectar de manera drástica la viabilidad de la planta; y segundo, la presencia de genes duplicados en los dos genomas restantes puede enmascarar el efecto de un gen deletéreo presente en algún cromosoma extraño sustituido en un cromosoma del trigo del tercer genoma. Estos factores, unidos a los niveles de desarrollo de técnicas citogenéticas en los últimos 50 años, ha brindado la posibilidad de introducir material genético en el trigo a partir de otras especies ( Worland *et al.* 1987 ).

Las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Triticum*, han generado la formación de trigos hexaploides y la producción de gran número de híbridos inter e intraespecíficos en las Triticeae ( Maan 1987 ), que indican ciertamente que puede haber transferencia de genes extraños a los cromosomas del trigo.

En las Triticeae, la hibridación entre diferentes especies se remonta a 1876 cuando Wilson llevó a cabo la primera cruce amplia que involucraba al trigo y al centeno ( Citado en Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990 ). De entonces a la fecha se han realizado gran cantidad de cruces y se tiene que de las 325 especies de esta familia aproximadamente 250 son perennes y relativamente pocas de estas pueden ser hibridadas con el trigo. La generación de híbridos intergenéricos se asocia a una serie de técnicas como emasculación, polinización, tratamientos postpolinización con hormonas, rescate de embriones, diferenciación de embriones, crecimiento y transferencia de las plantas a medios de cultivos sólidos ( Mujeeb-Kazi y Bernard 1982, Mujeeb-Kazi y Miranda 1985 ).

Las barreras de cruzamiento y el desarrollo del embrión son las mayores limitantes para la creación de híbridos y la producción de haploides, así como también se ve limitada la explotación de la variabilidad genética a partir del aporte de material genético de otras especies.( Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990 ).

La generación temprana de híbridos intergenéricos se realizó mediante técnicas de emasculación y polinización como las que se emplean en programas convencionales de mejoramiento de trigo ( Mujeeb-Kazi y Miranda 1985 ) resultando aun más efectiva bajo condiciones controladas de invernadero y con tratamientos postpolinización de hormonas ( Mujeeb-Kazi y Bernard, 1982 ). La identificación inicial de haploides e híbridos se basa en el conteo cromosómico que se lleva a cabo en células mitóticas de los ápices de las raíces, en la cual pueden llegar a observarse las constricciones presentes en los cromosomas 1B, 6B y 5D, y de ésta manera se simplifica dicho trabajo. Para una identificación más detallada de los cuerpos cromatídicos la técnica de bandeo C ha resultado ser una herramienta ideal ( Lupton,1987 ).

A continuación se muestra la clasificación cromosómica de un trigo hexaploide ( Law *et al.* 1987 ):

### Genomas

	A	B	D
<b>Grupos homólogos</b>	1A	1B	1D
	2A	2B	2D
	3A	3B	3D
	4A	4B	4D
	5A	5B	5D
	6A	6B	6D
	7A	7B	7D

## Eliminación del genoma

El fenómeno de eliminación del genoma que sigue a la hibridación, o bien, a la polinización del trigo con maíz parece desencadenar la formación de la semilla, llevándose a cabo la doble fecundación; de la cual se obtiene, por un lado, un embrión totalmente viable haploide; y por el otro, la ausencia del endospermo o grandes alteraciones en caso de presentarse; en ambos fenómenos se observa la eliminación temprana de los cromosomas del maíz por asincronía en la división celular. Esto se ha observado en un número de híbridos intergenéricos que involucran entre otras especies a: *Hordeum X Triticum*, *Triticum X Hordeum*, *Hordeum X Secale*, *Triticum X Elymus*, *Agropyron X Triticum*, *Triticum aestivum X Zea mays* y *Triticum X Agropyron* ( Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990 ). Cabe señalar que para cruza con *Hordeum bulbosum* algunos genotipos de trigo tienen una mayor capacidad para combinarse ( Mujeeb-Kazi y Rodríguez 1984 ).

El mecanismo de eliminación cromosómica ocurre en etapas muy tempranas en el desarrollo postcigótico en cruza de *Triticum aestivum* y *H. bulbosum* ( Barclay 1975 ).

La eliminación del genoma es una fuente de información citogenética que se ha empleado recientemente tanto en cruza para producir híbridos como para obtener haploides.

#### 4. CAPACIDAD DE CRUZAMIENTO.

Muchas especies del género *Triticum* se pueden cruzar con otros géneros obteniendo híbridos de esta manera. En general, la mayoría de los híbridos intergenéricos e intragenéricos que involucran a este presentan esterilidad masculina, pero al producirse retrocruzas progenitoras a partir de la polinización con sus padres u otras especies relacionadas pueden ser fértiles. Las especies poliploides son fácilmente cruzables, ya sea femenino o masculino el sexo involucrado para la cruce entre especies diploides y poliploides. Además hay una sustancial variabilidad intra e interespecífica en cruces compatibles entre las especies de *Triticum* ( Maan 1987 ).

Snape *et al.* (1979), Falk y Kasha (1981), y Tanner y Falk (1981) reportaron una alta correlación entre la capacidad de cruce de especies cultivables de trigo con *Secale cereale* L. y con *Hordeum bulbosum* L. ( Citados en Mann 1987 ).

Se ha observado, además, que el evento de fertilización depende del genotipo de trigo empleado en la cruce ( Inagaki y Tahir 1990 ).

En otros estudios se ha demostrado que los óvulos de trigo después de 48 h de polinización con maíz han sido fecundados, a pesar de esto la mayoría de los sacos que llegan a presentar embrión tienen el desarrollo del endospermo muy alterado, tal situación puede deberse a las barreras de cruzamiento que tiene dicho cereal ( Laurie y Bennett 1987 ).

Lein (1943) identificó 2 genes: Kr1 y Kr2, los cuales contienen los alelos dominantes que afectan la capacidad de cruzamiento de los trigos hexaploides ( *Triticum aestivum* L. ) con otras especies ( Citado en Laurie y Bennett 1987 ). El gen Kr1 se localiza en el brazo largo del cromosoma 5B y el Kr2 en el brazo largo del 5A. Se ha observado en estudios de sustitución de cromosomas que el trigo que porta el gen Kr1 tiene un bajo porcentaje de producción de semillas cuando es polinizado con el centeno y muy poca o nula con *H. bulbosum*; mientras que las plantas que acarrean el gen Kr2 muestran una reducción drástica en cuanto a la capacidad de cruce con el centeno y pueden permanecer compatibles ( a ser cruzadas ) con *H. bulbosum* ( Laurie y Bennett 1987 ). Los genes Kr1 y Kr2 actúan de manera independiente ya que se ha visto que sus efectos se manifiestan en líneas con sustitución cromosómica simple y los trigos que poseen los dos alelos poseen muy poco cruzamiento con otras especies.

El gen Kr actúa inhibiendo el crecimiento del tubo polínico en la base del estilo y en el conducto del ovario del trigo, esto para ambas cruzas; Trigo X Maíz o Trigo X *H. bulbosum*. Incrementando la dosis de Kr1 o Kr2 se reduce la capacidad de cruce, pero aumentando la dosis de kr1 y kr2 falta la promoción de la capacidad de cruce. Esto sugiere que Kr1 y Kr2 activan la inhibición de la capacidad de cruce y que kr1 y kr2 son nulialélicos ( Laurie y Bennett 1987 ). Es interesante determinar el efecto de los genes Kr en cruzas de Trigo X Maíz por dos razones:

a) La creación de haploides vía la eliminación de cromosomas en cruzas de *H. vulgare* X *H. bulbosum*, puede ser ampliamente usada en programas de mejoramiento de cebada, pero ha sido imposible explotar las cruzas de Trigo X *H. bulbosum* para la producción de haploides debido a la presencia de los genes Kr1 y Kr2 en muchos cultivos de trigo. Este problema puede reducir si el maíz puede hibridar trigos aún cuando posean los genes Kr1 y Kr2.

b) Existe gran interés en desarrollar técnicas para transferir ADN del maíz a través del trigo, con la finalidad en un principio, de obtener híbridos genotípicamente estables. Se observa que en cruzas de *H. bulbosum* con trigo las frecuencias de híbridos y haploides producidos se ve afectada por los genotipos de los padres mientras que en cruzas de maíz con trigo esto no sucede, de tal manera que si el maíz puede hibridar trigos que portan los genes Kr, el número potencial de parentales de trigo que puede ser empleado en experimentos de hibridación se puede ver favorablemente incrementado.

Invariablemente los embriones híbridos muestran eliminación de cromosomas, lo cual se debe al fracaso de los cromosomas del maíz a fijarse al huso mitótico durante las divisiones. Esto sugiere que este mecanismo es similar al observado en híbridos de *H. bulbosum*. La anulación cromosómica ocurre tempranamente en el desarrollo del embrión, desde que esta formado por 4 células, se muestran 21 cromosomas de trigo. El endospermo que se desarrolla mediante cruzas de maíz presenta una marcada asincronía del ciclo celular y frecuentemente despliega anomalías citológicas tales como puentes de cromatina, células deformes, eliminación de cromosomas y la presencia de micronúcleos.

El Kr1 que es el más potente de los dos genes y reduce la capacidad de cruzamiento del trigo con el centeno y con *H. bulbosum*, aparentemente no tiene efecto en la capacidad de cruza con el maíz. Las cruzas de trigo con maíz pueden ser empleadas para la formación de haploides de trigo, debido a que los genes Kr1 y Kr2 parecen no tener efecto en dicha cruza ( Worland *et al.* 1987 ).

Por la presencia de éstos genes la mayoría de los genotipos de trigo no son compatibles con *H. bulbosum*. Además, en experimentos realizados por Inagaki y Tahir (1990) se describe que con un tratamiento postpolinización de ácido 2,4 diclorofenoxiacético a las espigas de trigo germinadas con maíz, se desarrollan embriones haploides capaces de generar plantas haploides a partir de cigotos híbridos.

