

FUENTES DE RESISTENCIA A *Tilletia indica* MITRA EN GENOTIPOS DERIVADOS DE *Triticum aestivum* X *Triticosecale*

RESISTANCE SOURCE TO *Tilletia indica* MITRA IN GENOTYPES DERIVED FROM *Triticum aestivum* X *Triticosecale*

Guillermo Fuentes Dávila y Ricardo Rodríguez Ramos¹

RESUMEN

Líneas experimentales derivadas de *Triticum aestivum* X *Triticosecale* han sido identificadas como fuentes de resistencia a *Tilletia indica*, el agente causal del carbón parcial del trigo. Las plantas fueron inoculadas artificialmente en embuche con una suspensión de esporidios en una concentración de 10,000 ml⁻¹ en tres fechas de siembra, en el CIANO, Cd. Obregón, Sonora, durante cuatro ciclos del cultivo (1988-91). El porcentaje de infección de las líneas probadas, de acuerdo con la cantidad de granos sanos e infectados, varió de 0.26 a 1.87, mientras que el testigo susceptible presentó una media de 63.5%.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Tilletia indica, carbón parcial, *Triticum aestivum*, *Triticosecale*, inoculación, resistencia.

SUMMARY

Experimental lines produced from *Triticum aestivum* X *Triticosecale* have been identified to be resistant to *Tilletia indica*, the causal agent of the partial bunt disease of wheat. Plants were artificially inoculated at the boot stage with a sporidial suspension of 10,000 ml⁻¹ at three sowing dates at CIANO, Cd. Obregon, Sonora, during four wheat cycle (1988-91). The percent infection of the lines tested, based on the number of healthy and infected grains, ranged from 0.26-1.87, while the susceptible check had a mean of 63.5%.

ADDITIONAL INDEX WORDS

Tilletia indica, partial bunt, *Triticum aestivum*, *Triticosecale*, inoculation, resistance.

INTRODUCCION

Tilletia indica Mitra [sinónimo *Neovossia indica* (Mitra) Mundkur], es el agente causal del carbón parcial del trigo. Esta enfermedad fue descrita por primera vez en la India (Mitra, 1931), posteriormente se encontró en México (Durán, 1972), Pakistán (Munjhal, 1975) y Nepal (Singh *et al.*, 1989).

Esta enfermedad generalmente no causa daños espectaculares, sin embargo, Munjal (1975) durante 1969-70 estimó una pérdida del 0.2% en el norte de la India, equivalente a 40,000 toneladas métricas. Por su parte, Brennan *et al.* (1990) estimaron una pérdida anual de \$16,852 nuevos pesos, equivalente al 2% del valor medio del cultivo del trigo en las áreas afectadas de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur. Estos costos incluyen: pérdidas en la calidad del grano, disminución del área de siembra por las medidas cuarentenarias, costos adicionales en la producción y el transporte de semilla, así como pérdidas en rendimiento.

Las teliosporas de este hongo pueden permanecer viables en el suelo durante aproximadamente 4 años (Krishna y Singh, 1982) y presentan resistencia a condiciones físico-químicas adversas (Smilanick *et al.*, 1988), lo cual dificulta su control. Salazar-Huerta *et al.* (1992) han demostrado que el carbón parcial se puede controlar eficientemente con la aplicación de fungicidas durante el período de floración del trigo; sin embargo, en México la implementación de esta medida se dificulta por su alto costo

¹ Programa de Trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Lisboa 27, Apdo. Postal 6-641, CP 06600 México, D.F.

debido a las normas de la cuarentena interior No. 16, emitida en marzo de 1987 por la SARH. Asimismo, las normas de la industria molinera, el incremento en el precio de los agroquímicos y el bajo precio del trigo, tienen un efecto sinérgico detrimental.

Desde hace varios años, el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo implementó un proyecto de mejoramiento para resistencia a carbón parcial en trigo harinero (Fuentes-Dávila y Rajaram, 1993). Las áreas principales de este proyecto se refieren a: a) identificación de fuentes de resistencia a *Tilletia indica*, b) hibridación para incorporar la resistencia en genotipos deseables y c) evaluación y selección de progenies para desarrollar líneas avanzadas resistentes que puedan ser utilizadas por los programas agrícolas nacionales, principalmente en donde el carbón parcial es problema. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en la búsqueda de fuentes de resistencia a *T. indica* en hibridaciones de *Triticum aestivum* X *Triticosecale*.

