MEJORAMIENTO GENÉTICO MEDIANTE EL CULTIVO InVitro DE ANTERAS DE HÍBRIDOS DE ARROZ

Noralda Pérez, C. Ismaíl y María C. González

ABSTRACT. The effectiveness of *in vitro* rice hybrid anther culture was evaluated in this paper, determining callus formation, green and albino plant regeneration as well as a field performance of a group of rice lines derived through this via, as shown in agronomically important characters such as yield, panicle per square meter, full grains per panicle, 100-grain weight, final height, panicle length, and grain length and width. Results proved a high response to F_1- derived anther culture and a phenotypical variability in the tested material.

Key words: *in vitro* culture, anther culture, rice, *Oryza sativa*, breeding, F_1 hybrid

RESUMEN. Se evaluó la efectividad del cultivo *in vitro* de anteras de híbridos de arroz, determinándose la formación de callos y regeneración de plantas verdes y albinas, así como el comportamiento en campos de un grupo de líneas, obtenidas por esta vía, reflejado en caracteres de importancia agronómica tales como rendimientos, panículas por metro cuadrado, granos llenos por panícula, peso de 100 granos, altura final, longitud de la panícula, y largo y ancho del grano. Los resultados mostraron una elevada respuesta al cultivo de anteras procedentes de híbridos F_1, así como la existencia de variabilidad fenotípica en el material evaluado.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, cultivo de anteras, arroz, *Oryza sativa*, mejoramiento, híbrido F_1

INTRODUCCIÓN

En diversas especies de cultivo, existen hoy en día sistemas haploides dobles, que presentan la característica genética única de permitir la creación de líneas enteramente homocigóticas a partir de progenitores heterocigóticos en una sola generación. En las especies autógamas, esta propiedad puede utilizarse para incrementar la eficiencia de la producción de variedades, ya que en primer lugar, se puede ahorrar tiempo en la preparación del material seleccionado para la comercialización y, en segundo, se produce un aumento en la eficiencia de la selección en comparación con las prácticas convencionales, por la ausencia de variación en las características dominantes y de segregación dentro de una misma familia, y la reducción de los efectos causados por la variación ambiental gracias a las mayores posibilidades de repetición (Snape, 1989).

Durante la última década y teniendo como precedente los resultados obtenidos por Niizeki y Oono (1968), la técnica de cultivo de anteras en arroz ha sido utilizada de forma progresiva, como una alternativa para el método convencional de mejoramiento por pedegree (Guiderdoni, Courtois y Glaszmann, 1989).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la factibilidad de utilización de esta técnica en el proceso de obtención de nuevas variedades, teniendo en cuenta la efectividad del método y la creación de variabilidad.

Noralda Pérez y C. Ismail, Investigadores Auxiliares de la Estación Experimental de Arroz "Los Palacios"; Dra. María C. González, Investigador Auxiliar del Departamento de Genetica y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal No.1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Anteras de híbridos F_1 procedentes de cruzamientos realizados entre las variedades Amistad'82, IR 759-54-2-2 y 2077 en la Estación Experimental del Arroz "Los Palacios", perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, se cultivaron *in vitro*, después de ser sometidas a un *shock* de temperatura de 10°C durante ocho días en un medio N_{6-1} (Li Mei Fang, 1988; citada por Ana V. Pérez, 1990, comunicación personal).

Para la desinfección y siembra se siguió la metodología empleada en el CIAT (1988) y los cultivos se mantuvieron en ausencia de luz con una temperatura de 26±1°C durante 30 días, al cabo de los cuales se evaluó la formación de callos. Al mismo tiempo, aquellos que presentaron aproximadamente un milímetro de diámetro se transfirieron a un medio de regeneración que contenía las sales de Murashige y Skoog, 1 $mg.L^{-1}$ de ANA, 4 $mg.L^{-1}$ de Kinetina y 2 $mg.L^{-1}$ de AIA. Se evaluó el porcentaje de regeneración de plantas y estas fueron transferidas a condiciones semicontroladas.

Posteriormente se tomaron 34 líneas provenientes del cruce Amistad'82/2077, que se sembraron en campo en parcelas de 6 m^2 y se les evaluó el rendimiento agrícola en $t.ha^{-1}$ (RA), las panículas por metro cuadrado (PM), los granos llenos por panícula (GLL), el peso de 100 granos (PG), la altura final (A), la longitud de la panícula (LP), y el largo (LG) y ancho del grano (AG). Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de componentes principales a partir de una matriz de correlaciones fenotípicas entre las variables analizadas (Gladys Linares, 1990).

Se presenta además la media del comportamiento en estudios regionales de ocho líneas avanzadas obtenidas por esta vía de mejoramiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se aprecia una elevada respuesta al cultivo de anteras con la utilización de híbridos F_1, reflejado en el alto porcentaje de callos obtenidos y plantas regeneradas.

