

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

“DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ADECUADAS
DE PRE-TRATAMIENTO FRÍO Y LA DOSIS ÓPTIMA DE
RADIACIÓN GAMMA CO⁶⁰, PARA REALIZAR CULTIVO *IN*
VITRO DE MICROSPORAS AISLADAS DE MAÍZ DE LAS
VARIETADES INIAP-101 E INIAP-601.”

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

VÍCTOR HUGO ALMEIDA ARTEAGA

SANGOLQUÍ, 11 DE SEPTIEMBRE DEL 2009

INIAP - Estación Experimental Santa Catalina

RESUMEN

Esta investigación estudió los efectos de la duración del pre-tratamiento frío, la osmolaridad del medio de inducción y la exposición a diferentes dosis de radiación gamma sobre la viabilidad de las microsporas de las variedades de maíz INIAP-101 e INIAP-601; como base para establecer un protocolo de cultivo *in vitro* de microsporas aisladas e inducción de mutaciones para variedades de maíz desarrolladas por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.

Los resultados obtenidos indican que para estas dos variedades de maíz el máximo tiempo de pre-tratamiento a 7 °C en medio MMA es de 7 días, mayor tiempo de exposición a bajas temperaturas causa un deceso de 65 a 70 % de las microsporas.

Al evaluar la viabilidad de las microsporas aisladas en medio de inducción YP modificado (Zheng *et al.*, 2003a) durante un periodo de 7 días, se comprobó que el porcentaje de viabilidad era muy bajo, al añadir PEG 4000 al 21 % en el medio, la viabilidad de las microsporas aumento considerablemente, y además se pudieron observar respuestas androgénicas positivas en algunas microsporas.

Una de las mayores aplicaciones del cultivo *in vitro* de microsporas aisladas, es combinarlo con inducción de mutagénesis. Por esta razón y como primer paso para obtener un protocolo, la viabilidad de microsporas que recibieron diferentes dosis de radiación gamma Co^{60} fue evaluada durante un período de 7 días y se estableció que la dosis optima de radiación gamma para estas dos variedades de maíz es 15 Gy.

ABSTRACT

This investigation studied the effects of the cold pre-treatment duration, osmolarity of the induction medium and the exposition to different doses of gamma radiation on the viability of the microspores of the varieties of corn INIAP-101 and INIAP-601; as base to establish a protocol of *in vitro* isolated microspores culture and induction of mutations for varieties of corn developed by “Instituto Nacional Autonomo de Investigaciones Agropecuarias”.

The results indicate that for both varieties of corn the maximum time of pre-treatment to 7 °C in MMA medium is of 7 days, more time of exposition to low temperatures cause the death of 65 to 70% of microspores.

The evaluation of isolated microspores viability on induction modified YP medium (Zheng *et al.*, 2003a) during a period of 7 days, showed that the percentage of viability was very low, when adding 21 % of PEG 4000 in the medium, the microspore viability increase considerably, and positive androgenic answers could also be observed in some microspores.

One of the biggest applications of *in vitro* isolated microspores culture is to combine it with mutant induction. For this reason and such as first step to obtain a protocol, the viability of microspores that received different doses of gamma radiation Co^{60} was evaluated during a period of 7 days and it established that the best dose of gamma radiation for these two varieties of corn was 15 Gy.