REVISION DE LITERATURA

Variedades de *Triticum aestivum*, *T. durum* and *T. dicoccum* fueron señaladas como resistentes bajo condiciones de campo (anonymous, 1943, Bedi *et al.*, 1949). Gautam *et al.* (1977) probaron 350 líneas bajo condiciones de epifitía natural, de las cuales 160 no presentaron infección y, 55 de éstas fueron consideradas como apropiadas para hibridación con base en otras características deseables. Singh *et al.* (1988) publicaron informes similares en cuanto a las diferencias en susceptibilidad en *T. aestivum*, y Meeta *et al.* (1980) encontraron altos niveles de resistencia en líneas de *Triticosecale*. A pesar de estos resultados las líneas evaluadas han sido inconsistentes en su reacción, debido a las condiciones ambientales variables que se han presentado al realizar las evaluaciones, mismas que

tienen un efecto importante en la reproducción del hongo.

Con el propósito de conocer la forma como el hongo infecta las plantas de trigo, así como para evaluar germoplasma para resistencia a *T. indica*, se llevó a cabo inoculaciones artificiales, Bedi *et al.* (1949); las cuales posteriormente fueron utilizadas para estudios de incompatibilidad, citológicos, de infección y penetración (Bedi *et al.*, 1949; Chona *et al.*, 1961; Durán y Cromarty, 1977; Singh y Krishna, 1982; Fuentes-Dávila y Durán, 1986; Goates, 1988).

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó durante 1988-1991 en el Centro de Investigaciones Agrícolas del Noroeste (CIANO), en el valle del Yaqui, Sonora, localizado a 27°20'N, 105°55', y 39 msnm.

Para preparar el inóculo y asegurar una composición genética heterogénea de la población del hongo, se tomaron teliosporas de aproximadamente 1 año de edad, de granos de trigo infectados en forma natural provenientes de diferentes localidades del valle del Yaqui. El aislamiento de las teliosporas se llevó a cabo agitando vigorosamente los granos infectados en una solución de agua y Tween-20 durante 15 segundos, se filtraron con una malla de 60 μm para remover las partículas mayores y posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm para precipitarlas. Con objeto de estimular una mejor germinación, durante 24 horas se conservaron en la solución (agua+Tween); se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.5% por espacio de 2 minutos al momento de centrifugarse, se enjuagaron dos ocasiones con agua esterilizada y finalmente se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo agar-agua al 1.5%. Las teliosporas se incubaron a

temperatura ambiente (20-22°C) y la evaluación de la germinación se inició 5 días después de la siembra. Fragmentos de agar sobre los que el hongo estaba creciendo, se transfirieron colocándolos en forma invertida sobre las tapas de cajas Petri conteniendo papa-dextrosa-agar (PDA), para propiciar la producción de balistosporas y acelerar su multiplicación. Posteriormente, el incremento y multiplicación del inóculo se llevó a cabo añadiendo agua esterilizada a las colonias producidas, raspándolas e inoculando más cajas. Una vez que el hongo cubrió la superficie del medio (después de 8-10 días), se cortaron trozos pequeños, y se colocaron sobre las tapas de cajas Petri de vidrio, a las que se les agregó un poco de agua esterilizada; cada 24 horas los esporidios se colectaron y se contaron con un hematocímetro, ajustando la concentración a 10,000 esporidios alantoides por ml.

Las características de los progenitores de las líneas experimentales son las siguientes: la línea No. 1 tiene como progenitor a CMH76.1330, que posee gluma y grano grande provenientes de Buitre, y un trigo harinero con las mismas características. Esta línea muestra pubescencia en las glumas, probablemente heredada del triticale Maya II/Arm, ancestros también de esta línea. Otro componente es CMH77A.917, de tallo grueso y erecto y un número importante de espiguillas y granos por espiga.

La línea No. 2 se derivó de CMH74A.888, que es un triticale de tipo sustituido con grano vítreo de buen tamaño; otro progenitor es CMH76.1330, cuyas características fueron mencionadas en la línea No. 1. y el genotipo CMH78.168, un trigo harinero precoz, de buen tipo agronómico y alto contenido de proteína.

La línea No. 3 proviene de la cruce X-63735 (triticale) con CMH81.137. Este último es una línea enana isogénica o casi isogénica de BH1146, que es un trigo

harinero de origen brasileño, con tolerancia a aluminio y resistencia a *Septoria tritici*, a *Helminthosporium tritici-repentis* y a *H. sativum*.

