

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA REGENERACIÓN DE DOBLE
HAPLOIDES DE MAÍZ SUAVE VARIEDAD INIAP-101
MEDIANTE LA TÉCNICA DE CULTIVO DE ANTERAS**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DE GRADO ACADÉMICO O TÍTULO
DE:**

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

ANDREA PAOLA ZÁRATE OVIEDO

SANGOLQUÍ, 30 DE ABRIL DEL 2013

INIAP - Estación Experimental Santa Catalina

RESUMEN

El cultivo de anteras en maíz se ha visto siempre limitado por la capacidad androgénica del genotipo estudiado. En esta investigación se evaluó la respuesta de las anteras del híbrido INIAP-101 en tres fases: inducción, formación de callos y formación de embriones. En la primera fase se utilizó colchicina en diferentes concentraciones para el doblaje del genoma, mientras que en las fases siguientes se probó con reguladores de crecimiento, inhibidores de etileno y diferentes fuentes de hidratos de carbono para estimular a las microsporas inducidas hacia la formación de tejidos; además de ello, se ensayó otros factores que interfieren en la respuesta androgénica.

Se comprobó que la variedad INIAP-101 tiene características androgénicas casi nulas y por tanto es poco apta para el cultivo de anteras; sin embargo se identificó que el medio Yu Pei (YP) suplementado con 30mg/L de colchicina permite la sobrevivencia del 96% de las anteras, de las cuales el 70% se encontraban hinchadas y un 36,5% contenía microsporas inducidas. A pesar de que no existió formación de tejido meristemático o embriogénico, microscópicamente se llegó a identificar esporas con citoplasma “como estrella” un punto de partida para la androgénesis, claramente detenido por la ausencia de capacidad androgénica.

Los resultados entre tratamientos para la formación de callos no fueron significativos ($p=0,7116$), pero al contraponerlos con un blanco se encontró que con inhibidores de etileno y maltosa como fuente de carbono en el mismo medio YP, es posible mantener viables un 50% de las anteras, y un 17% de microsporas inducidas a los 30 días de iniciado el cultivo. En la fase de formación de embriones, se hallaron un 40% de anteras viables e hinchadas y un 7% de microsporas inducidas, éste mínimo porcentaje indica que la hinchazón se debe más a la hiper-hidratación que a la actividad de las microsporas.

ABSTRACT

Anther culture in maize always has been limited by studied genotype androgenic ability. In this investigation was evaluated the response of anthers INIAP-101 in three phases: induction, callus formation and embryo formation. In the first stage, colchicine was used in different concentrations for doubling genome; whereas in the subsequent phases were tested growth regulators, ethylene inhibitors, carbohydrate sources to encourage induced microspores to tissue formation, in addition was tested other interfering factors on the androgenic response.

It was found that INIAP-101 has almost no androgenic properties and therefore is unsuited for anther culture, however was identified that medium Yu Pei (YP) supplemented with 30mg/L of colchicine allows survival of 96% of anthers, of which 70% were swollen and contained 36.5% induced microspores. Although, there was no formation of meristematic or embryogenic tissue, with microscopic observations, spores with cytoplasm "like a star" became identified. This cytoplasm is a starting point for androgenesis, in this case arrested by absence of androgenic capacity.

The results between treatments for callus formation were not significant ($p = 0.7116$), but compared with a control was found that inhibitors of ethylene and maltose as carbon source in the same medium YP, one can maintain viable 50% of the anthers, and 17% of microspores induced at 30 days of initiating the culture. In the stage of embryo develop, 40% anthers were found viable and swollen and 7% of them contained induced microspores, this minimum percentage indicates that the swelling is due to hyper-hydration instead microspores activity.