RADIOSENSIBILIDAD *In Vitro* DE LA VARIEDAD DE ARROZ AMISTAD–82

María C. González, E. Padrón, Lourdes Iglesias y Nancy Santana

ABSTRACT. Rice calluses and seeds were irradiated at a dosage of 10, 50, 100, 200, 300 Gy and 100, 200, 300, 400, 500 Gy, respectively, with the objective of determining the feasible gamma radiation ranges to be used in breeding studies with Amistad–82 variety. They were further cultivated *in vitro*, evaluating the percentage of callus formation and plant regeneration for seeds, whereas of necrotized calluses and plant regeneration for calluses. Results indicated that doses between 10 and 50 Gy can be used for calluses, meanwhile from 100 to 300 Gy for seeds.

Key words: Rice, *Oryza sativa*, radiation sensitivity, *in vitro* culture

RESUMEN: Con el objetivo de determinar los rangos de radiaciones gamma factibles a utilizar en los trabajos de mejoramiento genético de la variedad de arroz Amistad-82, se irradiaron callos y semillas con dosis de 10, 50, 100, 200 y 300 Gy, y de 100, 200, 300, 400 y 500 Gy respectivamente. Posteriormente se cultivaron *in vitro*, evaluándose el por ciento de formación de callos y la regeneración de plantas en el caso de las semillas, y el por ciento de callos necrosados y la regeneración de plantas en los callos. Los resultados indicaron que en el caso de los callos pueden ser utilizadas dosis entre 10 y 50 Gy, y en las semillas entre 100 y 300 Gy.

Palabras claves: Arroz, *Oryza sativa*, radiosensibilidad, cultivo *in vitro*

INTRODUCCION

En los trabajos de mejoramiento genético cobra fuerza el uso de la inducción de mutaciones, como vía para generar variabilidad genética. Asimismo, el uso de las técnicas de cultivos de células y tejidos combinado con la inducción de mutaciones resultan atrayentes para facilitar los trabajos de selección, ya que se pueden manipular grandes poblaciones de células haploides y diploides en espacios reducidos (Constantín, 1984 y Maliga, 1984).

Un gran número de investigadores han explicado la utilización de la mutagénesis *in vitro* en diferentes cultivos. Entre ellos podemos citar los trabajos desarrollados por Novak *et al.* (1986) en plátano; Gao, Llang y Cheng (1986, 1988 y 1991) en cebada, y Yin (1986) y Kuo (1986) en arroz.

Es por ello que con el objetivo de desarrollar trabajos de mutagénesis *in vitro* en la variedad de arroz Amistad–82, se hizo necesario en primer lugar determinar la radiosensibilidad *in vitro* de dicha variedad.

MATERIALES Y METODOS

Se irradiaron semillas y callos de la variedad de arroz Amistad–82, utilizando un equipo MPX Gamma–25–M de ^{60}Co y una potencia de dosis global media de 1 119 Gy/minuto.

María C. González, Investigador Agregado; Dra. Lourdes Iglesias, Investigador Titular y Nancy Santana, Investigador Agregado del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal No. 1, San José de las Lajas, La Habana; E. Padrón, Investigador Titular del Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo de la Energía Nuclear (CEADEN), 5ta Avenida y 30, Miramar, Ciudad Habana, Cuba.

Semillas. Se irradiaron con dosis de 110, 200, 300, 400 y 500 Gy y tanto estas como el control no irradiado se desinfectaron según el método propuesto por María C. González, Nancy Santana y Lourdes Iglesias (1988); posteriormente se sembraron en un medio que contenía las sales minerales de Murashige y Skoog (1962), 2 mg/L de 2,4–D, 2 mg/L de BAP, 30 g/L de sacarosa y 5 g/L de agar técnico número 3.

Tanto la siembra como la desinfección se realizaron en condiciones de asepsia bajo cámara de flujo laminar.

