

ANÁLISIS GENÉTICO DE LA RESISTENCIA A *Puccinia helianthi* Schw. DE CUATRO LÍNEAS DE GIRASOL.

A.C. Senetiner, E.F. Antonelli y P.M. Ludueña. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EERA Pergamino, C.C. 31, 2700 Pergamino, Argentina.

Resumen

Se estudió las bases genéticas de la resistencia a *Puccinia helianthi* presentada por las líneas de girasol L.C. 74/75-20620, Pergamino 71/538, MP 555 y MP 557, derivadas de cruzamientos con especies silvestres. En las cuatro líneas la resistencia frente a tres clones de *P. helianthi* se heredó en forma dominante, según lo indicado por la reacción de 1057 plántulas F_1 que se ubicaban en los tipos de infección 0, 0; ó 0;+. El análisis frente al clon N°340 de *P. helianthi* de la F_2 de los cruzamientos entre líneas resistentes y una variedad susceptible indicó un control monogénico de la resistencia en las líneas LC 74/75-20620, MP 555 y MP 557. En la línea Pergamino 71/538 la resistencia estaría condicionada por más de un gen probablemente uno dominante y otro recesivo, o bien por dos factores dominantes con cierto grado de ligamiento. El gen de resistencia de LC 74/75-20620 es distinto al de las otras tres líneas. Las líneas MP 555, MP 557 y Perg. 71/538 poseen un gen de resistencia en un locus común, pero esta última posee un alelo diferente al de las dos primeras. Es la primera comprobación de la existencia en girasol de una serie alélica para resistencia a *P. helianthi*.

Introducción

Desde hace ya varios años se vienen realizando tanto en el Departamento de Genética (ex-Instituto de Fitotecnia) de Castelar, como en la EERA Pergamino, el estudio de las características de patogenicidad de la población local de *Puccinia helianthi*, como así también la búsqueda de fuentes de resistencia a este organismo.

Resulta de particular importancia para el fitotecnista dedicado al mejoramiento genético del girasol, conocer las posibilidades futuras de sus fuentes de resistencia frente a los cambios en patogenicidad surgidos de la operatividad de los mecanismos normales de variación (asexuales o sexuales) del hongo. Además, constituye una ventaja para el mejorador el poder disponer, como material resistente, de líneas cuyas características agronómicas y de calidad se encuentren lo más cerca posible a aquellas que son requeridas para el cultivo.

En el presente trabajo se estudian las bases genéticas de la resistencia a *Puccinia helianthi* presentada por cuatro líneas de girasol sometidas a evaluación, en condiciones de campo, en la EERA Pergamino en los últimos años. La información obtenida puede permitir diversificar los factores genéticos a incorporar en los trabajos de obtención de variedades resistentes de tal manera que ofrezcan mayores posibilidades de mantener esa cualidad frente a las modificaciones tanto cuantitativas como cualitativas en los alelos de patogenicidad de la población de esta roya.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó sobre las líneas L.C. 74/75-20620, Pergamino 71/538, MP 555 y MP 557, derivadas de cruzamientos naturales entre viejas variedades rusas y algunas especies silvestres. Cuando se inició el presente trabajo, en 1979, las líneas se comportaban como resistentes a la población patógena de *P. helianthi* en el país. A fines de 1980 se identifica un clon de esta roya (N°823) virulento sobre Pergamino 71/538, pero avirulento sobre las tres líneas resistentes.

La determinación del número de factores involucrados en la resistencia y la forma de herencia del carácter se estableció mediante el análisis de las progenies de cruzamientos entre las líneas resistentes a investigar y una variedad susceptible. A este efecto se utilizó Negro Bellocq, la cual se ha comportado hasta el momento como susceptible a todas las razas de *P. helianthi* determinadas en la Argentina.

La identidad o relación existente entre los genes responsables de la resistencia se determinó a partir del análisis dialéctico de las líneas intervinientes, es decir, del análisis de las generaciones segregantes de los cruzamientos de todas ellas entre sí.

Diversos clones de *P. helianthi* fueron utilizados para evaluar el comportamiento de las líneas en estudio y de las F₁ de los distintos cruzamientos. En cambio, el análisis de la generación F₂ se realizó frente a un solo clon (el N°340). Las características patógenas de los mismos, con respecto al grupo de las líneas diferenciales actualmente utilizadas en Castelar, así como la reacción de las líneas utilizadas en el presente estudio, se indican en el Cuadro 1.

