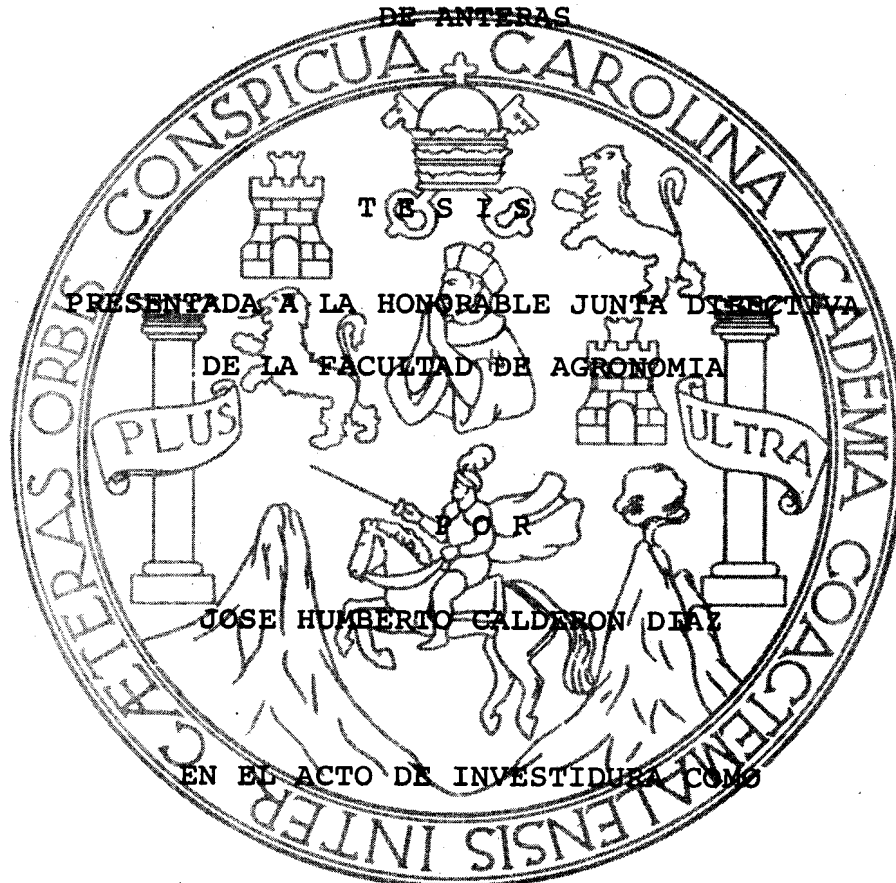


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACION DE LA RESPUESTA DE CINCO VARIETADES DE TRIGO  
(*Triticum aestivum* L.) A LA INDUCCION DE CALLO Y REGENERACION  
DE PLANTAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO A PARTIR DEL CULTIVO  
DE ANTERAS



INGENIERO AGRONOMO EN SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

Guatemala, octubre de 1990

DL  
01  
T(1140)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

DR. ALFONSO FUENTES SORIA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	:	Ing. Agr. Aníbal B. Martínez M.
VOCAL PRIMERO	:	Ing. Agr. Gustavo A. Méndez
VOCAL SEGUNDO	:	Ing. Agr. Efraín Medina G.
VOCAL TERCERO	:	Ing. Agr. Wotzbelí Méndez Estrada
VOCAL CUARTO	:	P.Agr. Hernán Perla González
VOCAL QUINTO	:	P.Agr. Marco Tulio Santos
SECRETARIO	:	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio

Guatemala, 8 de octubre de 1980

Señores  
Miembros Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores:

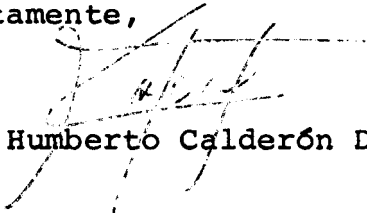
En cumplimiento con las Normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, some to a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

"EVALUACION DE LA RESPUESTA DE CINCO VARIEDADES DE TRIGO - (Triticum aestivum L.) A LA INDUCCION DE CALLO Y REGENERACION DE PLANTAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO A PARTIR DE CULTIVO DE ANTERAS",

como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Esperando que el mismo merezca vuestra aprobación.

Atentamente,



José Humberto Calderón Díaz

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Ser Omnipotente que me ha permitido alcanzar  
mis metas e ideales

A MIS PADRES

Celestino Calderón Menjivar  
Filomena Díaz de Calderón  
Por sus sabios consejos.

A MIS HERMANOS

Zoila, Lilián, Noemí, Arnoldo, Rafael, Juan y  
Claudia  
Cariño fraternal

A MI ESPOSA

Norma Leticia Zeledón M. de Calderón  
Por su amor sincero y comprensión que siempre  
me ha dado.

A MI ABUELA

Rafaela Martínez  
Por su vivo ejemplo

A MIS SUEGROS

Gilberto Zeledón Cardona  
Ricarda Monroy de Zeledón  
Por sus bondades y ayuda moral

A MIS TIOS Y TIAS, en especial a:

Servando, y  
Magdaleno

A MIS FAMILIARES, en general

A MIS AMIGOS

## TESIS QUE DEDICO

- A : Guatemala, como un pequeño aporte a la investigación científica en aras de un desarrollo integral del país.
- A : Mis Padrinos de Graduación, Ings. Agrs. Edgar Oswaldo Franco Rivera, Oscar René Leiva Ruano, Fernando Rodríguez Bracamonte
- AL : Instituto Técnico de Agricultura
- A : La Facultad de Agronomía
- A : Mis Compañeros y Amigos en especial a:
- Gustavo Adolfo Alvarez
  - Byron Zúñiga Castillo
  - Juan Carlos Granados Friely
  - Edwin E. Cano Morales
  - Luis Caniz Terraux
  - Héctor Ramazzini
  - Manuel Montepeque
  - Antonio del Cid
  - Candelario Méndez
  - Edvín Córdón
  - Manuel Tum Canto
  - Arturo Sosa
- AL : Campesinado Guatemalteco

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a:

- Familia Montepeque Morales, por sus consejos y apoyo moral que siempre me brindaron.
- Familia Zúñiga Castillo, por ese apoyo que como familia en mi etapa de estudio me proporcionaron.
- Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera, por su colaboración y Asesoría prestada para hacer realidad el punto de investigación propuesto.
- Ing. Agr. Víctor Alvarez Cajas, por su colaboración en la interpretación del análisis estadístico.
- Ings. Agrs. Fernando Rodríguez Bracamonte y Domingo Amador, por las observaciones hechas al presente trabajo.
- Al Personal de Campo del Centro Experimental Docente de - Agronomía, que en todo momento me prestaron su colaboración en la etapa de campo.
- Al Señor Reginaldo Soma, por su colaboración en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Facultad de Agronomía.

## CONTENIDO

	Pag. No.
RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
IV. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
1. