

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de anteras es una técnica para la producción de plantas haploides y/o diploides. Las anteras inmaduras que contienen polen en una etapa específica de desarrollo se colocan en medios de cultivo donde el polen inmaduro se divide para formar embriones o callos. Transferidos éstos a medios de regeneración, se da la conversión en plantas completas. En la mayoría de los casos se producen plantas haploides estériles, pero en algunas especies, como el arroz, ocurre una duplicación espontánea de los cromosomas en las etapas de desarrollo del callo y regeneración de planta.

Alcanzar rápidamente homocigocidad constituye una de las aplicaciones más importantes del cultivo de anteras en el desarrollo de variedades nuevas porque, gracias a esta técnica, el tiempo, el espacio y los costos, necesarios para desarrollar las líneas “verdaderamente mejoradas” disminuirían considerablemente.

Objetivo:

Desarrollar doble haploides de arroz a partir del cultivo de anteras en condiciones *in vitro*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación del ensayo

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental del Litoral Sur “Dr. Enrique Ampuero Pareja”, INIAP.

2.2. Manejo del ensayo

Se realizaron 40 cruces simples; se estableció una población F1 (material donante de anteras) a partir de los cruzamientos realizados; se colectaron panículas de la población F1 obtenida y se realizó la siembra *in vitro* de las anteras en medios de cultivo para inducción de callos; a partir de los microcallos obtenidos mediante la siembra de anteras, se regeneraron plántulas en un medio de cultivo definido para el efecto; finalmente, se aclimataron las plántulas y se determinó el nivel de ploidía.

2.3. Variables evaluadas

- Relación panícula/microspora
- Tratamiento en frío de las panículas previo a la siembra de las anteras (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 días a 13°C)
- Medios de cultivo (Inducción de callos: L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 y M1; Regeneración de plantas: MS modificado).

III. RESULTADOS

Se determinó que las microsporas en estado uninucleado, óptimo para el cultivo de anteras, se encuentran en panículas que están en etapa de embuchamiento; cuando la distancia entre las aurículas de la hoja bandera y las aurículas de la hoja anterior está en un rango de 2 a 5 cm. Las flores presentan consistencia frágil y color amarillo verdoso (Figura 1).

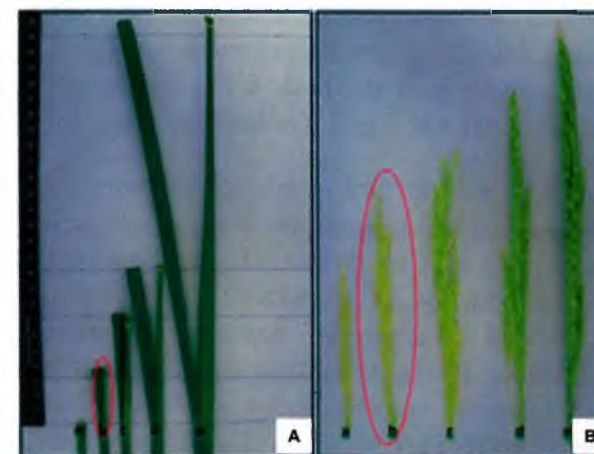


Figura 1. Análisis de panículas en diferentes estados de desarrollo: distancia óptima entre las aurículas de las dos últimas hojas (Ab); consistencia y color óptimo de la inflorescencia (Bb).

No se obtuvo inducción de callos cuando se sometieron las panículas al tratamiento en frío a 13°C por más de 3 días, mientras que los mejores resultados se lograron cuando se cultivaron anteras sin dicho tratamiento, llegando a obtener en promedio hasta 137 callos/100 anteras.

La mejor respuesta a la inducción de callos se presentó en el medio L7, siendo una modificación del medio M1 (2 mg/L de 2.4-D, 10 mg/L de AFA, 0.5 mg/L de Cinetina, 80 gr/L de maltosa y pH 5.8 antes del autoclavado); se adicionó 100 ml/L de agua de coco y se esterilizó mediante filtración con 0.22 micras; dando un promedio de 113 callos/100 anteras.