Las ventajas que presenta la cruza de maíz con trigo para la obtención de haploides es que muchas de las variedades de trigo que no son capaces de generar haploides mediante cruzas con *Hordeum bulbosum*, si se pueden crear mediante cruzas con maíz. A pesar de esto la formación de haploides es todavía muy baja, ya que Inagaki y Tahir ( 1990 ) reportaron que sólo ocurre en un 10% de los floretes polinizados.

## 5. TRANSLOCACION 1B/1R

Debido a la manipulación genética ( exposición a agentes químicos, cruza inter e intraespecíficas, etc. ) de que ha sido objeto el trigo por ser una planta de interés alimenticio y comercial para el hombre; ha sufrido algunas translocaciones ( Konzak 1987 ), en el caso de cruza amplias, las translocaciones espontáneas ocurren entre los cromosomas ajenos y los cromosomas del trigo. Algunos trigos cultivables europeos acarrean la translocación espontánea 1B/1R ( Merker 1982, Knott 1987, Friebe *et al.* 1989).

Los cromosomas extraños y los segmentos intercambiables del trigo han sido transmitidos de manera no intencional a través del desarrollo de la selección de trigos de unos a otros ( Mettin *et al.* 1973 ).

Las translocaciones han contribuido significativamente a la resistencia de enfermedades, teniendo mayor impacto las translocaciones 1A/1R y 1B/1R, donde la segunda es la más importante. Esta translocación presumiblemente ocasionada por un proceso de ruptura y fusión del centrómero involucra a los cromosomas 1B del trigo y 1R del centeno, donde el segmento 1RS fué donado por el centeno ( Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990 ).

Kattermann (1937), fué el primero en reportar la sustitución entre el trigo y el centeno ( Citado en Zeller, 1973 ).

En el trigo se presentan 21 cromosomas arreglados en tres diferentes grupos ( genoma A, B y D ), cada uno consiste de dos brazos, los cuales para algunos son realmente distinguibles ya que difieren en longitud. El centeno, en comparación, contiene un sólo grupo ( genoma R ) de cromosomas. En las líneas con la sustitución 1B/1R, el 1B del trigo ha sido cambiado por el 1R del centeno, mientras que en la translocación 1B/1R, el brazo corto del 1B ha sido reemplazado por el brazo corto del 1R ( Dhaliwal *et al.* 1986 ).

En preparaciones de raíz de trigo que presentan dicha translocación de manera homocigótica sólo se observan dos cromosomas con satélites, 6B, 6B. El satélite del 1RS no se presenta. Todo esto puede ser identificado por bandeó C ( Merker 1982 ) o por bandeó N ( Mujeeb-Kazi y Miranda 1985 ) para dar un diagnóstico correcto, de forma que en células con 42 cromosomas se ven 3 ó 5 cromosomas con satélites; 1B, 6B, 6B y ocasionalmente 5D, 5D.

El cromosoma con translocación 1B/1R ha sido ampliamente usado en varios programas de mejoramiento alrededor del mundo; por las siguientes razones:

- a) El brazo corto del cromosoma 1R deriva de centeno Petkus que incluye genes para la resistencia a rollas (*Puccinia striiformis*) y mildiums (*Erysiphe graminis*) (Zeller 1973, Friebe *et al.* 1989, Ter-Kuile *et al.* 1992).
- b) Algunos trigos que contienen ésta translocación se han adaptado muy bien en los ambientes en los que se cultivan.

En contraste con el sustancial y benéfico efecto agronómico, la translocación 1B/1R pudiera tener serios efectos desventajosos en la calidad del trigo ( Dhaliwal *et al.* 1986 ). Algunos resultados indican que se pueden obtener trigos de buena calidad con la translocación 1B/1R. La presencia del cromosoma 1R del centeno en el trigo para pan se puede asociar a variaciones en la viscoelasticidad, se demostró también que la translocación 1B/1R no es la mayor responsable en reducir la calidad de la harina de trigo ( Peña *et al.* 1990 ). Además Dhaliwal *et al.* (1986 ) describió que no presenta efectos nocivos con respecto al tamaño del grano, el contenido protéico y calidad de la molienda.

Para la fácil identificación de la translocación se puede contar el número de satélites en los cromosomas de las muestras de células de raíz.

Como se puede ver los beneficios del mejoramiento han derivado a través de la introgresión de material genético ajeno, como queda ejemplificado por las variedades del CIMMYT que portan la translocación 1B/1R; que ha tenido mayor difusión por su alta adaptación, gran estabilidad, tolerancia a suelos con altas concentraciones de aluminio y resistencia a royas ocasionadas por *Septoria tritici* ( Ter-Kuile *et al.* 1992 ).

Para la realización de éste trabajo se emplearon 22 variedades de trigo ; algunas de éstas portan la translocación 1B/1R y las otras como se puede observar en la Tabla 1 presentan cromosomas 1B normales.

## 6. BANDEO CROMOSOMICO

La estructura cromosómica del genoma nuclear varía considerablemente durante el ciclo celular, pero los cromosomas han sido estudiados por los citogenetistas en metafase de mitosis y meiosis, que es cuando más condensados se encuentran y resulta fácil su observación y conteo ( Flavell *et al.* 1987 ).

En los años setenta y principios de los ochenta se han producido los más excitantes avances en la identificación de cromosomas de plantas y animales. Entre ellos algunos métodos especializados como el bandeo con Giemsa han sido muy útiles. Dos técnicas han sido las más empleadas para estudios citogenéticos en el trigo y otros cereales; dichos métodos son el bandeo C y el bandeo N. Desde el primer reporte de la identificación de cromosomas del trigo común por bandeo C ( Gill y Kimber 1974a, Natarajan y Sharma 1974, Zurabishvili *et al.* 1974, citados en Gill 1987 ) y por bandeo N ( Gerlach 1977, citado en Gill 1987 ), han ocurrido muchos progresos.

El primer reporte de técnicas de bandeo se realizó en cromosomas de animales ( Hsu 1973, citado en Gill 1987 ), en el cual se describe que las bandas consistían de heterocromatina constitutiva. Entre las especies de cereales, la primera demostración del método de bandeo C fué llevada a cabo en el centeno ( *Secale cereale* L. ), triticale y en el trigo ( Merker 1973, Sharma y Natarajan 1973, Gill y Kimber 1974a, 1974b, 1974c, Shchapora 1974, Verma y Rees 1974, Zurabishvili *et al.* 1974, 1978, citados en Gill 1987 ).

Gerlach (1977) ( citado en Gill 1987 ) y Jewell (1979) mostraron que la técnica de bandeo N podría ser o no específica para especies de cereales con regiones de organizador nucleolar, revelando heterocromatina especializada en 9 de los 21 cromosomas del trigo. Subsecuentemente, Endo y Gill (1984a) identificaron 16 de los 21 cromosomas del trigo común mediante mejoramiento en la técnica de bandeo N ( citado en Jewell y Mujeeb-Kazi 1982 ).

Las diferencias entre el bandeo C y el N en la cromatina es debida a bases bioquímicas, la técnica de bandeo C comienza con una tinción de todas las clases de heterocromatina y la de bandeo N revela sólo la heterocromatina especializada que contiene secuencias de ADN con polipirimidina; por tal

motivo el bandeo C posee la capacidad de identificar todos los cromosomas del trigo y de otros cereales; no así el N.

En los primeros estudios efectuados en el trigo con el bandeo C, Gill y Kimber (1974) y también Lukaszewski y Gustafson (1983) usaron una nomenclatura genética estándar para designar a los cromosomas ( Citado en Gill 1987 ). Iordansky *et al.* (1978) emplearon la nomenclatura citológica generalizada para cromosomas de cereales emitida en la Conferencia de París (1971), para la clasificación de los cromosomas de acuerdo a su longitud y la descripción de las bandas de los 21 cromosomas del trigo común: Chinese Spring ( Citado en Gill 1987 ).

Con la gran aplicación de las técnicas de bandeo en el análisis citogenético y debido al polimorfismo que se presenta en muchos cultivos, ha sido necesario estandarizar la nomenclatura de estas técnicas para el trigo.

La designación de los brazos del cromosoma y sus bandas fueron realizadas siguiendo las instrucciones de la conferencia de París ( 1971). La nomenclatura en el trigo está basada en las bandas C y N. El brazo corto es designado como p y el brazo largo como q; son subdivididos en regiones basadas en las marcas particulares de los cromosomas. Una marca particular se define como una característica morfológica distintiva que representa una herramienta importante para la identificación del cromosoma. La región es cualquier área de un cromosoma que se encuentre entre dos marcas particulares. La banda representa una parte del cromosoma claramente distinguible de las partes adyacentes por su propiedad de mostrar una tinción clara u oscura. Cada cromosoma consiste de una serie de bandas claras y oscuras contínuas; por definición, no puede haber interbandas. Las regiones y las bandas son numeradas consecutivamente a partir del centrómero a lo largo de ambos brazos del cromosoma ( Conferencia de París 1971, citado en Gill 1987 ).

Las dos regiones adyacentes al centrómero son denominadas como 1 en cada brazo, la siguiente, es una región más distal se denomina 2 y así sucesivamente.

El trigo común muestra bandas oscuras y claras que representan heterocromatina y eucromatina respectivamente, de tal manera que se da el caso de algunas diferencias específicas en los patrones de bandeo C en

distintas variedades, lo que indica que existe polimorfismo en la heterocromatina C.

Debido a situaciones especiales que presenta el trigo se han hecho algunas modificaciones; como es el caso de que las bandas oscuras no siempre sean reproducibles en todos los cromosomas y por tal motivo han sido designadas como bandas punteadas y no les corresponde un número de banda.