Se utilizaron 50 semillas por cada dosis así como del control no irradiado. Después de sembradas se mantuvieron en ausencia de luz y a una temperatura de 27 gC durante 30 días, al cabo de los cuales se evaluó el número de callos formados y se transfirieron a un medio de regeneración que contenía 4 mg/L de Kinetina y 2 mg/L de AIA, así como a un fotoperíodo de 16 horas luz para evaluar la regeneración de plantas.

Callos. Se irradiaron callos de 21 días de incubación con dosis de 10, 50, 100, 200 y 300 Gy, utilizando 50 callos por cada tratamiento así como del control. Después de irradiados se transfirieron a un medio de regeneración similar al utilizado en las semillas, para evaluar el número de callos necrosados y la regeneración de plantas.

Se determinaron los porcentajes en cada caso y las curvas dosis–efecto.

RESULTADOS Y DISCUSION

Semillas. Se observó un decremento en la formación de callos con el incremento de las dosis a partir de los 100 Gy, acentuándose desde los 200 Gy (Fig. 1); se notó que con 500 Gy ocurre la total mortalidad del embrión y, por consiguiente, no se produce la formación de

callos, encontrándose la LD 50 entre los 200 y 300 Gy. Estos resultados coinciden con los de María C. González, Nancy Santana y Lourdes Iglesias (1988) en estudios realizados con esta variedad *in vivo*, por lo que al parecer las condiciones de cultivo *in vitro* o *in vivo* no influyen en la respuesta de dicha variedad a las diferentes dosis de irradiación.

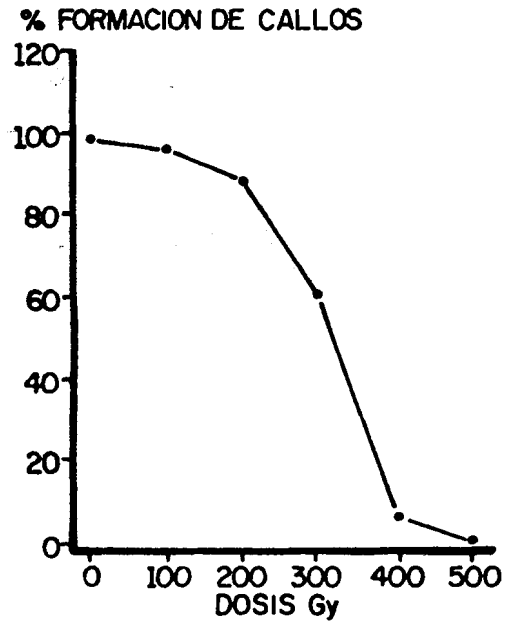

Figura 1. Formación de callos en diferentes dosis

En cuanto a la regeneración de plantas (Fig. 2), se observó una reducción en la formación de estas en la medida en que se incrementaron las dosis, siendo nula a partir de 400 Gy.

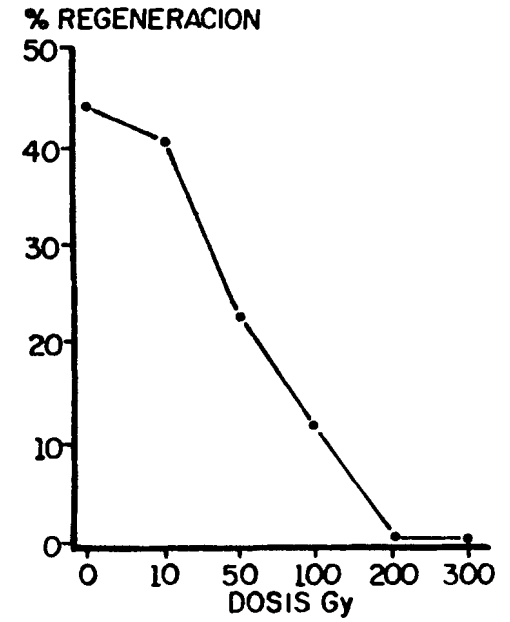

Figura 2. Regeneración de plantas de callos de semillas irradiadas

Se mostró mayor sensibilidad para la regeneración de plantas que para la multiplicación celular que ocurre en la callogénesis, por lo que debe tenerse en cuenta la evaluación de este parámetro, dada la importancia que tiene para el mejorador que el tejido conserve determinada totipotencia y poder garantizar de esta manera la formación de plantas completas sobre las que se pueda realizar el trabajo de selección.