Tabla I. Formación de callos y regeneración de plantas

Cruces utilizados	Anteras sembradas	Callos	Plantas verdes (por 100 anteras)	Plantas albinas (por 100 anteras)
Amistad' 82/2077'	1 050	33.8	24.1	21.9
Amistad' 82/IR 759-54-2-2 2077/	750	28.9	19.3	11.3
Amistad'82	2 120	21.7	15.6	10.5

Resultados similares fueron obtenidos por Chen (1983): 31.2 plantas verdes por 100 anteras sembradas y por Quimio y Zapata (1990), quienes obtuvieron 61.8 plantas verdes por 100 callos y 28.3 callos por 100 anteras.

Se evidenció así mismo la presencia de albinismo. Numerosos estudios sobre el mecanismo de formación de plantas albinas han sido realizados, coincidiendo algunos en plantear (Nilzeki, 1983) que su producción es debido a factores fisiológicos que pudieran ser solucionados mejorando las condiciones de cultivo del material donante.

Es interesante destacar, además, que existió una respuesta diferenciada del material híbrido con la utilización de la técnica del cultivo de anteras, siendo el cruce Amistad'82/2077 el de mejor comportamiento. Son muchos los factores que pueden afectar la eficiencia de la formación de callos y regeneración de plantas tales como el genotipo, las condiciones físicas de crecimiento de la planta donante, el estado de desarrollo del grano de polen, la composición del medio y las condiciones de cultivo (temperatura, luz, tratamientos físicos o químicos antes o durante el proceso) (Szarejko y Kasha, 1991).

Al evaluar las plantas en condiciones de campo, se puso de manifiesto un alto grado de homocigosis dentro de cada línea, lo que mostró la rápida fijación de los caracteres que se alcanza al utilizar la técnica del cultivo de anteras.

El análisis de componentes principales realizado a las líneas provenientes del cruce Amistad'82/2077, permitió confirmar la gran diversidad fenotípica existente en el material, observándose que las cinco componentes estudiadas recogen sólo el 82.8 % de la variación total (Tabla II). Los caracteres de mayor contribución a la primera componente fueron los granos llenos por panícula y el largo de la panícula; a la segunda, el peso de 100 granos y el largo y ancho del grano, y a la tercera el rendimiento, las panículas por metro cuadrado y la altura final.

Tabla II. Matriz de valores y vectores propios

	Componentes principales				
	C1	C2	C3	C4	C5
Valores propios	1.9929	1.6312	1.3687	0.8657	0.7647
%contribución total	24.9	20.4	17.1	10.8	9.6
% acumulado		45.3	62.4	73.2	82.8
Rendimiento (RA)	-0.0970	-0.1878	**0.6277**	0.0631	0.5256
Panícula/m^2 (PM)	-0.2488	-0.2484	**0.4727**	0.3768	-0.5810
Granos llenos (GLL)	**0.6112**	0.0514	0.1175	0.1726	0.0958
P 100 granos (PG)	-0.3579	**0.4473**	0.3144	0.2094	0.1325
Altura (A)	0.3442	0.1789	**0.4272**	-0.4197	0.1384
Longitud panícula (LP)	**0.4868**	0.3271	0.1817	0.2320	-0.4234
Largo grano (LG)	-0.0778	**0.5540**	-0.1977	0.5015	0.2740
Ancho grano (AG)	-0.2558	**0.5044**	0.1236	-0.5467	-0.2932

Para la distribución de los individuos se tomaron la primera y tercera componentes, en las que los caracteres de mayor importancia, como el rendimiento, las panículas por metro cuadrado, los granos llenos por panícula, la altura y la longitud de la panícula, tienen más fuerte contribución, mostrándose una amplia dispersión de los individuos (Figura 1), teniendo en cuenta dichos caracteres, lo que reafirma la variabilidad generada en este material con las técnicas de mejoramiento empleadas.

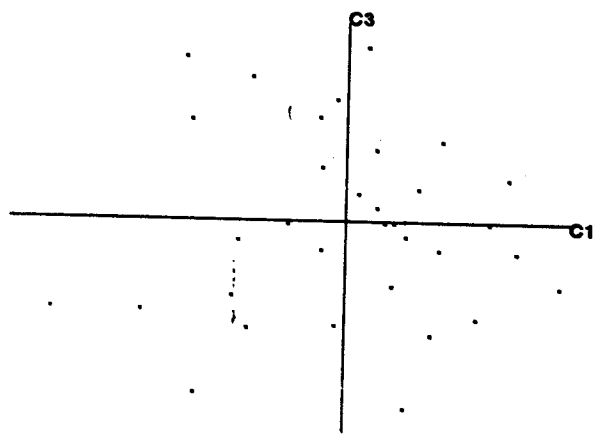

Figura 1. Distribución de los individuos según los componentes considerados

La asociación de los caracteres evaluados se presenta en la Tabla III; en ella se aprecia correlación entre el rendimiento y las panículas por metro cuadrado, lo cual coincide con lo obtenido por María C. González *et al.* (1991), en un estudio con somaclones de arroz regenerados por cultivo *in vitro* en diferentes condiciones salinas, quienes observaron una alta correlación entre el rendimiento y el número de panículas por plantas.