En el genoma A, el cromosoma 1A puede ser distinguible del 2A y 3A por las bandas oscuras terminales en ambos brazos y por la ausencia de cualquier otra banda mayor. El cromosoma 3A es distinguible del 2A por su banda específica 3Ap21. En el genoma B, los cromosomas 1B y 6B tienen organizador nucleolar, lo que se puede apreciar por la presencia de satélites en ambos cromosomas ( Merker 1982 ). El 3B tiene un gran número de bandas características en el brazo p y puede ser distinguible del 2B por su región terminal en el brazo q. Con lo que respecta al genoma D, el cromosoma 1D puede ser distinguible del 6D por su base, los cromosomas 3D, 4D 5D y 7D tienen bandas diagnósticas y pueden ser fáciles de identificar.

Mediante dicha técnica es posible detectar, como ya se mencionó, cada uno de los cromosomas del trigo e incluso la translocación 1B/1R ( Friebe *et al.* 1989 ), la cual se observa en el brazo corto del cromosoma 1B y se caracteriza por presentar una banda terminal y otra inferior a esta, ambas claramente marcadas aún cuando el bandeo no haya sido favorable para los demás cromosomas.

En la Figura 1 se muestra el idiograma y la designación de bandas en los 21 cromosomas de *Triticum aestivum* L. de acuerdo con la nomenclatura estándar para bandeo cromosómico propuesto en la Conferencia de París (1971).

## II ANTECEDENTES

En el trigo, las plantas haploides pueden producirse a través del cultivo de anteras o por medio de cruzas con *H. bulbosum*, ésta última demostró por algún tiempo ser la más eficiente; a pesar de que la mayoría de las variedades demuestran ser incompatibles con *H. bulbosum* debido a la presencia de los genes Kr1 y Kr2 de los que ya se habló previamente, los cuales restringen la aplicación de ésta técnica en el mejoramiento de este cereal ( Kazuhiro y Kousuke 1989 ).

Recientemente, las cruzas intergenéricas entre el trigo y el maíz han sugerido una alternativa para la producción de haploides ( Laurie y Bennett 1988, Kazuhiro y Kousuke 1989, Inagaki y Tahir 1990, Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990 ), para llevar a cabo este paso han sido necesarios los tratamientos hormonales que en un principio eran de ácido giberélico ( Mujeeb-Kazi y Bernard 1982 ) y posteriormente con una auxina sintética; ácido 2,4 diclorofenoxiacético. Se ha visto que las auxinas involucran una variedad de respuestas diversas en cuanto al crecimiento y desarrollo de las plantas se refiere, desde elongación hasta división y diferenciación celular por lo que se ha sugerido que las auxinas afectan la síntesis de ácido nucleico pudiendo además influir en la proliferación celular ( Davies 1987, Hagen 1987 ). Se especula que la aplicación de 2,4-D, promueve el desarrollo del embrión, cuando se aplica este compuesto antes de la polinización provoca un alargamiento celular (expansión celular), que promueve cambios morfológicos o fisiológicos que son un obstáculo para el proceso de fecundación ( Kazuhiro y Kousuke 1989 ), pero al ser suministrado en tratamientos postpolinización se incrementa la producción de haploides.

Los embriones obtenidos a partir de cruzas con trigo y *H. bulbosum* que se desarrollan por 2 semanas después de la polinización deben ser transferidos a medio Murashige y Skoog (1962) para generar plantas haploides ( Riera *et al.* 1992 ).

Trabajos realizados por Inagaki y Tahir (1990) han descrito que la fertilización de trigo con maíz, fué más exitosa que con *H. bulbosum* y además señalan que para la inducción de haploides de trigo los pasos más importantes que deben tomarse en cuenta son:

- a) Que se lleve a cabo la fertilización en la cruz intergenérica.

**b) Realizar el rescate y cultivo de embriones para que se desarrollen en plantas haploides.**

En estudios efectuados por Laurie y Bennett (1988), señalan que el embrión y el endospermo son encontrados comúnmente en un 20 - 30 % de los floretes de trigos hexaploides polinizados con maíz. Los cigotos contienen un complemento haploide de cromosomas de cada padre, pero los del maíz poseen una pobre afinidad al huso mitótico (microtúbulos), como resultado de ésto se pierden en las primeras divisiones los cromosomas del maíz, quedando en el embrión un complemento haploide del trigo. El endospermo es absorbido o resulta altamente aberrante. A pesar de que ambos géneros están en diferentes subfamilias de Gramíneas ( Hutchinson 1959, citado en Laurie y Bennett 1988 ), es posible que se de la fertilización de la ovocélula o los núcleos polares.

### **III OBJETIVOS**

El principal objetivo de éste trabajo consiste en la producción de haploides de trigo (*Triticum aestivum* L. ) de 22 diferentes variedades mediante cruza de maíz (*Zea mays* L. ).

Dentro de éste contexto se formularon como objetivos particulares los siguientes:

- a) Identificación de plantas heterocigóticas ( 1B, 1B/1R ) para ser empleadas en la producción de haploides mediante el análisis citológico (conteo y bandedo cromosómico), para ser utilizadas en la inducción de haploides de trigo.
- b) Observación del tipo de segregación que presenta la translocación 1B/1R a partir de plantas heterocigóticas ( 1B, 1B/1R ) mediante la producción de haploides y demostrar que el tipo de segregación que se espera es de 1:1.
- c) Identificación de posibles diferencias en el tipo de segregación entre cada una de las variedades.
- d) Obtención y cultivo de embriones haploides de trigo a partir de cruza con maíz; empleando la técnica de rescate de embriones.
- e) Identificación de embriones haploides por medio de técnicas de conteo y bandedo cromosómico.

#### **IV MATERIAL Y METODOS**

##### **Material biológico**

Se seleccionaron ocho semillas de cada uno de los siguientes pedigries:

##### **Material de primera retrocruza (RC I):**

- Ald "s" / Pvn "s" //Cno 79 /3/ Ald "s" / Pvn "s"
- Fink "s" / Pvn "s" // Fink "s"
- Opata / Glenn 81 // Opata
- Pfau "s" / Seri // Pfau "s"
- Ures / Buc "s" //Cno 79 /3/ Ures / Buc "s"

##### **Material de segunda retrocruza (RC II):**

- Aga / 6 \* Yr // Seri /3/ 2 \* Aga/ 6 \* Yr
- Bau "s" / Cno 79 // 2 \* Bau "s"
- Bau "s" / Pvn "s" // 2 \* Bau "s"
- Bow "s" / Cno 79 // 2 \* Bow "s"
- Buc "s" // Maya "s" / Mon "s" /3/ Seri /4/ 2 \* Buc "s" // Maya "s" / Mon "s"
- Cno 79 / Glenn // 2 \* Cno 79
- Esda / Glenn 81 // 2 \* Esda

- Glenn 81 / Cno 79 // 2 \* Glenn 81
- Kauz "s" / Pvn "s" // 2 \* Kauz "s"
- Mirlo "s" / Buc "s" // Seri /3/ 2 \* Mirlo "s" / Buc "s"
- Oco / Glenn 81 // 2 \* Oco
- Pgos / Glenn 81 // 2 \* Pgos
- Pvn "s" / Buc "s" // Seri /3/ 2 \* Pvn "s" / Buc "s"
- Pvn / Seri // 2 \* Pvn
- SPB "s" / Pvn "s" // 2 \* SPB "s"
- Vee # 10 / Pvn "s" // 2 \* Vee # 10
- Yaco "s" / Glenn 81 // 2 \* Yaco "s"

Se separaron en embrión y en endospermo cada una de las semillas, cabe señalar en este punto que los endospermos fueron empleados en un trabajo que se desarrolló de manera conjunta para identificar mediante electroforésis las semillas que posean la translocación 1B/1R; mientras que los embriones se pusieron a germinar en cajas de Petri, de acuerdo a la técnica de germinación de trigo que a continuación se describe:

- a) Se ponen las semillas en cajas de Petri con papel filtro húmedo (durante una noche).
- b) Se pasan al refrigerador por uno o dos días .
- c) Se sacan del refrigerador y se quita el exceso de agua; se ponen por una noche en la oscuridad .
- d) Cuando se han desarrollado las raíces pueden ser colectadas para el análisis citológico ( conteo y bandeas cromosómico ).

Una vez que germinaron fueron transplantados a pequeños recipientes de turba comprimida, donde se mantuvieron hasta que se formó una plántula de aproximadamente 15 cm que ya posea raíces adventicias que salen del recipiente que la contiene, en este momento se colectaron los ápices de las raíces y se realizaron preparaciones para la observación de cromosomas en microscopio Zeiss con el objetivo 100 X empleando oculares de 10 X ; se efectuó el conteo cromosómico en cada una de las preparaciones ( Modificado de Mujeeb-Kazi y Miranda 1985 ).

a) Se colectan las puntas de las raíces de las plantas y se dejan por 3 horas en colchicina (Sigma).

b) Se pasan a orceina (Sigma) al 2 % y se mantienen en refrigeración por un período de 15 días.

c) Se saca la raíz y se sumerge en un tubo de ensayo con ácido acético (Merck) al 45% se coloca en fuego hasta que comience a hervir.

d) Se pone la raíz en papel filtro, se le corta el ápice (aproximadamente 1 mm ) y se deposita sobre el portaobjetos; se presiona la punta de la raíz para que salgan las células internas.

e) Se aplican dos gotas de ácido acético (Merck) al 45 % , se coloca el cubreobjetos y se detiene éste por una esquina con un tapón de corcho para golpear con la aguja de disección en el lugar donde está la masa celular.

f) Se pasa la preparación por la flama durante tres segundos y se vuelve a golpear.

g) La preparación se acomoda en papel filtro y sin mover el cubreobjetos se oprime fuertemente con la yema del dedo pulgar y se observa al microscopio (primero con el objetivo de 10 X para ubicar la masa celular, una vez que se ha localizado se pueden observar los cromosomas a 40 X; para obtener el número cromosómico de cada planta se lee un mínimo de tres células en metafase por cada preparación).