Las inoculaciones se realizaron pulverizando las plántulas con una suspensión de esporos en agua y manteniéndolas en cámara húmeda durante 12 a 24 horas a 15-24°C, para ser luego transferidas a banquinas de invernáculo hasta el momento de la observación, usualmente a los 15 días después de la inoculación. La clasificación de las plántulas, en base a la reacción del primer par de hojas verdaderas, se efectuó siguiendo el sistema adoptado por Sackston (1962). A los efectos de la presentación de los datos, los tipos de infección 0 a 1 se ubican en la clase de reacción "Resistente", de 1+ a 2 como "moderadamente resistente" y 3 a 4 como susceptibles. Para el análisis estadístico de las generaciones segregantes se utilizó la prueba de χ^2 cuadrado, aplicable tanto para la determinación de la homogeneidad de la población total entre cruzamientos, como para establecer la bondad de ajuste con la relación teórica esperada (Strickberger, 1978).

Resultados

I. Cruzamientos de cada una de las líneas resistentes por la variedad susceptible.

1) Comportamiento de las F₁: Un total de 1057 plántulas F₁ de los cruzamientos entre cada una de las cuatro líneas resistentes por la variedad susceptible Negro Bellocq, fue inoculado con los clones 340, 745 y 805 de *Puccinia helianthi* obteniéndose en todos los casos una reacción de neta resistencia (tipos de infección 0, 0; 6 0;+) indicando la dominancia del carácter.

2) Análisis de la generación F₂: Los resultados presentados en el Cuadro 2 indican que en las líneas L.C.74/75-20620 MP 555 y MP 557, la resistencia frente al clon mencionado estaría condicionada por un gen simple dominante, según se desprende de las segregaciones obtenidas al analizar tanto los datos parciales correspondientes a cada cruzamiento, como los totales acumulados luego de que el test de homogeneidad indicara que las distintas progenies F₂ eran lo suficientemente homogéneas como para reunir las. En efecto, los valores de P para homogeneidad en cada uno de los cruzamientos con la variedad susceptible fueron superiores a 0,50. La segregación de los datos acumulados se ajustó en los tres casos a una relación 3:1, con altos valores de P en el caso de los cruzamientos Negro Bellocq x L.C.74/75-20620 (P=0,50-0,70) y Negro Bellocq x MP 557 (P=0,75-0,90) y con un menor grado de ajuste en el cruzamiento Negro Bellocq x MP 555 (P=0,05-0,10).

En cambio, en la línea Perg.71/538 la situación parece ser algo más compleja, estando involucrado, aparentemente, más de un gen en el control de la resistencia frente al clon de *P. helianthi* con que se realizó el estudio. Las segregaciones obtenidas en las seis progenies F₂ del cruzamiento con la variedad susceptible Negro Bellocq se apartan considerablemente de la segregación 3:1 y 15:1, es decir de las esperadas para un control monogénico y digénico, respectivamente. Las relaciones obtenidas variaban entre 5:1 hasta 8:1 sugiriendo que podría tratarse de un caso de dos factores con cierto grado de ligamiento. El ajuste para una segregación 13:3, es decir la teórica para el caso de dos factores, uno dominante y otro recesivo, dio valores de P aceptables en sólo tres de las seis progenies analizadas. El test de homogeneidad permitió el análisis conjunto de las progenies sólo para las relaciones 3:1 y 13:3 (P = 0,50-0,70 y P = 0,30-0,50, respectivamente). Los valores de P resultantes

para ambos casos ($P < 0,001$) rechazaron la posibilidad de ambos tipos de control genético.

