

# Comunicación corta

## EFECTOS DE DIFERENTES REGULADORES DE CRECIMIENTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO *IN VITRO* DE LA VARIEDAD DE ARROZ AMISTAD-82

María C. González

**ABSTRACT.** This experiment was carried out to evaluate rice callus formation and plant regeneration of Amistad-82 variety cultivated in different culture media. The best result was obtained with 2 mg.L<sup>-1</sup> 2,4D and 2 mg.L<sup>-1</sup> BAP.

*Key words:* rice, growth regulators, *in vitro* culture

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto de diferentes medios de cultivos sobre la formación de callos y regeneración de plantas en la variedad de arroz Amistad-82 determinándose que la mejor respuesta se obtuvo al emplear el medio que contenía 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D y 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.

*Palabras clave:* arroz, reguladores del crecimiento, cultivo *in vitro*

### INTRODUCCIÓN

Es ampliamente reconocido por muchos autores el papel determinante que juegan los reguladores del crecimiento sobre la respuesta *in vitro* de diferentes tipos de explantes (Karim y Zapata, 1993; Yoshida, 1996), así como la influencia del genotipo y las condiciones de incubación, por lo que se hace necesario determinar el medio de cultivo adecuado para cada variedad y tipo de explante.

Teniendo en cuenta estos aspectos el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto de diferentes combinaciones de 2,4-D y BAP sobre el comportamiento *in vitro* de la variedad de arroz Amistad-82, a fin de seleccionar el medio más adecuado para su empleo en el programa de mejoramiento genético, encaminado a la obtención de nuevos genotipos de arroz tolerantes a la salinidad mediante la explotación de la variación somaclonal y la selección *in vitro*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de la variedad de arroz Amistad-82 fueron desinfectadas según la metodología propuesta por González, Santana e Iglesias (1988) y sembradas en medios de cultivo que contenían las sales minerales de Murashige y Skoog (1962), y concentraciones de 2,4-D y BAP entre 1 mg.L<sup>-1</sup> y 3 mg.L<sup>-1</sup> (Tabla I).

Se sembraron 40 semillas por cada tratamiento, los cuales se mantuvieron en ausencia de luz y a una temperatura de 27±2°C durante 30 días, al cabo de los cuales se evaluó el porcentaje de callos formados y su peso fresco (mg). Los callos obtenidos fueron transferidos a un medio de cultivo que contenía 4 mg.L<sup>-1</sup> de Kinetina y 2 mg.L<sup>-1</sup> de AIA; entre los 30 y 60 días se determinó el porcentaje de callos con brotes y el número de brotes por callo.

Para determinar el efecto de los diferentes medios sobre los caracteres evaluados, se realizó un análisis de proporciones en el caso del porcentaje de formación de callos y el porcentaje de callos con brotes, así como un análisis de varianza simple en las evaluaciones de la masa fresca de los callos y al número de callos con brotes. Se utilizó el método de I-Distancia para determinar la respuesta de dicho genotipo a las diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento empleadas, teniendo en cuenta todos los caracteres evaluados y considerando como testigo una variante ideal de mal comportamiento.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al valorar el comportamiento de la variedad en estudio, se constató que esta responde de forma diferenciada a las distintas concentraciones de 2,4-D y BAP examinadas. En la fase de formación de callos, las diferencias más notables se presentaron cuando no se incluía el 2,4-D en el medio de cultivo, ya que no ocurría formación de callos, lo que sugiere la importancia de esta auxina en la callogénesis.

El porcentaje de callos con brotes así como el número de brotes por callo mostraron diferencias entre los distintos tratamientos, siendo estos dos caracteres los que mostraron la mayor respuesta a los diferentes medios de cultivo empleados.

Dra. María C. González, Investigador Titular del departamento de Genética y Mejoramiento, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

Por otra parte, se observó que la masa fresca de los callos no presentó diferencias significativas entre los tratamientos empleados ni tampoco una relación directa con el porcentaje de callos con brotes ni con el número de brotes por callo (Tabla I), lo que pone de manifiesto que la totipotencia celular no depende del número y tamaño de las células sino del tipo de células presentes en el callo. Narasimman *et al.* (1994) y Mandal y Gupta (1995) han señalado el efecto significativo del genotipo y el medio basal sobre la capacidad de regeneración de plantas verdes de los callos de arroz. Estos resultados ponen de manifiesto que la masa fresca de los callos no es un carácter que se debe tener en cuenta para la selección del medio de cultivo.