La línea No. 4 tiene como progenitores al triticale sustituido M2A/CML y CMH78.390; este último es un trigo enano que proviene de tres trigos brasileños con tolerancia a aluminio y resistencia a *Septoria tritici*.

La línea No. 5 tiene como componente el genotipo CMH73.802, triticale con espiga grande y tallo erecto, cruzado con Norteño 67, que es un trigo harinero de grano grande y lleno. Esta línea tiene una fertilidad baja y una reducida producción de grano en F1.

Las líneas No. 6 y 7 tienen como componente el genotipo de CMH76.1330 descrito anteriormente; la línea No. 7 tiene entre sus progenitores además *Triticum turanicum*, especie no cultivada de grano grande y CMH74A.370 que incluye *T. polonicum* y la variedad Diente de camello (*T. durum*), ambos de grano grande.

En el campo los genotipos o líneas experimentales se sembraron en camas de 0.90 m de ancho, en surco doble de 1 m de largo.

La fertilización y riegos se llevaron a cabo de acuerdo con las recomendaciones del CIANO. Con el propósito de reducir las posibilidades de escape a la infección, las siembras se efectuaron en tres fechas (noviembre 8, 23 y diciembre 7). Posteriormente diez espigas por línea experimental en estado de embuche (estadios 48-49, Zadoks *et al.*, 1974) se inocularon entre las 16 y 18 horas del día, inyectando 1 ml de la suspensión de esporidios. Cada espiga inoculada se identificó con un pedazo de plástico de color. Para favorecer el desarrollo del hongo se utilizó un sistema de riego por aspersión, que produce partículas finas de agua. Los riegos se efectuaron

después de las inoculaciones, de 3-5 veces por día durante 8 minutos cada ocasión. La variedad susceptible Seri M82 se utilizó como testigo durante 1988 y WL-711 en 1989, 1990 y 1991. Ya maduras las espigas inoculadas de cada línea y los testigos, se cosecharon y trillaron a mano para determinar el porcentaje de infección mediante el conteo de granos sanos e infectados. El análisis de varianza se realizó usando el paquete SAS-GLM.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de las inoculaciones se muestran en el Cuadro 1. La media de infección de los genotipos evaluados, varió de 0.26 a 1.87, sin que se obtuvieran diferencias estadísticamente significativas; mientras que el testigo susceptible presentó una media de 63.5%.

Es importante señalar que este grupo, excepto el testigo, se deriva de hibridaciones entre trigos harineros (*Triticum aestivum*, algunos con características no convencionales) y triticales (*Triticosecale*), y que algunas de las nuevas líneas producidas fenotípicamente se pueden considerar como trigos harineros, que pueden o no poseer características no convencionales. Al respecto en años anteriores se han publicado informes sobre resistencia a *T. indica* en triticales, como el de Agarwal *et al.* (1977), quienes mencionan que en Pantnagar, Nainital, de las muestras analizadas en 1976, 92.75% no tuvieron infección, siendo 1.5 a 2.0% los niveles más altos. Resultados similares han sido divulgados por Singh *et al.*, (1988), Gill *et al.*, (1990) y Fuentes-Dávila *et al.*, (1992). Por lo anterior se puede considerar la probabilidad de que el triticales esté aportando los componentes genéticos más importantes o determinantes de la resistencia a *Tilletia indica*, posiblemente, contenidos en el genomio RR del centeno. Sin embargo, para enumerar y ubicar los genes involucrados será necesario realizar estudios de herencia y citogenéticos. Las líneas 3 y 4

tienen progenitores de origen brasileño, en donde fuentes de resistencia a *T. indica* han sido descritas por Fuentes-Dávila y Rajaram (1993), siendo posible también, que la resistencia provenga de tales trigos. En el caso de la línea 7, pruebas adicionales son necesarias para determinar la reacción de *Triticum turanicum* y *T. polonicum* al hongo.

Otra característica poco estudiada, que puede ser factor importante que confiere resistencia de campo, es la pubescencia que esta especie posee en las glumas. Salazar Huerta *et al.*, (1990) encontraron que ciertos genotipos pubescentes de *Triticum aestivum* y *T. durum* presentan tolerancia al hongo en experimentos bajo inoculación artificial, tanto al inyectar el inóculo durante el embuche de la plantas como inoculando las espigas con cultivos del hongo en cajas de Petri invertidas. Sin embargo, es probable que esta característica esté supeditada a otros mecanismos, ya que se han encontrado genotipos pubescentes que son susceptibles, así como otros no pubescentes que son resistentes (información no publicada).