II. Cruzamientos entre las líneas resistentes.

De los cruzamientos MP 557 x Pergamino 71/538, MP555 x Pergamino 71/538 y MP 555 x MP 557 se ensayaron, respectivamente, 682, 1187 y 212 plántulas F₂, las que resultaron en todos los casos resistentes al clon de *P. helianthi* utilizado. De ello se infiere que estas tres líneas poseerían un gen de resistencia en un locus común. En cambio en la F₂ de los cruzamientos entre cada una de ellas con LC 74/75-20620 se aprecia la aparición de plantas susceptibles (Cuadro 3). En cinco de las seis progenies analizadas del cruzamiento MP 555 x LC 74/75-20620 los valores de P obtenidos apoyan la hipótesis para una segregación de dos genes dominantes independientes, que sería la esperada de acuerdo a los resultados obtenidos en los cruzamientos con la variedad susceptible. Quedaría latente la posibilidad de la presencia de un gen adicional en MP 555 si se tiene en cuenta el menor grado de ajuste para la relación 3:1 obtenida en el cruzamiento Negro Bellocq x MP 555 (Cuadro 2) a que se hiciera referencia anteriormente, y una cierta tendencia a exceder la proporción 15:1 observada en el cruzamiento MP 555 x L.C.74/75-20620. La F₂ del cruzamiento entre MP 557 x L.C.74/75-20620 cuya resistencia frente al clon empleado estaba condicionada por un gen simple dominante, presentó plántulas susceptibles en una proporción cercana a la teórica esperada para una segregación de dos genes independientes (15 R:1 S).

Para el cruzamiento Pergamino 71/538 x L.C.74/75-20620, de las tres relaciones teóricas ensayadas, la que parece brindar mejores posibilidades de explicación de los valores observados es la de 61:3, es decir, la que supone una interacción entre el gen dominante presente en L.C.74/75-20620 y dos genes (uno dominante y otro recesivo) controlando la resistencia de Pergamino 71/538.

Análisis

En las cuatro líneas estudiadas la resistencia frente a tres clones se heredó en forma dominante, forma de herencia que ha resultado ser la más común en los casos que han sido analizados por otros autores (Putt y Rojas, 1955; Putt y Sackston, 1963; Luciano, 1964; Krokhn, 1978; Montes, 1977; Antonelli, 1981 (com. pers.), con las obvias ventajas para el fitotecnista que puede detectarla en generaciones tempranas y sobre un mayor número de individuos.

El tipo de herencia monofactorial ha sido también el caso más frecuentemente citado en la literatura (Putt y Sackston, 1963; Luciano, 1964; Krokhn, 1978; Pustovoit y Krokhn, 1978). Hasta el momento se han identificado 3 distintos genes de resistencia, designados como R₁, R₂ y R₃. El análisis, realizado en el presente trabajo, indica un control monogénico en las líneas L.C.74/75-20620 como así también en MP 555 y posiblemente en MP 557, aunque el gen presente en estas dos últimas líneas es distinto al de L.C.74/75-20620 según se dedujo del análisis del cruzamiento entre ellas. La relación que puede existir entre estos últimos genes con los tres anteriormente citados (R₁, R₂ y R₃) sólo puede establecerse mediante el análisis de los cruzamientos dialélicos correspondientes frente a clones apropiados del patógeno.

La ausencia de plantas susceptibles en las generaciones segregantes de los cruzamientos entre las líneas MP 555, MP 557 y Perg.71/538 es una indicación de que las mismas poseen un gen de resistencia en un locus común. Este hecho no implica necesariamente que esos genes sean idénticos, ya que no es improbable la existencia de series alélicas. La identificación de un clon de *P. helianthi* (N°823), virulento sobre Perg.71/538 pero avirulento sobre las tres líneas restantes, suministró un primer indicio de diferencias genéticas entre el material que se analizaba y permite ahora establecer que Perg.71/538 es portador de un alelo distinto al presente en las líneas MP 555 y MP 557. Como no es posible por el momento discernir si estas dos últimas líneas poseen distintos alelos, se las considerará provisoriamente como genéticamente similares. La reciente determinación de una raza del patógeno

no avirulenta sobre Perg. 71/538 pero virulenta sobre MP 555 y MP 557, robustecería la hipótesis de una similitud genética entre estas dos últimas líneas.

Los casos descritos en este trabajo constituyen la primera comprobación de la existencia de alelismo múltiple para resistencia a *P.helianthi* dentro del género *Helianthus*. En definitiva, en el material analizado se deduce la presencia de un sistema genético para resistencia a *P.helianthi* compuesto de por lo menos dos genes, designados como Ph1 y Ph2, con evidencias de una serie alélica en este último caso.

