

Conclusiones

Se estableció un protocolo de embriogénesis somática para tres cultivares de arroz del INIAP (INIAP 10, INIAP FL-1480 e INIAP FL-Arenillas). El desarrollo e implementación de estos protocolos, brinda la posibilidad de aplicar en estos cultivares, técnicas de mejoramiento genético asistidos por biotecnología como son: la mutagénesis inducida, la transgénesis, la mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, y la edición de genes.

Literatura Citada

- Merkle S, Parrott W y Flinn B (1995) Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. En: Thorpe, TA (Ed) In vitro Embryogenesis in Plant. pp. 155-203. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands
- Pijut PM, Lawson SS, Michler CH (2011) Biotechnological efforts for preserving and enhancing temperate hardwood tree biodiversity, health, and productivity. In Vitro Cell Dev Biol 47: 123-147
- Raveendar S, Premkumar A, Ignacimuthu S y Agastian P (2008) Effect of sea water on callus induction and regeneration of rice genotypes. Int. J. Integrative Biol. 3 (2): 92-95
- Vasil, I (1987) Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops. Journal of Plant Physiology 128: 193-218
- Villalta-Villalobos, J y Gatica-Arias, A (2019) Una mirada en el tiempo: mejoramiento genético de café mediante la aplicación de la biotecnología. Revisión bibliográfica Volumen 30(2):577-599. Mayo-agosto, 2019

Autores : Elisa Quijala, Inés Tapay, Mónica Puga, Roberto Celi, Saúl Mestanza, José Hurtado, Israel Ampuño, Edinson Mosquera, Gladys Viteri, Nathalia Parada, Carol Moncada

2019

Todos los derechos reservados sobre las imágenes de este documento, las cuales constituyen propiedad del INIAP



INIAP
1800 247600

ATENCIÓN AL CIUDADANO



EL GOBIERNO DE TODOS

Embriogénesis Somática en Cultivares de Arroz del INIAP

El INIAP introduce una nueva herramienta que amplía las posibilidades del mejoramiento genético del cultivo de arroz en Ecuador

Plegable No. 443



Embriogénesis somática de cultivares de arroz INIAP

INTRODUCCIÓN

El Programa de Arroz necesita implementar tecnologías de mejoramiento genético que amplíen las posibilidades de selección de materiales que toleren condiciones climáticas adversas, como son la salinidad y la sequía. En este sentido la biotecnología con sus diversas técnicas constituye una herramienta muy útil para lograr estos objetivos (Raveendar *et al.*, 2008). Sin embargo, es indispensable como paso previo disponer de protocolos de regeneración de plantas *in vitro*, que sean eficientes y viables hasta la adaptación de las plantas a condiciones *ex vitro*.

La embriogénesis somática (ES) es una de las técnicas de regeneración de plantas más eficientes para apoyar las técnicas de ingeniería genética. El proceso es análogo a la embriogénesis zigótica, y da origen a estructuras bipolares (embriones), que se forman a partir de una o pocas células no gaméticas y totipotentes que dan lugar a una planta completa y funcional (Merkle, 1995). Este sistema de regeneración de plantas ofrece grandes ventajas tanto para el mejoramiento genético como para la propagación masiva de plantas (Pijut y col., 2011, Villalta-Villalobos y Gatica-Arias, 2019).

Objetivo

- Desarrollar protocolos de regeneración de plantas vía embriogénesis somática a partir de semillas de los cultivares de arroz INIAP 10, INIAP FL-1480 e INIAP FL-Arenillas, como paso previo para la implementación de técnicas de mejoramiento genético asistidas por biotecnología en estos cultivares.

METODOLOGÍA

El protocolo de ES se desarrolla siguiendo un sistema de dos etapas (inducción-proliferación de callos y regeneración de plantas) establecido para el cultivo de arroz (Vasil, 1987). El proceso completo abarca un tiempo entre tres y tres meses y medio en dependencia del genotipo.