Estas mismas preparaciones fueron empleadas para bandeo C ( Giraldez *et al.* 1979 ) de manera que pudieran ser identificadas las plantas heterocigóticas para la translocación 1B/1R:

- a) Las preparaciones obtenidas de la raíz de trigo se colocan por 30 min en hielo seco.
- b) Se remueve el cubreobjetos, se dejan en ácido acético (Merck) al 45 % a 60° C por 30 min.
- c) Se colocan en alcohol absoluto (Baker) durante 24 h a temperatura bajo cero , o bien , una hora en alcohol absoluto a temperatura ambiente.
- d) Se dejan secar y se colocan en el desecador para que no se rehidraten, por 10 min.
- e) Se introducen en el ácido clorhídrico (0.2 N) (Baker) a 60 ° C por 30 seg, se sacan y se enjuagan con agua destilada.
- f) Se sumergen en hidróxido de bario (Baker) a temperatura ambiente por siete min (solución hidróxido de bario saturada).
- g) Se enjuaga en agua destilada (tres veces con diferente agua).
- h) Se colocan en 2 XSSC (citrato de sodio salino) (Baker) por 1 h a 60 ° C.
- i) Se transfieren los portaobjetos de 2 XSSC directamente a la solución de 1 a 5% Giemsa (Sigma) en amortiguador de fosfatos (Baker); se comienza usando soluciones del 1 % y se controla la tinción bajo el microscopio, si es necesario se aumenta la cantidad de Giemsa. La tinción tarda de 10 a 20 min y varía de preparación a preparación, si los cromosomas se observan muy azules los tratamientos con ácido clorhídrico (Baker) tiene que ser más largos (un min aproximadamente) o con hidróxido de bario (Baker) más cortos (hasta cinco min).
- k) Se sacan y se montan con solución amortiguadora. Si ya se encuentran teñidas se quita el cubreobjetos y se dejan secar por espacio de 24 h. A

continuación se montan permanentemente en permounth (Fisher scientific) o puede emplearse bálsamo de Canada.

Las plantas seleccionadas se transplantaron y una vez que comenzaron a desarrollarse las espigas se realizó la emasculación que es una técnica que se emplea para evitar la polinización, ya sea en la misma planta o con otras; para ello es necesario que se corten las anteras antes de que se encuentren maduras, ésto es aproximadamente tres meses después de la germinación ( Soldano 1985 ). De cada espiguilla se corta el florete central desde la base, posteriormente se cortan todos los floretes de forma horizontal hasta la mitad y a cada uno de éstos se les quita las tres anteras que poseen cada, éstas tienen que ser arrancadas desde la base; se coloca una bolsa de papel encerado para evitar la polinización con otras plantas. La polinización con maíz se lleva a cabo cuatro días después de la emasculación; se recolecta polen de maíz y se sacude en las bolsas de papel encerado en las que se encuentran las espigas de trigo. Después de 24 h de la polinización se aplica a cada florete que es polinizado ácido 2,4 diclorofenoxiacético para favorecer el desarrollo del embrión ( Inagaki y Tahir 1990 ).

#### Rescate de embriones

Al cabo de cuatro días de la aplicación de 2-4 D , se cortan las espiguillas y se colocan todas las de una misma espiga en un frasco. Se agrega una solución que contiene 1 parte de cloro (cloralex) por 4 partes de agua destilada y 5 ml de twin; se dejan 15 min en esta solución y luego se lavan con agua destilada y esterilizada tres veces. Bajo el microscopio de disección se observa la semilla y se separa poco a poco la testa para no dañar al embrión, una vez que se obtienen de esta manera son colocados en viales con medio Murashige y Skoog (1962) donde permanecen hasta ser transplantados a macetas. Una vez que dichos embriones se desarrollan en plántulas se colectaron las raíces para realizar el conteo y posteriormente el bandedo cromosómico.

## V RESULTADOS Y DISCUSION

Uno de los primeros objetivos planteados fué el de identificar mediante conteo y bandeo cromosómico a las plantas heterocigóticas para la translocación ( 1B,1B/1R ), con la finalidad de que éstas se seleccionaran para producir embriones haploides, de tal manera que se pudiera observar que tipo de segregación presenta la translocación. Cabe señalar en este punto que no todas las plantas pudieron ser sometidas a dicho análisis debido a que muchas de ellas no germinaron o bien la planta no llegó al tamaño óptimo para que le fueran colectadas las raíces.

En primera instancia se realizó el conteo cromosómico para tener la seguridad de que en realidad se trataba de trigos hexaploides ( $2n=6x=42$ ); ésto pudo llevarse a cabo gracias a que una vez que las semillas son puestas a germinar y se han desarrollado en pequeñas plántulas de alrededor de 15 cm de longitud las raíces son sometidas a falta de agua como se indica en la metodología, y por lo tanto al ponerse en contacto nuevamente con el agua son inducidas a dividirse, presentando en cada una de las preparaciones hechas a partir de éstas gran cantidad de células en división en las que se pueden observar perfectamente los cromosomas metafásicos. Esta técnica además permite corroborar que en realidad se trata de una sola célula ya que la pared celular se nota perfectamente delimitada.

Para cada una de las plantas se elabora una preparación, de donde se localizan por lo menos tres núcleos celulares completos para el análisis cromosómico, incluso son evidentes las constricciones en los cromosomas sin el empleo de técnicas de bandeo; cuando la translocación se encuentra de manera homocigótica se observan dos cromosomas con satélites ( 6B,6B ) ya que el satélite del brazo 1RS no se expresa cuando es transferido al trigo porque se fusiona con el brazo corto del cromosoma 1B del trigo ( Merker 1982 ), mientras que si se presentan en forma heterocigótica pueden verse tres cromosomas con satélite: los dos cromosomas 6B y uno 1B. Estas mismas preparaciones fueron empleadas para realizar el bandeo cromosómico, mediante el cual se pudieron identificar tres genotipos, los resultados de ambos análisis se indican en la Tabla 2 y se resumen en la Tabla 3. Al respecto de dichos resultados se puede señalar que las proporciones genotípicas que se observan para cada una de las variedades siguen patrones de segregación muy diversos, esto en primera instancia se

debe a que son seleccionadas exclusivamente ocho semillas porque tanto la germinación y el cuidado de las plantas que de éstas se generen requieren del empleo de turba comprimida cada una y posteriormente de una maceta por cada dos plantas lo que implica el uso de un espacio considerable en el invernadero, donde además se llevan a cabo otros experimentos; por otro lado si se considera que cada planta puede producir alrededor de 120 semillas en promedio, se ve entonces que ocho es un tamaño de muestra en el cual no podemos basarnos para hacer un análisis segregacional. Lo importante de estos resultados es identificar a las plantas que portan la translocación de forma heterocigótica.

El análisis por bandeo C muestra sitios de bandeo positivos específicos como los reportados en Ter-Kuile *et al.* 1992. En la Figura 2 se pueden observar los cromosomas representativos de una planta con genotipo 1B,1B ( ambos señalados con flechas ), que por medio de dichas técnica se pueden identificar y donde resulta característico la gran tinción que presentan ambos cromosomas a lo largo de sus dos brazos y la banda media y terminal del brazo largo, además de presentar como ya se mencionó anteriormente una región de satélite en el brazo corto. En el siguiente figura ( Figura 3 ) se muestra una célula heterocigótica para la translocación ( 1B, 1B/1R ), en el extremo superior izquierdo se aprecia el cromosoma 1B/1R que denota un brazo largo con sitios de bandeo a la mitad y en la región centromérica, característico del cromosoma 1B del trigo; pero además tiene una doble banda terminal en el brazo corto que es específica para determinar la presencia de la translocación, mientras en la parte inferior de la fotografía se aprecia el cromosoma 1B normal con las características ya mencionadas. La Figura 4 representa a una planta homocigótica para la translocación en donde se observan dos cromosomas 1B/1R que pueden distinguirse claramente ( flechas ).

La Figura 5 nos muestra de manera comparativa a nivel morfológico al cromosoma 1B normal ( A ), al 1B/1R que presenta la translocación ( B ), ambos con las características que ya se describieron anteriormente; y por último al 1R del centeno ( C ), que tiene un patrón característico de bandas con regiones de heterocromatina en la parte terminal del brazo corto y la otra al final del satélite, este brazo corto del centeno provee a los trigos de invierno de muchos beneficios de los que ya se habló; y ahora que se ha propagado a trigos de primavera adaptados éstos a climas templados

de latitudes bajas no les confiere ningún carácter de invierno que los pueda afectar (Merker 1982).

El bandeo C con Giemsa demostró ser estable para el análisis citológico de la translocación, ya que aún cuando no resulte tan específico en algunos casos para los demás cromosomas, la translocación siempre puede apreciarse.

Mediante éstas técnicas se pudo identificar a las plantas que posean la translocación de manera heterocigótica como ya se mencionó y una vez que fueron seleccionadas se transplantaron a macetas donde se mantuvieron en el invernadero, hasta que se desarrollaron en ellas las espigas; que son emasculadas antes de que el polen madure. Después de esto se lleva a cabo la polinización con maíz y un tratamiento posterior con ácido 2,4 diclorofenoxiacético, ya que los trabajos realizados por Kazuhiro y Kousuke (1989) e Inagaki y Tahir (1990) han mostrado que dan como resultado la producción de embriones capaces de generar plantas haploides cuando son rescatados y transplantados a un medio de cultivo (Murashige y Skoog, 1962) y donde se mantienen hasta poder realizar el análisis citológico.