Se proponen para las cuatro líneas estudiadas los siguientes genotipos:

L.C. 74/75-20620 : Ph1 . Ph1
 MP 557 : Ph2 . Ph2
 MP 555 : Ph2 . Ph2
 Perg. 71/538 : Ph2a. Ph2a. + ph3 . ph3 (ó Ph3. Ph3)

Bibliografía

KROKHIN, O.Y.A. 1978. (Inheritance of rust resistance in sunflower). Pl. Breed. Abstr. 50 (1980): 2261.
 LUCIANO, A. 1964. Preliminary investigation on the inheritance of self-incompatibility and studies on the inheritance of resistance to rust (*Puccinia helianthi*, race 1) in sunflower (*Helianthus annuus*). M.S. Thesis, Texas A & M University. College Station, Texas, 50 p.
 MONTES, N.M.A. 1977. Análisis de un híbrido entre el girasol cultivado (*Helianthus annuus* L.) y una especie hexaploide ornamental (*Helianthus laetiflorus* Pers). Tesis Mag. Sci. Castelar, Argentina, Esc. Graduados en Cs. Agrop. 77 pág.
 PUSTOVOIT G.V. y KROKHIN, E.Y.A. 1978. (Inheritance of resistance to the main pathogens in interspecific sunflower hybrids). Pl. Breed. Abstr. 51 (1981): 643.
 PUTT, E.D. y ROJAS, E.M. 1955. Field studies on the inheritance of resistance to rust in the cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Can. J. Agr. Sci. 35: 557-63.
 PUTT, E.D. y SACKSTON, W.E. 1963. Studies on sunflower rust. IV. Two genes R₁ and R₂ for resistance in the host. Can. J. Plant Sci. 43: 490-496.
 SACKSTON, W.E. 1962. Studies on sunflower rust III. Occurrence, distribution and significance of races of *Puccinia helianthi* Schw. Can. J. Bot. 40: 1449-1458.
 STRICKBERGER, M.W. 1978. Genética. Barcelona. Ed. Omega, 937 pág.

CUADRO Nº1.- REACCION PRESENTADA FRENTE A DIVERSOS CLONES DE *Puccinia helianthi* POR LAS LINEAS DE GIRASOL ANALIZADAS, Y POR CUATRO VARIETADES DIFERENCIALES.

	Clones de <i>Puccinia helianthi</i>							
	465	745	340	767	805	827	793	823
M P 555
M P 557
PERGAMINO 71/538	S
L.C. 74/75-20620
NEGRO BELLOÇQ	S	S	S	S	S	S	S	S
GUAYACAN INTA, Sel. Castelar	.	.	.	S	S	S	S	S
MORDEN ACCESSION 307-1	.	.	S	.	.	.	S	S
IMPIRA INTA, Sel. 11 Castelar	S	S	S	.	S	S	.	.
S.P.S. 894	.	S	.	.	.	S	.	.

Referencias: . Resistente S: Susceptible

CUADRO No 3.- REACCIONES PRESENTADAS FRENTE AL CLON No 340 DE *Eucalyptus delectans* POR LAS PLANTULAS F₂ DE LOS CRUZAMIENTOS ENTRE LA LINEA LC 74/75-20620 CON PERGAMINO 71/538, M P 555 Y M P 557.

Crus. No	PROGENITORES	No de Pls. GL		χ^2 para la relación			Valores de P para la relación		
		Res.	Susc.	15:1	61:3	63:1	15:1	61:3	63:1
HP 13	LC 74/75-20620 x PERG. 71/538	653	30	1	4,02	35,37	0,025-0,05	0,70-0,75	< 0,001
HP 80	"	149	7	1	0,83	8,67	0,30-0,50	0,80-0,95	0,01-0,001
HP 77	PERG. 71/538 x LC 74/75-20620	118	11	1	1,14	40,68	0,25-0,30	0,025-0,05	< 0,001
HP 78	"	195	6	1	3,65	2,64	0,05-0,10	0,25-0,30	0,10-0,20
HP 79	"	124	2	1	4,68	0,0005	0,025-0,05	0,10	0,97-0,99
	Total acumulado	1239	56	1	8,20	64,22	0,01-0,001	0,50-0,70	< 0,001
	Σ Parciales			5	14,32	87,56			
	Homogeneidad			4	6,12	23,54	0,10-0,20	0,05-0,10	< 0,001
HP 15	M P 555 x LC 74/75-20620	371	17	1	2,31		0,10-0,20		
HP 74	"	163	13	1	0,39		0,50-0,70		
HP 75	"	88	2	1	2,49		0,10-0,20		
HP 76	"	203	5	1	5,25		0,010-0,025		
HP 71	LC 74/75-20620 x M P 555	93	7	1	0,10		0,75		
HP 72	"	148	4	1	3,40		0,05-0,10		
	Total acumulado	1066	48	1	7,17		0,005-0,01		
	Σ Parciales			6	13,94				
	Homogeneidad			5	6,77		0,20-0,25		
HP 52	LC 74/75-20620 x M P 557	92	4	1	0,71		0,30-0,50		
HP 53	"	75	3	1	0,77		0,30-0,50		
HP 54	M P 557 x LC 74/75-20620	106	7	1	0,0006		0,97-0,99		
HP 55	"	141	5	1	1,99		0,10-0,20		
HP 56	"	190	11	1	0,21		0,50-0,70		
	Total acumulado	604	30	1	2,49		0,10-0,20		
	Σ Parciales			5	3,68				
	Homogeneidad			4	1,19		0,75-0,90		