**Tabla I. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y BAP sobre los caracteres evaluados**

No.	Medios de cultivo		Formación de callos (%)	Masa fresca de los callos	Callos con brotes (%)	No. brotes por callo
	2,4-D	BAP				
1	1	-	100 a	0.09	5.0 e	1.0 e
2	2	-	100 a	0.314	11.0 de	1.0 e
3	3	-	100 a	0.124	5.0 e	1.0 e
4	1	1	70 b	0.175	36.1 bc	4.5 d
5	1	2	100 a	0.125	12.0 de	9.0 e
6	1	3	100 a	0.139	41.0 ab	13.4 b
7	2	1	100 a	0.210	5.0 e	1.0 e
8	2	2	100 a	0.114	56.3 a	23.6 a
9	2	3	80 ab	0.291	21.5 cd	13.5 b
10	3	1	100 a	0.303	5.0 e	2.1 c
11	3	2	100 a	0.206	5.0 e	1.0 e
12	3	3	70 b	0.106	14.8 de	9.5 c
13	0	1	0 c	-	-	-
14	0	2	0 c	-	-	-
15	0	3	0 c	-	-	-
ES x			34.1***	NS	9.08***	0.76***

Letras iguales en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de rangos múltiples de Duncan para  $p < 0.05$

Debe destacarse que en algunas combinaciones hormonales (6, 8 y 9), comenzaron a formarse los brotes en el propio medio de formación de callos, al ser estos transferidos a condiciones de iluminación, lo que puede ser debido al agotamiento del 2,4-D en el medio así como a la interacción del BAP presente en el medio de formación de callos, con los contenidos de hormonas endógenas presentes en las semillas.

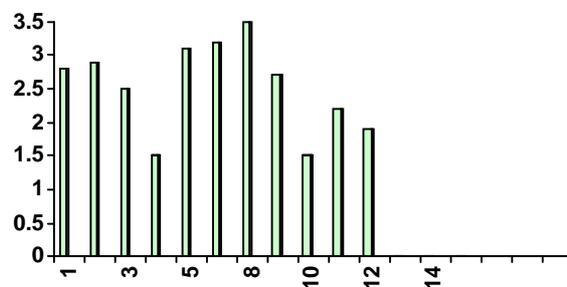
Las combinaciones que presentaron mayores contenidos de 2,4-D que de BAP no mostraron un adecuado comportamiento en cuanto a la regeneración de plantas, siendo las combinaciones -2, 4, 5, 6, 8, 9 y 12-, que presentaron contenidos similares o mayores de BAP, las de mejor comportamiento en la regeneración de plantas, lo que corrobora la importancia del balance auxina-citoquinina en el medio de formación de callos.

Algunos autores han observado la generación de mayores cantidades de etileno en células que crecen en presencia de 2,4-D y a su vez la reducción de la biosíntesis de poliaminas causada por el incremento de etileno, lo que puede estar relacionado con las afectaciones en la morfogénesis (Bajaj, 1995).

Dikes y Nabors (1986) han resaltado los efectos positivos que producen la interacción del 2,4-D con la Kinetina o el BAP, tanto en la formación de callos como en su crecimiento y la posterior regeneración de plantas así como el papel pre-

ponderante del 2,4-D no solo en la formación de callos sino en sus características; sin embargo, Metzally *et al.* (1998) en trabajos desarrollados en *Cucurbita pepo*, encontraron los mayores porcentajes de formación de callos embriogénicos con la adición al medio de 2,4-D al medio de cultivo.

Al valorar todos los caracteres en su conjunto (Figura 1), se constató que el mejor tratamiento fue el que contenía 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D y 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, al presentar una mayor distancia a la peor variante.



**Figura 1. Distancia a la peor variante**

Esta variante se corresponde con la de mayor capacidad regenerativa, aspecto esencial en los programas de mejoramiento genético donde se empleen agentes estresantes en los medios de cultivo, los cuales reducen notablemente la capacidad regenerativa de los callos.

Este medio ha sido validado con resultados satisfactorios en trabajos desarrollados con otras variedades de arroz como la Perla de Cuba, IAC-25 y J-104 (Labrada, 1999).

## REFERENCIAS

- Bajaj, Y. P. S. Somatic embryogenesis and its applications for crop improvement. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 1995, vol. 30, p. 105-125.
- Dikes, T. A. y Nabors, M. W. Tissue culture in rice and its applications in selecting for stress tolerant. 1986, p. 749-810.
- González, M. C., Santana, N. e Iglesias, L. Desinfección de semillas de arroz para siembras *in vitro*. *Cultivos Tropicales*, 1988, vol. 10, no. 2, p. 82-84.
- Karim, N. H. y Zapata, F. F. Physico-chemical changes and plant regeneration in anther derived calli of rice by abscisic acid treatment. *Plant Tissue Culture*, 1993, vol. 3, no. 1, p. 11-15.
- Labrada, M. Selección *in vitro* en condiciones salinas de líneas de arroz obtenidas a través del uso combinado de técnicas biotecnológicas y nucleares. [Tesis de Maestría], 1999.
- Mandal, N. y Gupta, S. Effect of genotype and culture medium on androgenic callus formation and green plant regeneration in indica rice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1995, vol. 33, p. 761-765.
- Metzally, El, *et al.* Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, vol. 52, p. 171-176.
- Murashige, T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*. 1962, vol. 15, p. 473-497.
- Narasimman, R., *et al.* Morphogenesis in rice: factors influencing anther culturability of indica-japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Oryza*, 1994, vol. 31, p. 93-95.
- Yoshida, T. *In vitro* propagation of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) 1. Tissue-culture shoot primordia. *JARQ*, 1996, vol. 30, no. 1.

Recibido: 3 de noviembre de 1998

Aceptado: 22 de octubre de 1999