CONCLUSIONES

1. La diferencia en los niveles de infección entre los genotipos probados y el testigo susceptible fue estadísticamente significativa.
2. El bajo nivel de infección mostrado consistentemente por los genotipos bajo prueba, evaluados en 4 ciclos y en 3 fechas de siembra por ciclo, demuestra que poseen resistencia (fisiológica o morfológica) a *Tilletia indica*.
3. Dichos genotipos pueden utilizarse como fuentes de resistencia a *T. indica* en los programas de mejoramiento de trigo para estudios de herencia de la resistencia, así como de resistencia de campo enfocados principalmente al efecto de la pubescencia en las glumas.

Cuadro 1. Porcentaje de infección con carbón parcial en líneas producidas a partir de cruzas de *Triticum aestivum* X *Triticosecale* inoculados artificialmente en tres fechas en el valle del Yaqui, Sonora, durante 1988-91^a.

Líneas	Porcentaje de infección ^b												Media ^d
	1988			1989			1990			1991			
	I	II	III ^c	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
1 CMH82A.1350 CMH82A.1350-4B-2Y-2B 2Y-3B-0Y	0.00	0.50	0.19	0.00	0.00	0.27	0.43	0.20	0.13	1.20	0.18	0.00	0.26a
2 CMH74A.888/CMH76.1330//CMH78.168 CMH83.3252-2B-3Y-4B-2Y	0.00	0.80	1.21	NI ^e	0.00	0.00	NI	0.00	0.00	0.92	1.52	0.24	0.40a
3 X-63735-F/CMH81.137 CMH84.1054-1Y-3B-1Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.85	0.00	0.00	1.65	0.24	0.23a
4 M2A/CML/CMH78.390 CMH82A.1257-2B-1Y-1B-0Y	2.75	0.43	0.00	1.91	2.27	0.43	0.19	0.00	0.00	0.21	2.88	0.56	0.97a
5 CMH73.802/NOR67 CMH77.1163-5Y-1B-2Y-1B-1Y-1B-0Y	0.00	2.63	1.21	2.52	3.96	1.52	3.87	0.70	0.00	4.76	0.34	0.95	1.87a
6 CMH76.1330 CMH76.1330-1Y-3B-2Y-6B-7Y-7B-1Y- 5B-0Y-1B-0Y	3.19	0.43	0.32	0.00	0.33	0.00	3.47	3.34	0.00	2.24	0.00	0.26	1.13a
7 CMH76.1330/TTURA/CMH74A.370 CMH80A.1253-3B-1Y-1B-1Y-3B-1Y-0B	0.00	1.30	0.00	0.00	0.00	1.61	0.93	0.00	0.00	0.82	0.00	0.00	0.39a
8 TESTIGO SUSCEPTIBLE ^f	59.00	58.8	58.5	70.6	81.4	74.3	46.7	54.8	38.8	69.2	78.1	71.7	63.5a

^a Diez espigas en estado de embuche por línea, se inocularon artificialmente inyectando 1 ml de una suspensión de esporidios en una concentración de 10,000/ml.

^b El porcentaje de infección se calculó contando el número de granos sanos y enfermos, después de que las espigas fueron trilladas a mano.

^c Fechas de siembra: noviembre 8, 23, y diciembre 7.

^d Números con la misma letra no son estadísticamente diferentes, DMS (0.05) = 3.7.

^e Indica que no fue inoculada.