CUADRO No. 2.- REACCIONES PRESENTADAS FRENTE AL CLON No 340 DE Puccinia helianthi POR LAS PLANTULAS F₂ DE LOS CRUZAMIENTOS DE LAS LINEAS RESISTENTES CON LA VARIEDAD SUSCEPTIBLE NEGRO BELLOCCO.

Cruz. No	PROGENITORES	No de Pls.		χ^2 para la relación				Valores de P para la relación			
		Res.	Suso.	3:1	13:3	15:1	3:1	13:3	15:1		
HP 2	N. BELLOCCO x PERGAMINO 71/538	29	6	1,15	0,06	7,07	0,20-0,30	0,75-0,90	0,005-0,010		
HP 3	"	242	33	24,79	8,22	15,51	< 0,001	0,01-0,001	< 0,001		
HP 17	"	234	28	28,63	11,18	8,79	< 0,001	< 0,001	0,010-0,005		
HP 18	"	132	17	14,68	5,27	6,78	< 0,001	0,01-0,025	0,010-0,005		
HP 19	"	91	17	4,94	0,64	16,60	0,05-0,025	0,30-0,50	< 0,001		
HP 20	"	204	42	8,24	0,45	49,18	0,005-0,001	0,50	< 0,001		
	Total acumulado	932	143	78,45	20,94	91,24	< 0,001	< 0,001			
	Σ Parciales			82,43	25,82	103,93					
	Homogeneidad			5	3,98	4,88	0,50-0,70	0,30-0,50	0,025-0,05		
HP 4	N. BELLOCCO x LC 74/75-20620	74	24	0,01			0,98-0,95				
HP 5	"	139	36	1,83			0,10-0,25				
HP 6	"	51	19	0,17			0,50-0,70				
HP 22	"	19	6	0,01			0,90-0,95				
HP 24	"	37	12	0,01			0,90-0,95				
HP 27	"	29	12	0,40			0,50-0,70				
	Total acumulado	349	109	0,35			0,50-0,70				
	Σ Parciales			6	2,43						
	Homogeneidad			5	2,08		0,75-0,90				
HP 28	N. BELLOCCO x M P 555	111	33	0,33			0,50-0,70				
HP 29	"	270	84	0,31			0,50-0,70				
HP 30	"	232	74	0,11			0,70-0,75				
HP 31	"	181	48	1,99			0,10-0,20				
HP 32	"	178	60	0,01			0,75-0,90				
HP 33	"	164	39	3,63			0,05-0,10				
	Total acumulado	1136	338	3,37			0,05-0,10				
	Σ Parciales			6	6,38						
	Homogeneidad			5	3,01		0,50-0,75				
HP 34	N. BELLOCCO x M P 557	79	22	0,56			0,30-0,50				
HP 35	"	50	24	2,18			0,10-0,20				
HP 36	"	111	38	0,11			0,70-0,75				
HP 37	"	105	32	0,20			0,50-0,75				
HP 38	"	47	13	0,36			0,50-0,70				
HP 39	"	62	18	0,27			0,50-0,70				
	Total acumulado	454	147	0,10			0,75-0,90				
	Σ Parciales			6	3,67						
	Homogeneidad			5	3,57		0,50-0,70				