

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO**

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

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANDROGÉNICA DE  
CINCO VARIEDADES DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)  
MEDIANTE LA TÉCNICA DE CULTIVO *IN VITRO*  
DE ANTERAS”**

**Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**ELABORADO POR:**

**PAOLA VIVIANA PARRA GALLARDO**

**SANGOLQUÍ, Julio 2010**

## RESUMEN

El cultivo *in vitro* de anteras de cebada (*Hordeum vulgare* L.) representa una herramienta útil y de apoyo a los programas convencionales de mejoramiento genético de esta especie.

El propósito de este trabajo fue estudiar la capacidad androgénica de cinco variedades de cebada (*Hordeum vulgare* L.) INIAP-Cañicapa, INIAP-Quilotoa, Clipper, Diferencial Emir y Diferencial I5 mediante la técnica de cultivo *in vitro* de anteras. Sin embargo, la respuesta de los genotipos a androgénesis está sujeta a ciertos factores limitantes, así, fue indispensable evaluar el tiempo de exposición máximo de las espigas de cebada en estado uninucleado medio y tardío al pre-tratamiento frío (4, 7, 10 y 14 días), estado vegetativo de las plantas donantes en correlación con el estado de desarrollo de las microsporas, así como la eficiencia del medio de inducción BAC3 (2mg/L de ANA y 1m/l de BAP, 6% de maltosa) al ser suplementado con Ficoll 20%, Gelrite 0.035% y Polietilenglicol 25%.

Los mejores resultados para todas las variedades se obtuvieron, al aplicar 4 días de pre-tratamiento frío 4°C (90% de sobrevivencia de microsporas), espigas en estado Z4.0 y Z4.9 según la escala de Zadocks y distancia de 5-6 cm entre la penúltima hoja y la hoja bandera, estados en los cuales prevalecía la fase de desarrollo uninucleado medio y tardío de las microsporas. Sin embargo, se aprecian diferencias altamente significativas ( $p < 0.0001$ ) entre los diferentes genotipos, y al suplementar al medio BAC3 con distintos agentes gelificantes; alcanzando mayores porcentajes de repuestas androgénicas (36.75%), callos (36.25%) y embriones (19.78%) para la variedad Clipper y cuando se suplementa al medio BAC3 con Ficoll (20%) por cada 40 anteras en inducción.

Estos resultados, sugieren que los principales factores que influyen sobre el cultivo *in vitro* de anteras de cebada son el genotipo, duración del pre-tratamiento frío, estado de desarrollo de las microsporas, y el agente gelificante en el medio de inducción BAC3.

**Palabras claves:** *Hordeum vulgare* L., capacidad androgénica, cultivo *in vitro*, callos, embriones.

## ABSTRACT

***In vitro*** anther culture of barley (*Hordeum vulgare* L.) is a useful tool to support conventional breeding programs of this crop.

This investigation was conducted to study the androgenic capacity of five barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) INIAP-Cañicapa, INIAP-Quilotoa 2003, Clipper, Diferencial Emir and Diferencial I5 by *in vitro* anther culture technique. However, the genotype response to androgenesis is subject to certain limiting factors. In this way, it was necessary to evaluate maximum exposure time of barley spikes at mid to late uninucleate state to pre-cold treatment (4, 7, 10 and 14 days), vegetative state of donor plants correlated with microspore development stage, and BAC3 medium induction efficiency (2mg / L NAA and 1 mg / l of BAP, 6% maltose) when it was supplemented with 20% Ficoll, 0.035% Gelrite and 25% polyethylene glycol.

In all genotypes, the best results were obtained by applying four days of cold pretreatment 4 °C (90% survival of microspores), collecting spikes in Z4.0 and Z4.9 state (as Zadocks scale), and distance between the flag and penultimate leaf of 5-6 cm in which spikes contained microspores at mid to late uninucleate development stage. However, highly significant differences were found ( $p < 0.0001$ ) between different genotypes, and by supplementing BAC3 medium with different gelling agents. Achieving higher percentages of androgenic responses (36.75%), calli (36.25%), and embryoids (19.78%) for Clipper genotype and when BAC3 medium was supplemented with Ficoll (20%) per 40 anthers on induction.

These results suggest that the main critical factors for androgenic response in barley are genotype, cold pretreatment duration, microspore development stage, and gelling agent in BAC3 induction medium.

**Keywords:** *Hordeum vulgare* L., androgenic response, *in vitro* anther culture, calli, embryoids.