En la regeneración de plantas se obtuvieron bajos resultados, a excepción de pocos, muchos de los callos murieron una vez transferidos al medio de regeneración MS (1 mg/L de ANA, 4 mg/L de Cinetina, 30 gr/L sacarosa, pH 5.8, 3 gr/L Gellan Gum).

Mediante esta técnica se ha podido conseguir un material doble haploide homocigótico en un ciclo de cultivo *in vitro* (Figura 2) a partir de la generación F1 JAPON/FED-50. El nivel de ploidía se determinó tomando en cuenta que posee 100% de fertilidad y presenta las características morfológicas de una planta normal (diploide).

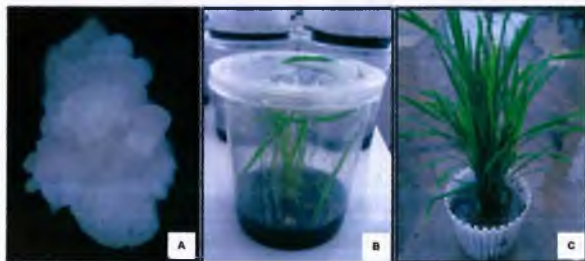


Figura 2. Callo de 45 días en medio de inducción (A); planta R1 de 60 días en medio de regeneración (B); planta R1 a los 50 días después del trasplante (C).

IV. CONCLUSIONES

Para el cultivo de anteras se debe coleccionar panículas cuando las aurículas de la hoja bandera y las aurículas de la hoja anterior se encuentran de 2 a 5 cm. de distancia. Sembrar las anteras el mismo día que son coleccionadas. Con el medio de cultivo L7 se obtiene mayor formación de callos. Con el medio MS utilizado se logró poca regeneración de plantas. A partir del cruce JAPÓN/FED-50, se obtuvo un material doble haploide homocigótico en un ciclo de cultivo *in vitro*.

V. RECOMENDACIONES

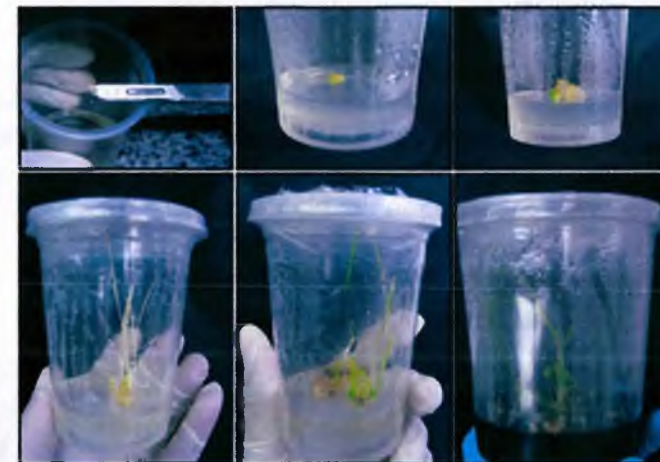
Ajustar la fase de regeneración a partir de microcallos; sugiriéndose transferir los callos a un medio MS para regeneración de plantas sin hormonas, con el fin de "lavar" restos de estas, luego transferirlos al MS con hormonas hasta diferenciación de órganos y finalmente para el desarrollo foliar y radical, pasarlos al MS sin hormonas adicionando carbón activado.

Estación Experimental del Litoral Sur
Km. 26 vía Durán-Tambo, Parroquia Virgen de Fátima, Cantón Yaguachi, Provincia Guayas.
Teléfonos: Dirección (593 4) 2724262
Laboratorios: (593 4) 2724260
Apartado postal: 09-01-7069
www.iniap.gob.ec
litoralsur@iniap.gob.ec



ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR "DR. ENRIQUE AMPUERO PAREJA"

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA



Cultivo *in vitro* de anteras en arroz (*Oryza sativa L*) para inducir plantas doble haploides homocigóticas

Dr. Walter Reyes Borja
Ing. Roberto Celi Herán
Ing. Lenin Arana Vera

Virgen de Fátima, 15 de Agosto del 2012