Una vez que los embriones se desarrollaron en plantas de aproximadamente 10-15 cm, se colectaron ápices de las raíces de cada una y se hizo el análisis citológico; todas las generadas de ésta manera presentaron un número cromosómico haploide debido a la eliminación cromosómica lo cual concuerda con los trabajos de varios autores que describen este mismo hecho (Barclay 1975, Laurie y Bennett 1987, 1988, Inagaki y Tahir 1990, Mujeeb-Kazi y Asiedu 1990). Los resultados obtenidos de lo anterior se observan en la Tabla 4, donde de 298 haploides obtenidos; 152 poseen genotipo 1B/1R y 146, 1B. En la Figura 6 se analizan los haploides generados en cada variedad y en la cual se puede constatar que la distribución 1:1 esperada no sucede para todos los casos; se presentan diferencias de dos o tres individuos hasta los casos de las variedades 8,9,10 y 13 donde las hay de hasta tres y cuatro individuos, suponemos que se debe en este caso a cierta incertidumbre ligada al análisis citológico por no se presentaron muchas células en división en algunas raíces y el conteo e identificación se llevó en una o dos células, por otro lado el tamaño de muestra es baja debido a los problemas metodológicos inherentes a la obtención de haploides, sin embargo ambos genotipos (1B y 1B/1R) se presentan en todas las variedades y al conocer el número de haploides

producidos se aplica la prueba de ji cuadrada, la cual indica si las frecuencias observadas y las esperadas no muestran diferencias significativas; como puede observarse en la Tabla 5, la ji cuadrada para dichos datos fué de 0.12, mientras que la de tablas fué de 3.84; con un grado de libertad y 0.05 como nivel de significación.

Lo anterior implica estadísticamente que no hay diferencias entre los datos observados y los esperados; este hecho se apoya en los resultados descritos por Mettin (1973) en donde mediante la observación de cromosomas con satélite reporta que aparentemente no existen diferencias entre la segregación del cromosoma 1B normal y el 1B/1R; además, Rayburn y Mornhinweg (1988) señala que hay datos que pueden indicar que se da una transmisión normal de los gametos femeninos y los masculinos que contienen el cromosoma con la translocación; por lo anterior se puede sugerir que la segregación para la translocación 1B/1R es de 1:1.

Se observa también que la producción de semillas de cruza entre el trigo y el maíz tienen un endospermo anormal, con el embrión flotando en solución dentro de la semilla; generalmente cualquier embrión recobrado a partir de un endospermo no sólido y anormal es un haploide, dicha característica podría ser empleada como diagnóstico morfológico.

Lo cual coincide con lo reportado por otros autores ( Inagaki y Tahir 1990, Riera *et al.* 1992 ) quienes recobraron embriones haploides de diferentes variedades de trigo, lo que resulta de gran ventaja ya que una de las principales limitantes en cruza de éste cereal con *Hordeum bulbosum* para generar haploides es el tipo de variedad de trigo que es empleado en la crua, pues no con todas puede inducir haploides.

La baja recuperación de embriones en este estudio es comparada con lo encontrado por Riera y Mujeeb-Kazi (1990) y Riera *et al.* (1992), ésto se debe probablemente a la imposibilidad de mantener un medio totalmente estéril para los embriones. Al respecto cabe la posibilidad de perfeccionar las técnicas para el rescate y obtención de embriones haploides y por consecuencia incrementar el número por planta.

El uso de cruza de maíz con trigo es muy alentador porque aparentemente no hay diferencia para obtener haploides entre las diversas variedades de trigo y tampoco se observa que los genes Kr tengan gran efecto en dichas cruza ( Laurie y Bennett 1987, 1988 ).

Además se ha visto que en el cereal que presenta la translocación no existen alteraciones en cuanto a la calidad de las propiedades alimenticias de este ( Mettin 1973 , Peña *et al.* 1990 ).

El programa de cruza amplias en el trigo hace énfasis en el mejoramiento de dicho cereal, especialmente en la incorporación de resistencias ( a mildew, royas, tolerancia a sequías, calor, etc. ) y para tal efecto algunas especies son excelente fuente de resistencia entre las que se incluye a *Secale*; una vez que se tienen variedades de trigo a los cuales se les ha incluido alguna o algunas resistencias a través de cambios en su material genético ( como es el caso de la translocación ), la producción de plantas haploides a partir de dichos híbridos, seguido de un doblamiento cromosómico provee de plantas mejoradas con la intención de acelerar el desarrollo de líneas deseables; en otras palabras, en programas de mejoramiento, una vez que se encuentra o produce una variedad que posee resistencia a diferentes enfermedades y/o condiciones ambientales desfavorables se busca generar una línea pura, lo que para muchos cereales toma varias generaciones y por lo tanto años de trabajo ( en el caso del trigo hasta 6 años para doce generaciones ), no así cuando se inducen haploides que son sometidos a doblamiento cromosómico mediante tratamiento con colchicina en sus raíces, de tal forma que las semillas así generadas son diploides y no sólo eso sino que cada par de cromosomas homólogos son exactamente iguales, por lo que no existe segregación en esa variedad, fijándose; por así decirlo las características que porta, además de emplear considerablemente menor tiempo ( un año en total ).

Una vez que se tienen tales variedades éstas son probadas en campo bajo diferentes condiciones de altitud, temperatura, precipitación pluvial, etc.; para ser evaluadas y de ser positivos sus resultados se propagan y distribuyen en diversas partes del mundo.

## **VI CONCLUSIONES**

Las técnicas de análisis citológico ( conteo y bandedo cromosómico ) en células de raíz de trigo demostraron ser una eficiente herramienta para la identificación de genotipos en veintidos variedades de trigos hexaploides.

El bandedo cromosómico con Giemsa resultó específico e invariable para marcar la presencia de la translocación.

Para la producción de haploides de trigo, las cruza con maíz resulta ser una metodología eficaz, ya que a partir de esta cruza se producen embriones haploides capaces de generar plantas maduras.

El tratamiento postpolinización con ácido 2,4 diclorofenoxiacético, el rescate de embriones y el cultivo de éstos mostró ser complementario al desarrollo de dichos embriones.

Los resultados del presente trabajo indican que no existen diferencias entre las veintitres variedades de trigo probadas para que en alguna de ellas se produzca de manera preferencial los haploides.

La translocación 1B / 1R que confiere resistencia a las variedades de trigo que la poseen presenta una segregación de 1 : 1.

## VII APENDICES

### 1. Soluciones

- a) Orceina al 2 % (preparación de rafz)  
10 g orceina (Sigma)  
225 ml ácido acético (Merck)  
275 ml agua destilada  
Se deja hervir por tres h (colocando el condensador en el matraz donde hierve la orceina).
- b) Colchicina (solución para el tratamiento de rafces)  
0.050 g colchicina (Sigma)  
0.025 g de hidroxiquinolina (Sigma)  
Colocar ambas soluciones en un matraz y aforar a 100 ml con agua destilada, mezclar por tres h, o bien, hasta que desaparezcan los granos, cuando este totalmente disuelto agregar 40 gotas de dimetil sulfóxido (Baker).
- c) 2XSSC (bando cromosómico)  
Disolver 82.2 g  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{O}_7$  (Baker) X  $\text{H}_2\text{O}$ .  
175.5 g  $\text{Na Cl}$  (Bake) en 1000 ml de agua destilada.  
Esta solución se puede guardar por varios meses en el refrigerador, tiene que ser diluida con agua destilada 1:9 antes de ser utilizada.
- d) HCl 0.2 N (bando de cromosomas)  
Diluir 71 ml de HCl (Baker) (37 %) en 500 ml. de agua destilada. Esta solución puede ser guardada en el refrigerador por varias semanas y antes de ser utilizada tiene que diluirse 1:9 agua destilada).
- e) Ba (OH)<sub>2</sub> saturado (bando C)  
Disolver Ba (OH)<sub>2</sub> (Baker) X  $\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada de tal manera que quede un sedimento visible .Mezclar por 30 min y filtrar. Preparar esta solución cada vez que va a emplearse.

**f) Amortiguador de fosfatos (para bandeos de cromosomas)**

**Amort. 1:** 9.46 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Baker) en un litro de agua destilada.

**Amort. 2:** 9.07 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Baker) en un litro de agua destilada.

Estas soluciones pueden ser guardadas por varios meses en el refrigerador .

**g) Giemsa 1 % (para teñir en bandeos).**

Se mezclan 10 g de Giemsa en 500 ml de metanol y se mezcla toda la noche cubierto con papel aluminio. La solución resultante se filtra y se guarda en un recipiente ámbar en refrigeración.

Para teñir las preparaciones de bandeos de cromosomas:

Mezclar 62 ml Phos. 1 + 38 ml Phos. 2 + 10 ml de Giemsa al 1 % (puede emplearse mayor o menor cantidad dependiendo de la intensidad de la tinción).

## VIII. REFERENCIAS

Aykroyd, W. y Doughty, J. (1978). El trigo en la alimentación humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma . pp. 1-30.

Barclay, I. (1975). High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum* ) by chromosome elimination. *Nature* 256, 410-411.

Briggle, L. y Curtis , B. (1987). Wheat Worldwide. En: E. G. Heyne (ed).Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 2-32.

CIMMYT (1987). Este es el CIMMYT. Folleto informativo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo.

Davies, J. (1987). The plant hormones: their nature, ocurrence, and functions. En: P. J. Davies (ed). Plant hormones and their role in plant growth and development. Martinus Nijhoff Publishers. Holanda. pp. 1-11.