^f La variedad Seri M82 se utilizó como testigo durante 1988 y WL-711 durante 1989-91.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Fidel Castro Castro, Tomás García Cano, Carlos J. González León y J. Crossa por su asistencia técnica y a Lucy Gilchrist Saavedra por sus sugerencias para mejorar el manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- Agarwal, V.K., H. S. Verma and R. K. Rhetarpal. 1977. Occurrence of partial bunt on triticale. FAO, Plant Prot. Bull. 25:210-211.
- Anonymous. 1943. Annual Report Wheat Sub-Station; Gurdaspur, India, pp. 1-15.
- Bedi, S.K.S., M.R. Sikka and B.B. Mundkur. 1949. Transmission of wheat bunt due to *Neovossia indica* (Mitra) Mundkur. Indian Phytopathol. 2:20-26.
- Brennan, J.P., E.J. Warham, J. Hernández, D. Byerlee and F. Coronel. 1990. Economic losses from Karnal bunt of wheat in Mexico. CIMMYT economic working paper 90/02.
- Chona, B.L., R.L. Munjal and K.L. Adlakha. 1961. A method for screening wheat plants for resistance to *Neovossia indica*. Indian Phytopathol. 14:99-101.
- Durán, R. 1972. Aspects of teliospore germination in North American smut fungi II. Can. J. Bot. 50:2569-2573.
- _____ and R. Cromarty. 1977. *Tilletia indica*: a heterothallic wheat bunt fungus with multiple alleles controlling incompatibility. Phytopathology 76:812-815.
- Fuentes-Dávila, G. and R. Duran. 1986. *Tilletia indica*: cytology and teliospore formation *in vitro* and in immature kernels. Can. J. Bot. 64:1712-1719.
- _____ and S. Rajaram. 1993. Sources of resistance to *Tilletia indica* in wheat (*Triticum aestivum*). Crop Prot., en prensa.
- _____, S. Rajaram, W. H. Pfeiffer and O. Abdalla. 1992. Results of artificial inoculation of the 4th Karnal Bunt Screening Nursery (KBSN). Annual Wheat Newsletter 38:157-162.
- Gautam, P.L., T.B. Singh, S.R. Malik and S. Pal. 1977. Screening of superior genetic stocks for Karnal bunt resistance under field conditions. (A. K. Gupta, Ed.), New Delhi, India. pp. 97-100.
- Gill, K.S., S.S. Aujla and G.S. Nanda. 1990. Genetic evaluation and utilization of wheat germplasm for breeding varieties resistant to Karnal bunt. Third Ann. Res. Rep. Dept. of Plant Breeding, Punjab Agric. Univ., Ludhiana, Punjab, India. pp. 37.
- Goates, B.J. 1988. Histology of infection of wheat by *Tilletia indica*, the Karnal bunt pathogen. Phytopathology 78:1434-1441.
- Krishna, A. and R.A. Singh. 1982. Investigations on the disease cycle of Karnal bunt of wheat. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 12:124.
- Meeta, M., J.S. Dhiman, P.S. Bedi and M.S. Rang. 1980. Incidence and pattern of "Karnal" Bunt symptoms on some triticale varieties under adaptive research trial in the Punjab. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 10: LXXXIV.
- Mitra, M. 1931. A new bunt on wheat in India. Ann. Appl. Biol. 18:178-179.
- Munjal, R.L. 1975. Status of Karnal bunt (*Neovossia indica*) of wheat in Northern India during 1968-69 and 1969-70. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 5:185-187.
- Salazar Huerta, F.J., S.O. Rawasoe, L. Gilchrist Saavedra, y G. Fuentes-Dávila. 1990. Evaluación de la resistencia de seis genotipos de trigo (*Triticum vulgare* L.) al carbón parcial causado por el hongo *Tilletia indica* Mitra en invernadero. Rev. Mex. Fitopatol. 8:145-152.
- _____, P. Figueroa-Lopez, G. Fuentes-Dávila, G. and J. L. Smilanick. 1993. Chemical control of Karnal bunt of wheat with foliar fungicide applications in northwest Mexico. Crop Prot., en revisión.
- SARH. 1987. Cuarentena Interior número 16 contra el Carbón Parcial del Trigo. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Diario Oficial, (Jueves) 12 de marzo de 1987. México.

- Singh, R. A. and A. Krishna. 1982.** Susceptible stage for inoculation and effect of Karnal bunt on viability of wheat seed. *Indian Phytopathol.* 35:54-56.
- Singh, A., K.P. Singh and A.N. Tewari. 1988.** Salient findings of Karnal bunt research at Pantnagar. Dept. of Plant Pathol., G. B. Pant Univ. of Agric. and Tech., Pantnagar-263 145. 18 pp.
- Singh, D.V., R. Agarwal, J.K. Shrestha, B.R. Thapa and H.J. Dubin. 1989.** First report of *Tilletia indica* on wheat in Nepal. *Plant Dis.* 73:273.
- Smilanick, J.L., J.A. Hoffmann, L.R. Secrest and K. Wiese. 1988.** Evaluation of chemical and physical treatments to prevent germination of *Tilletia indica* teliospores. *Plant Dis.* 72:46-51.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. and Konzak, C.F. 1974.** A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14:415-421.