Diversos autores han planteado que existen verdaderos ejemplos *in vitro* que muestran que a mayor dosis de radiación es menor la supervivencia y el número de brotes, y mayor la frecuencia de mutaciones (Tulmann, Méndez y Ando, 1988).

Callos. En los callos irradiados los resultados mostraron que el necrosamiento y la muerte de los mismos se incrementó con el aumento de la dosis de radiación (Fig. 3), siendo notable a partir de 50 Gy; en dosis de 200 y 300 Gy toda la masa callógena se necrosa y muere, y se encontró la LD entre los 50 y 100 Gy.

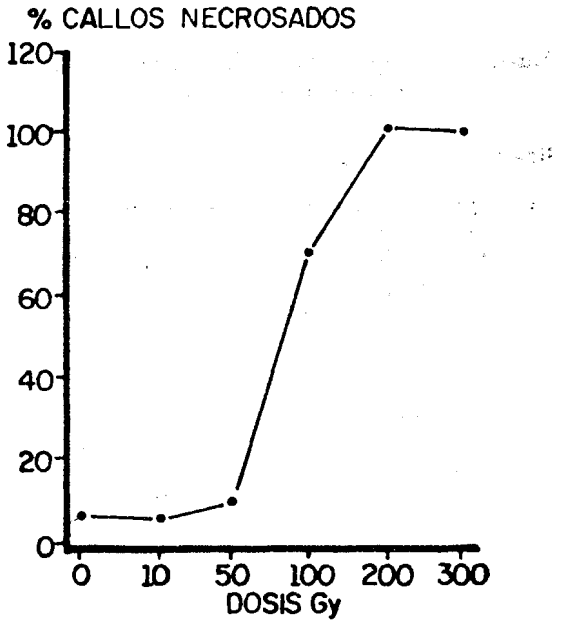

Figura 3. Callos necrosados en las diferentes dosis

No obstante, debe destacarse que a pesar de que los callos en dosis altas mueren, algunos de ellos fueron capaces de emitir raíces antes de su necrosamiento, lo que pudo deberse a que la rizogénesis estuviera inducida antes de la irradiación, pues la combinación hormonal utilizada posibilita la diferenciación en el propio medio de formación de callos cuando las condiciones de luminosidad están creadas.

La regeneración de plantas (Fig. 4), al igual que en el caso de las semillas, fue la más afectada, ya que se observó un decremento considerable a partir de los 10 Gy y se encontró la LD 50 alrededor de los 50 Gy.

Se recomienda que sería conveniente estudiar rangos de dosis más estrechos, tomando como límite los resultados obtenidos en el presente estudio, así como la variabilidad de los regenerantes para determinar la frecuencia de mutaciones en cada caso.

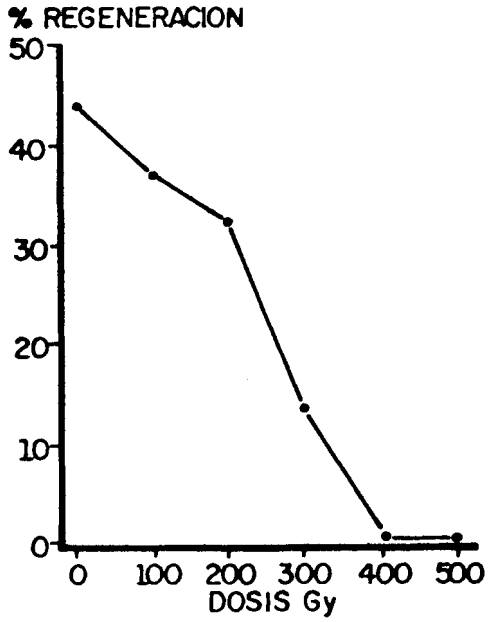

Figura 4. Regeneración de plantas de callos de semillas irradiadas

BIBLIOGRAFIA

Constantín, M.J. Potential of In Vitro Mutation Breeding for The Improvement of Vegetatively Propagated Crop Plants. / M.J. Constantín.- En: International Atomic Energy.- Viena, IAEA, 1984.- p. 59-77.