Dhaliwal, D., Mares D. y Marshall D. (1986). Effect of 1B/1R chromosome translocation on milling and quality characteristics of bread wheats. *Cereal Chem.* 64, 72-76.

Flavell, R., Bennett, M., Seal, A. y Hutchinson, J. (1987). Chromosomal structure and organization. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding. Chapman and Hall. England. pp. 211-23.

Friebe, B., Heun, M. y Bushuk, W. (1989). Cytological characterization, powdery mildew resistance and storage protein composition of tetraploid and hexaploid *1BL/1RS* wheat-rye translocation lines. *Theor. Appl. Genet.* 78, 424-432.

Gale, M. y Miller, T. (1987). The introduction of alien genetic variation into wheat. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding. Chapman and Hall. England. pp. 173-176.

Gill, S. (1987). Section 5E: Chromosome banding methods, standard chromosome band nomenclature, and applications in cytogenetic analysis. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 243-254.

Giraldez, R., Cermeño, M. y Orellana, J. (1979). Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye, *Secale cereale*. *Pflanzenzuchtg* 83, 40-48.

Hagen, G. (1987). The control of gene expression by auxin. En: P.J. Davies (ed). Plant hormones and their role in plant growth and development. Martinus Nijhoff Publishers. Holanda. pp. 149-163.

Inagaki, M. y Tahir, M. (1990). Comparison of haploid production frequencies in wheat varieties crossed with *Hordeum bulbosum* and maize. Japan . *J. Bred.* 40, 209-216.

Jewell, D. (1979). Chromosome banding in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Aegilops variabilis* . *Chromosoma* (Berl.) 71, 129-134.

Jewell, D. y Mujeeb-Kazi, A. (1982). Unexpected chromosome numbers in backcross I generations of F1 hybrids between *Triticum aestivum* and related alien genera. Wheat Information Service No. 55 Yokohama, Japón.

Kazuhiro, S. y Kousuke, N. (1989). Efficient production of wheat (*Triticum aestivum*) through crosses between Japanese wheat and maize (*Zea mays*). *Plant Cell Report.* 8, 263-266.

Kimber, G. y Sears, E. (1987). Section 5A: Evolution in the genus *Triticum* and the origin of the cultivated wheat. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 154-163.

Kirby, E. y Appleyard, M. (1987). Development and structure of the wheat plant. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding. Chapman and Hall. England . p. 288.

Knott, D. (1987). Section 7E: Transferring aliens genes to wheat. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement . American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 462-471.

Konzak, C. (1987). Section 7B: Mutations and mutations breeding. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement . American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 436-442.

Laurie, D. y Bennett, M. (1987) . The effect of the crossability loci **Kr 1** and **Kr2** on fertilization frequency in hexaploid wheat X maize crosses. *Theor. Appl. Genet.* **73**, 403-409.

Laurie, D. y Bennett, M. (1988). The production of haploid wheat plants from wheat X maize crosses . *Theor. Appl. Genet.* **76**, 393-397.

Law, C., Snape, J. y Worland, A. (1987). Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis. En: F. G. H. Lupton (ed) . Wheat Breeding. Chapman and Hall. England. p. 72.

Lerster, N. (1987). Morphology and anatomy of the wheat plant. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 59-70.

Lupton, F. (1987). History of wheat breeding. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding. Chapman and Hall, England. pp. 51-53.

Maan, S. (1987). Section 7D Interspecific and intergeneric hybridization in wheat. En: E. G. Heyne (ed). Wheat and Wheat Improvement . American Society of Agronomy Publishers. USA. pp. 453-461.

Merker, A. (1982). " Veery " - A CIMMYT spring wheat with the 1B/1R chromosome tranlocation. *Cer. Res. Comm.* **10**, 105-106.

Mettin, D., Bluthner, W. y Schlegel, G. (1973). Additional evidence on spontaneous 1B/ 1R wheat- rye substitutions and translocations. En: E.R. Sears y L.M. Sears (ed). Proc. IV Intl. Wheat Genetics Symposium. University of Missouri, Columbia, pp. 179-184.

Miller, T. (1987). Systematic and evolution. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding. Chapman and Hall. England. pp. 15-27.

Mujeeb- Kazi, A. y Asiedu, R. (1990). Wide hybridation- potential of alien genetic transfers for *Triticum aestivum* improvement. *Biotes in Agr and Forestry* 13, 11-127.

Mujeeb-Kazi, A. y Bernard, M. (1982). Somatic chromosome variations in backcross I progenies from intergeneric hybrids involving some triticeae. *Cereal Res. Comm.* 10, 41-45.

Mujeeb-Kazi, A. y Jewell, D. ( 1985 ). CIMMYT' s wide cross program for wheat and maize improvement. Biotechnology in international agricultural research. Inter-center .Seminar. pp. 219-226.

Mujeeb-Kazi, A. y Miranda, J. (1985). Enhanced resolution of somatic chromosome constrictions as a aid to identifying intergeneric hybrids among some Triticeae. *Cytologia.* 50, 701-709.

Mujeeb-Kazi, A. y Rodríguez , R. (1984). *Hordeum vulgare* X *Triticum aestivum* hybrids. *Cytologia* 49, 557-565.

Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant* 15, 473-497.

Peña, R., Amaya, A., Rajaram, S. y Mujeeb-Kazi, A. (1990). Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/ 1R traslocation wheats. *J. Cereal Sci.* 12, 105-112.

Rayburn, A. y Mornhinweg, D. ( 1988 ). Inheritance of a 1BL/1RS wheat-rye translocated chromosome in wheat. *Crop Sci.* **28**, 709-711.

Riera, L. y Mujeeb-Kazi, A. ( 1990 ). Maize ( *Zea mays* L. ) mediated polyhaploid production in some Triticeae using a detached spike method. En impresión. 30 pag.

Riera, L. , Mujeeb-Kazi, A. y William, M. ( 1992 ). Maize (*Zea mays* L. ) mediated polyhaploid production in some Triticeae using a detached spike method. En impresión. 37 pag.

Soldano, O. R. ( 1985 ). El trigo. Ed. Trillas. México. pp. 112.

Ter-Kuile, N., Jahan, Q., Hashmi, N., Aslam, M., Vahidy, A. y Mujeeb-Kazi, A. ( 1992 ). 1B / 1R Translocation wheat cultivars detected by A- Page electrophoresis and C-banding in the 1990 National uniform wheat yield trial in Pakistan. *Pakistan J. Bot.*, **23** . En impresión. 21 pag.

Worland, A., Gale, M. y Law, C. ( 1987 ). Wheat genetics. En: F. G. H. Lupton (ed). Wheat Breeding . Chapman and Hall, England. pp. 141-144.

Zeller, F. ( 1973 ). 1B/1R substitutions and translocations. En: Sears, E.R. and Sears L. M. (ed.) , Proc. IV Intl. Wheat Genetics Symposium , University of Missouri , pp. 209-221.

**Tabla 1. Variedades de trigo con y sin la translocación 1B/1R**

Variedades	Abreviación	1B/1R, 1B/1R	1B, 1B
Veery 10	Veery 10.	•	
Pavon	Pvn.		•
Spb	Spb.	•	
Papagos	Pgo.		•
Glennson	Glenn.	•	
Mirio "s" / Buc "s"	Mri /Buc.		•
Buc "s"	Buc.		•
Seri	Seri.	•	
Baquía	Bau.	•	
Alondra / Pavon	Ald / Pvn.	•	
Clano	Cno.		•
BMM	BMM.		•
Esmeralda	Esda.		•
Fink	Fnk.	•	
Agatha / 6 " Yecora	Aga / 6 " Yr.		•
Bow "s"	Bow.	•	
Genaro	Gen.	•	
Kauz	Kauz.	•	
Ocoroni	Ocl.		•
Opata	Opata.		•
Ures	Ures.	•	
Yaco "s"	Yaco.		•
Pfau	Pfau.		•

Tabla 2. Resultados de análisis citológicos

Pedigrís	RC I	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	1	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	2	42	1B, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	3	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	4	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	5	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	6	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	7	42	1B/1R, 1B/1R
Ald/ Pvn // Cno/3/ Ald/Pvn	8	42	1B/1R, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	1	42	1B, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	2	42	1B, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	3	42	1B/1R, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	4	42	1B, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	5	42	1B/1R, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	6	42	1B, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	7	42	1B/1R, 1B/1R
Ures/ Buc//Cno/3/Ures/Buc	8	descartada	descartada
Pfau/Seri//Pfau	1	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	2	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	3	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	4	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	5	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	6	42	1B, 1B
Pfau/Seri//Pfau	7	42	1B, 1B/1R
Pfau/Seri//Pfau	8	42	1B, 1B/1R
Opata/Glenn 81//Opata	1	42	1B, 1B
Opata/Glenn 81//Opata	2	42	1B, 1B/1R
Opata/Glenn 81//Opata	3	42	1B, 1B/1R
Opata/Glenn 81//Opata	4	42	1B, 1B/1R
Opata/Glenn 81//Opata	5	42	1B, 1B
Opata/Glenn 81//Opata	6	42	1B, 1B
Opata/Glenn 81//Opata	7	42	1B, 1B/1R
Opata/Glenn 81//Opata	8	42	1B, 1B/1R