Fase de Inducción-Proliferación de Callos

Las semillas maduras sin cáscara se desinfectan con una solución de hipoclorito de sodio, se establecen *in vitro* en un medio de cultivo con auxinas y se mantienen en condiciones de oscuridad a una temperatura de $27\pm 2^\circ\text{C}$. A las cuatro semanas se forma una masa amorfa de color blanco amarillento en la región del embrión, que se conoce como callo (Fig. 1A).

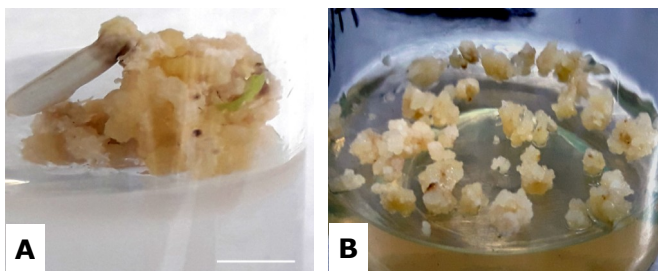


Figura 1. A) Callo formado a partir de la semilla de arroz del cv INIAP FL-1480, en medio de cultivo con auxinas (4 semanas, barra=5 mm). **B)** Callos del cv INIAP FL-Arenillas repicados y subcultivados a medio de cultivo de proliferación (4 semanas)

Después de cuatro semanas, los callos son fraccionados y subcultivados a un medio de cultivo fresco, donde permanecen durante otras cuatro semanas (Fig. 1B).

A las ocho semanas de iniciada la fase de inducción, se desarrollan sobre los callos, estructuras de color blanco opaco y amarillo cremoso (Fig. 2, flechas rojas), que fácilmente se separan unas de otras, lo que se describe como un callo embriogénico. Los callos están listos para iniciar la fase de regeneración de plantas.

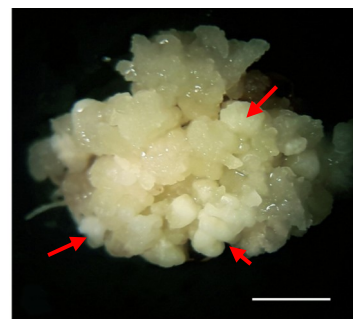


Figura 2. Callo embriogénico de arroz del cv INIAP 10, obtenido al final de la fase de inducción de callo, 8 semanas en medio de cultivo con auxinas, previo a la transferencia a medio de cultivo de regeneración de plantas (barra=5 mm).

Fase de Regeneración de Plantas

Los callos embriogénicos son disgregados cuidadosamente sobre un medio de cultivo que contiene auxinas y citoquinas, y se cultivan en condiciones de ambiente luminoso. Después de tres semanas se observan puntos verdes sobre los callos (embriones en germinación) (Fig. 3A), y en las siguientes semanas ocurre la emisión de plúmulas y raíces, hasta la formación de plantas completas (Fig. 3B); el crecimiento continua por tres semanas más hasta la formación de macollas (Fig. 3C).

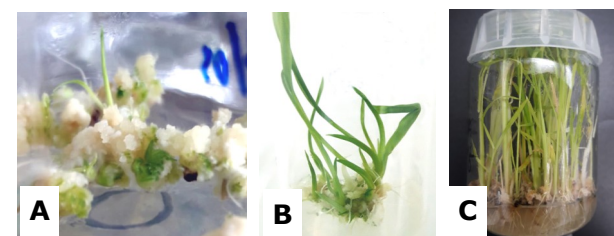


Figura 3. A) Callos embriogénicos de cv INIAP 10 en medio de cultivo de regeneración con presencia de puntos verdes (embriones somáticos germinando). **B)** formación de plantas completas cv INIAP FL-1480. **C)** formación de macollas cv INIAP FL-Arenillas.

Fase de Aclimatización de las Plantas

Después de seis semanas, las plantas con raíces son retiradas de los frascos, separadas de los callos, se cortan a una altura de 7 cm, para la transferencia *ex vitro*.

La siembra se realiza en un sustrato compuesto por suelo + turba (1:1, v/v). Las bandejas se mantienen en condiciones de piscina durante 21 días



Figura 4. Plantas de arroz cv INIAP 10 regeneradas vía embriogénesis somática durante la fase de aclimatización (4 semanas)