Gao, M.W., Z.Q. Liang y Z.Y. Cheng. Studies on Response of Wheat Inmature Embryo Culture to Gamma Ray Radiation. Genetic Manipulation in Crop. Newsletter (Nashville)2(1):19-26, 1986.

Gao, M.W., Z.Q. Liang y Z.Y. Cheng. Effects of Gamma Radiation on Inmature Wheat Embryo Culture. / M.W. Gao, Z.Q. Liang y Z.Y. Cheng.- En: Semi Dwarf Cereal Mutants and Their Use in Cross Breeding. II IAEA TECDOC 4555.- Viena : IAEA, 1988.- p. 177-182.

Gao, M.W. Effects of *In Vitro* Mutagenesis on The Frequency of Somaclonal Variation in Wheat. / M.W. Gao, Z.Y. Cheng y Z.Q. Liang.- En: Proceedings of the Second FAO/OIEA Meeting. Use of Induced Mutation in Connection With Haploids and Heterosis in Cereals. 19(1), 1981.- p. 77-90.

González, María C., Nancy Santana y Lourdes Iglesias. Desinfección de semillas de arroz para siembras *in vitro*. Cultivos Tropicales (La Habana)10(2):82-84, 1988.

Kuo, D. Induction of Useful Mutations by Gamma Irradiation of Anther Culture in Rice. Mutation Breeding Newsletter (Viena)27(6), 1986.

Maliga, P. Cell Culture Procedures For Mutant Selection and Characterization in *Nicotiana plumbaginifolia* / P. Maliga.- En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. New York Academic Press, 1984. 562 p.

Micropropagation and Radiation Sensitivity in Shoot Tip Cultures of Banana and Plantain / F.J. Novak. En: Nuclear Techniques and *In Vitro* Culture For Crop Improvement. Viena: IAEA,1986.- p. 167-174.

Murashige, T. y F. Skoog. A Revised Medium For Rapid Growth and Bioassays With Tobacco Tissue Culture. Physiol. Plantarum (Copenhagen)15:473-479, 1962.

Tulman, N. Inducción y uso de mutaciones *in vitro* en el mejoramiento de plantas. / N. Tulman, B. M. J. Méndez y A. Ando.- En: Conferencia impartida en el curso de Mejoramiento de Arroz por Mutaciones, 1988. 48 p.

Yin, D.R. A New Rice Strain Obtained From Irradiated Anther Culture. Mutation Breeding Newsletter (Viena)27(6), 1986.

Recibido: 22 de mayo de 1992
Aceptado: 5 de junio de 1992

CONSULTORIAS DE POSGRADO
DE FISIOLOGIA Y BIOQUIMICA VEGETAL

La formación adquirida por los especialistas durante estos 20 años, permite ofrecer *Consultorías Internacionales* en las temáticas siguientes:

- **Crecimiento y desarrollo de las plantas**
- **Maduración de frutos**
- **Control hormonal del crecimiento**
- **Relaciones hídricas de las plantas**
- **Fisiología y bioquímica de las plantas sometidas a estrés abiótico**
- **Estudios anatómicos en función de procesos fisiológicos**

Las solicitudes deben dirigirse a:
Dra. Miriam Núñez Vázquez
J' Dpto. Fisiología y Bioquímica Vegetal
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Gaveta Postal No. 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba
Fax (537) 333295
Teléfonos: (64) 6-3721, 6-3773 y 6-3867