Continuación Tabla 2. Resultados de análisis citológico

Pedigrees	RC 1	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Fnk/Pvn//Fnk	1	42	1B,1B/1R
Fnk/Pvn//Fnk	2	descartada	descartada
Fnk/Pvn//Fnk	3	42	1B,1B/1R
Fnk/Pvn//Fnk	4	descartada	descartada
Fnk/Pvn//Fnk	5	descartada	descartada
Fnk/Pvn//Fnk	6	descartada	descartada
Fnk/Pvn//Fnk	7	descartada	descartada
Fnk/Pvn//Fnk	8	descartada	descartada
Pedigrees	RC 2	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	1	42	1B/1R, 1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	2	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	3	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	4	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	5	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	6	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	7	42	1B,1B/1R
Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	8	42	1B/1R, 1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	1	42	1B/1R, 1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	2	42	1B/1R, 1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	3	42	1B/1R, 1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	4	42	1B/1R, 1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	5	42	1B,1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	6	42	1B,1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	7	42	1B,1B/1R
Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	8	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	1	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	2	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	3	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	4	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	5	42	1B,1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	6	42	1B,1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	7	42	1B/1R, 1B/1R
Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	8	42	1B/1R, 1B/1R

Continuación Tabla 2. Resultados de análisis citológico

Pedigrís	RC 2	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	1	42	1B,1B/1R
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	2	42	1B,1B
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	3	42	1B,1B/1R
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	4	42	1B,1B/1R
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	5	42	1B,1B/1R
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	6	42	1B,1B/1R
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	7	descartada	descartada
Pvn/Buc//Ser1/3/Pvn/Buc	8	descartada	descartada
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	1	42	1B,1B/1R
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	2	42	1B,1B/1R
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	3	42	1B,1B/1R
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	4	42	1B,1B
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	5	42	1B,1B/1R
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	6	42	1B,1B
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	7	42	1B,1B
Aga/G*Yr//Ser1/3/Aga/G*Yr	8	42	1B,1B
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	1	42	1B,1B/1R
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	2	42	1B,1B
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	3	42	1B,1B/1R
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	4	42	1B,1B
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	5	42	1B,1B
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	6	42	1B,1B
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	7	42	1B,1B/1R
Pvn/Ser1//Pvn/3/Pvn	8	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	1	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	2	42	1B,1B/1R
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	3	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	4	42	1B,1B/1R
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	5	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	6	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	7	42	1B,1B
Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	8	42	1B,1B/1R

Continuación Tabla 2. Resultados de análisis citológico

Pedigrees	RC 2	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	1	42	1B,1B
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	2	42	1B,1B
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	3	42	1B,1B
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	4	42	1B,1B
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	5	42	1B,1B/1R
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	6	42	1B,1B
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	7	42	1B,1B/1R
Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	8	42	1B,1B/1R
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	1	42	1B,1B
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	2	42	1B,1B/1R
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	3	42	1B,1B
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	4	42	1B,1B/1R
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	5	42	1B,1B
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	6	42	1B,1B/1R
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	7	descartada	descartada
Ciano 79/Glenn 81//Ciano 79/3/Ciano 79	8	descartada	descartada
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	1	42	1B,1B/1R
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	2	42	1B,1B
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	3	42	1B,1B
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	4	42	1B,1B/1R
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	5	42	1B,1B/1R
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	6	42	1B,1B
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	7	42	1B,1B
Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	8	42	1B,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	1	42	1B,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	2	42	1B/1R,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	3	42	1B,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	4	42	1B/1R,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	5	42	1B/1R,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	6	42	1B/1R,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	7	42	1B/1R,1B/1R
Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	8	42	1B,1B/1R

Continuación Tabla 2. Resultados de análisis citológico

Pedigrís	RC 2	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	1	42	1B,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	2	42	1B/1R,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	3	42	1B/1R,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	4	42	1B,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	5	42	1B,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	6	42	1B/1R,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	7	42	1B/1R,1B/1R
Bau/Pavon//Bau/3/Bau	8	42	1B,1B/1R
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	1	descartada	descartada
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	2	42	1B,1B/1R
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	3	42	1B,1B/1R
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	4	descartada	descartada
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	5	descartada	descartada
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	6	descartada	descartada
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	7	42	1B,1B/1R
Kauz/Pavon//Kauz/3/Kauz	8	42	1B,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	1	42	1B,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	2	42	1B/1R,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	3	42	1B,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	4	42	1B/1R,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	5	42	1B,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	6	42	1B/1R,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	7	42	1B,1B/1R
Spb/Pvn//Spb/3/Spb	8	42	1B/1R,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	1	42	1B/1R,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	2	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	3	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	4	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	5	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	6	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	7	42	1B,1B/1R
Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	8	42	1B/1R,1B/1R

Continuación Tabla 2. Resultados de análisis citológico

Pedigrís	RC 2	Número cromosómico	Genotipo de la planta
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	1	42	1B,1B/1R
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	2	42	1B,1B/1R
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	3	42	1B,1B
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	4	42	1B,1B
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	5	42	1B,1B
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	6	42	1B,1B/1R
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	7	42	1B,1B/1R
Mrl/Buc//Ser1/3/Mrl/Buc4//Mrl/Buc	8	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	1	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	2	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	3	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	4	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	5	42	1B,1B
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	6	42	1B,1B
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	7	42	1B,1B/1R
BMM/Ser1//BMM/3/BMM	8	42	1B,1B

Tabla 3. Genotipos de las plantas analizadas por bandeó C para cada variedad

Variedad	Pedigris RC 1	No. de semillas	1B,1B	1B/1R,1B/1R	1B,1B/1R
1	Ald/Pvn//Cno/3/Ald/Pvn	8	0	7	1
2	Ures/Buc//Cno/3/Ures/Buc	7	0	3	4
3	Ptau/Seri//Ptau	8	1	0	7
4	Opata/Glenn 81//Opata	8	3	0	5
5	Fnk/Pvn//Fnk	2	0	0	2
	Pedigris RC 2	No. de semillas	1B,1B	1B/1R,1B/1R	1B,1B/1R
6	Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn	8	0	2	6
7	Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	8	0	5	3
8	Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	8	0	6	2
9	Pvn/Buc//Seri/3/Pvn/Buc	6	1	0	5
10	Agá/G* Yr//Seri/3/Agá G* Y	8	4	0	4
11	Pvn/Seri//Pvn/3/Pvn	8	5	0	3
12	Yaco/Glenn 81//Yaco/3/Yaco	8	5	0	3
13	Ocoroni/Glenn 81//Ocoroni/3/Ocoroni	8	5	0	3
14	Cno 79/Glenn 81//Cno 79/3/Cno 79	6	3	0	3
15	Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	8	4	0	4
16	Pgo/Glenn 81//Pgo/3/Pgo	8	0	5	3
17	Bau/Pvn//Bau/3/Bau	8	0	4	4
18	Kauz/Pvn//Kauz/3/Kauz	4	0	0	4
19	Spb/Pvn/Spv/3/Spb	8	0	4	4
20	Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	8	0	2	6
21	Mrl/Buc//Seri/3/Mrl/Buc/4/Mrl/Buc	8	3	0	5
22	BMM/Seri//BMM/3/BMM	8	3	0	5
	<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>37</b>	<b>38</b>	<b>86</b>

**Tabla 4. Genotipos de las plantas haploides producidas para cada variedad**

Variedad	Pedigris	Haploides generados	Haploides IB/IR	Haploides IB
1	Ald/Pvn//Cno/3/Ald/Pvn	17	8	9
2	Ures/Buc//Cno/3/Ures/Buc	18	10	8
3	Pfau/Seri//Pfau	8	5	3
4	Opata/Glenn 81//Opata	12	5	7
5	Fnk/Pvn//Fnk	19	11	8
6	Glenn 81/Cno 79//Glenn 81/3/Glenn 81	14	6	8
7	Bow/Cno 79//Bow/3/Bow	13	6	7
8	Bau/Cno 79//Bau/3/Bau	13	8	5
9	Pvn/Buc//Seri/3/Pvn/Buc	14	9	5
10	Aga/G*Yr//Seri/3/Aga/G*Yr	14	5	9
11	Pvn/Seri//Pvn/3/Pvn	12	7	5
12	Yaco/Glenn 81/Yaco/3/Yaco	9	4	5
13	Ocoroni/Glenn//Ocoroni/3/Ocoroni	16	10	6
14	Cno 79/Glenn 81//Cno 79/3/Cno 79	8	3	5
15	Esda/Glenn 81//Esda/3/Esda	11	6	5
16	Pgo/Glenn 81//Esda/3/Esda	14	7	7
17	Bau/Pvn//Bau/3/Bau	17	9	8
18	Kauz/Pvn//Kauz/3/Kauz	14	8	6
19	Spb/Pvn//Spb/3/Spb	19	9	10
20	Vee 10/Pvn//Vee 10/3/Vee 10	8	3	5
21	Mri/Buc//Seri/3/Mri/Buc/4/Mri/Buc	14	7	7
22	BMM/Seri//BMM/3/BMM	14	6	8
	Total	298	152	146

**Tabla 5. Análisis de resultados**

	Haploides 1B	Haploides 1B/1R	Total
Observados	146	152	298
Esperados	149	149	298
O - E	-3	3	0
$(O - E)^2$	9	9	
$\frac{(O - E)^2}{E}$	0.06	0.06	$\chi^2 = 0.12$