Tabla III. Matriz de correlaciones fenotípicas de las variables activas

	RA	PM	GLL	PG	A	LP	LG	AG
RA	1.00							
PM	0.44	1.00						
GLL	0.03	-0.24	1.00					
PG	0.27	0.20	-0.30	1.00				
A	0.24	-0.01	0.40	0.00	1.00			
LP	-0.08	-0.11	0.67	0.01	0.41	1.00		
LG	-0.28	-0.22	-0.05	0.37	-0.06	0.15	1.00	
AG	-0.04	-0.06	-0.20	0.50	0.12	0.03	0.23	1.00

Aparecen correlacionados también el peso de 100 granos y el largo y ancho de los mismos, y los granos llenos por panícula con la longitud de esta.

La utilización de esta técnica de mejoramiento ha aportado nuevos genotipos, que han sido incluidos en los estudios de rendimiento; la Tabla IV muestra la media del comportamiento de ocho de estas líneas.

Los estudios regionales constituyen la fase superior a la cual arriban con posibilidad de ser propuestas para extensión agrícola en la producción arrocera nacional.

Tabla IV. Comportamiento agronómico e industrial de algunas líneas obtenidas

Nombre	Rendimiento agrícola		Granos enteros (%)		*Resistencia			
	Seca	Lluvia	Seca	Lluvia	A	D	P	S
			Regional fase I					
8437	6.6	6.1	51.0	55.1	R	I	MR	
8394	6.8	7.0	51.4	53.5	R	R	MR	
			Regional fase II					
8388	7.3	5.8	54.4	54.8	R	R	R	R
8391	7.2	5.9	48.8	53.0	R	R	MR	R
8406	7.0	5.7	49.4	54.2	R	R	R	R
8413	7.3	6.0	48.7	52.0	R	I	R	I
8425	7.1	5.7	55.5	55.9	R	R	MR	R
8432	6.9	6.0	54.0	54.2	R	R	MR	I
Perla (T)	7.0	5.8	51.0	52.0	R	R	MR	R

* A-Acame D-Desgrane P-Piricularlosis S-Sogatodes
R-Resistente MR- Moderadamente resistente I-Intermedia

En la tabla se aprecia un comportamiento destacado de las líneas de nueva introducción con respecto al testigo de producción (Perla) en cuanto al rendimiento tanto agrícola como industrial, así como aportan nuevas fuentes de resistencia genética frente a la Piricularlosis, enfermedad que más daños causa al cultivo del arroz en Cuba y en particular en nuestra provincia, y al ataque del insecto *Sogatodes oryzicola*.

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que es factible la utilización del cultivo *in vitro* de anteras de híbridos de arroz, como una técnica de mejoramiento genético que nos permite la creación de variabilidad y a partir de aquí la obtención de nuevas variedades.

BIBLIOGRAFÍA

Chen, Y. Anther and Pollen Culture of Rice in China. Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. /Y. Chen.- Beijing : Science Press, 1983.- 26 p.

CIAT. Guía práctica para el cultivo de anteras de arroz. Programa para el desarrollo de capacidad científica en investigaciones para la producción de arroz, 1988.

González, María C. /et al/. Análisis de la variabilidad originada por el cultivo in vitro de semillas de arroz de la variedad Amistad'82 en condiciones salinas. Cultivos Tropicales (La Habana) 12(3):83-85, 1991.

Guiderdoni, E. Use of Isozyme Markers to Monitor Recombination and Assess Gametic Selection among Anther Culture Derivatives of Remote Crosses of Rice (Oriza sativa L.). /E. Guiderdoni, B. Courtois, J. C. Glaaszmann. Editors: C. México : CIMMYT, 1989.

Linares, Gladys. Análisis de datos./Gladys Linares.-La Habana: Universidad de la Habana, 1990. 590 p.

Niizeki, H. y L. Oono. Induction of Haploid Rice Plant from Anther Culture. Proc. Japan Acad. (Tokio)44: 554-557, 1968.

Niizeki, H. Uses and Application of Anther and Pollen Culture in Rice. Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal and Crop Improvement./H. Niizeki.-Beijing: Science Press, 1983.-171 p.

Quimio, C. A. y F. J. Zapata. Diallel Analysis of Callus Induction and Green Plant Regeneration in Rice Anther Culture. Crop Science (Madison)30:188-192, 1990.

Snape, J. W. Doubled Haploid Breeding:Theoretical Basis and Practical Applications:Review./J. W. Snape.- C. México:CIMMYT, 1989.

Szarejko, I y K. J. Kasha. Introduction of Anther Culture Derived Doubled Haploids in Barley. Ceral Research Communication 19(1-2):219-237, 1991.

Recibido: 21 de octubre de 1994
Aceptado: 25 de enero de 1995