Grados de libertad: 1

Nivel de significancia: 0.05

Valor de  $\chi^2$  en Tablas: 3.84

Valor de  $\chi^2$  calculada: 0.12

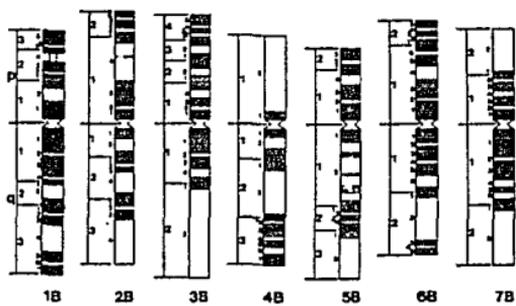
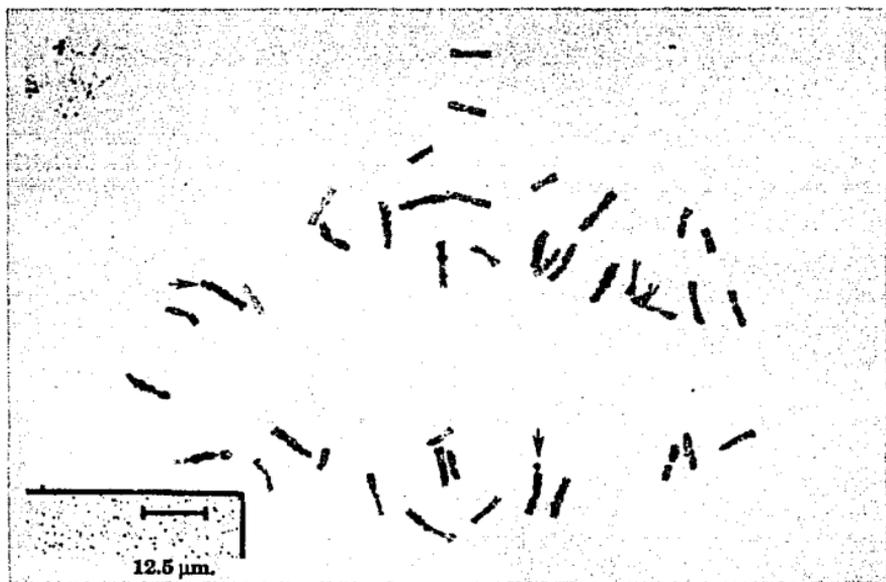
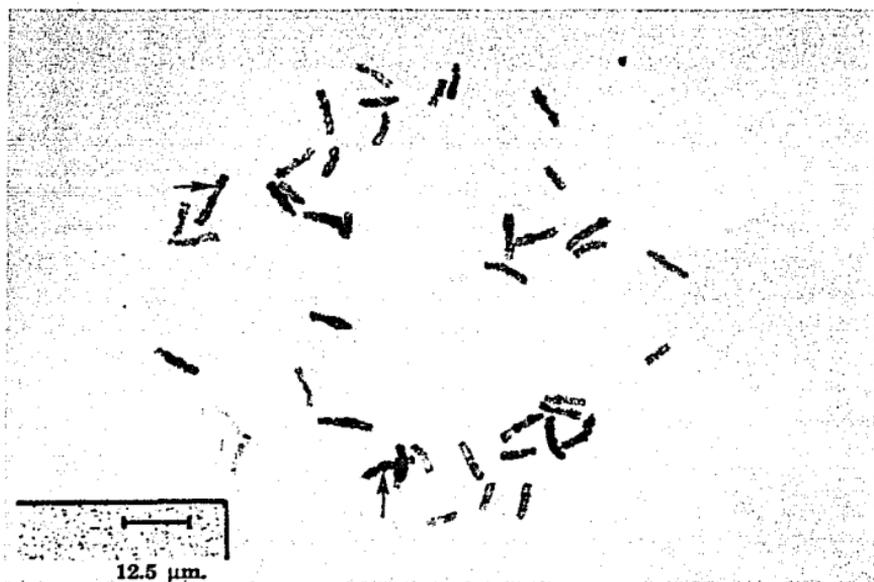


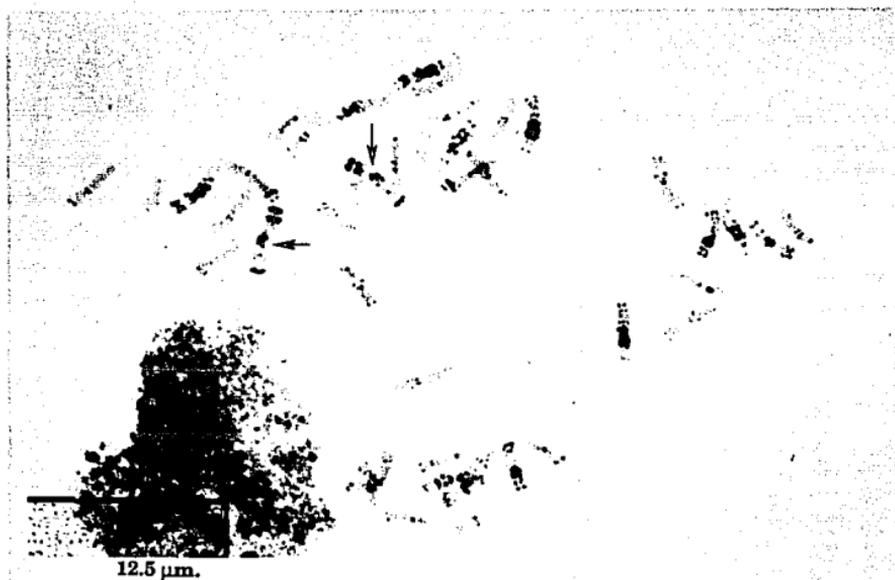
Fig. 1. Idiograma de *Triticum aestivum*.  
( Conferencia de París, 1971 ).



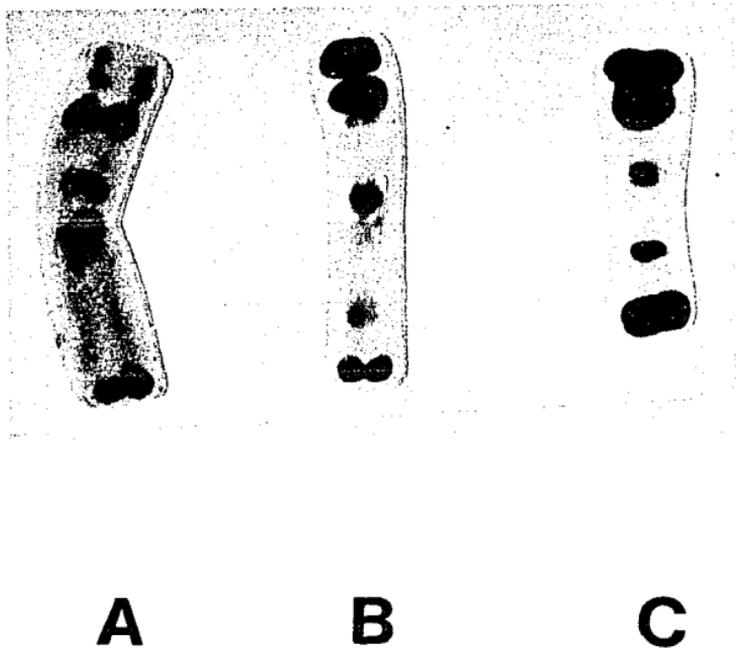
**Fig 2.** Bando C en células de raíz de *Triticum aestivum* L., donde pueden apreciarse los cromosomas 1B ( flechas ).



**Fig 3.** Preparación de células somáticas de trigo, en la cual se muestra el cromosoma 1B/1R ( extremo superior izquierdo ) y el cromosoma 1B ( abajo ) en una planta heterocigótica para la translocación.



**Fig 4.** Fotografía que muestra ( flechas ) los cromosomas 1B/1R de *Triticum aestivum* L. presentes en una planta homocigótica para la translocación.



**Fig 5.** Patrón de bandeo C en cromosomas de trigo y centeno; de izquierda a derecha:

- A.** Cromosoma 1B del trigo
- B.** Cromosoma 1B/1R del trigo
- C.** Cromosoma 1R del centeno

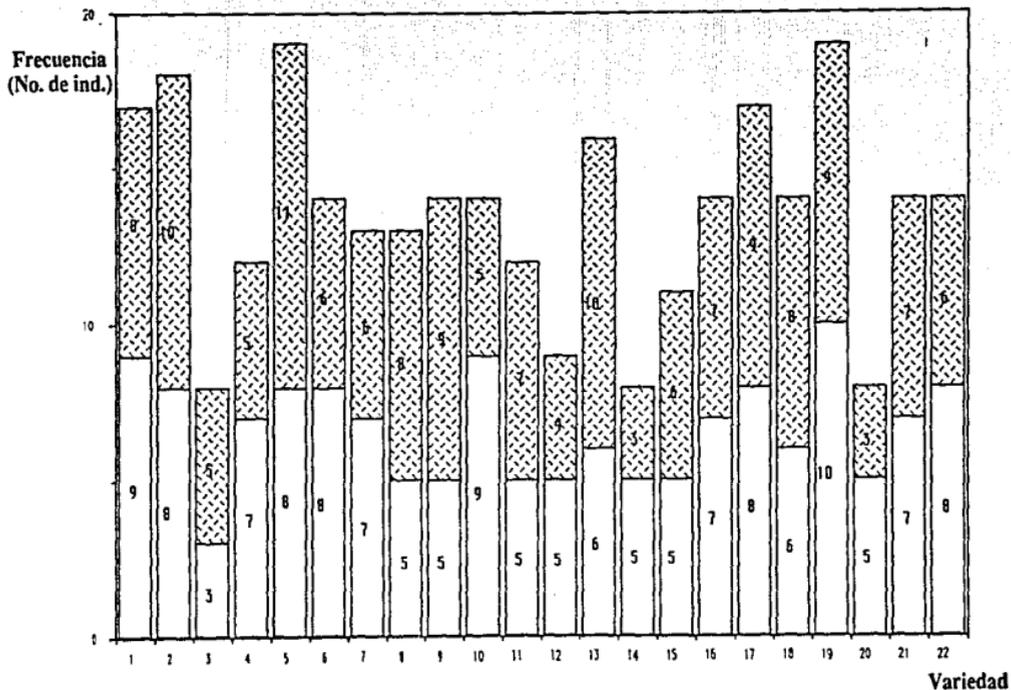


Fig.6. Frecuencias genotípicas de 298 plantas haploides de *Triticum aestivum*, identificadas por bandeó C.

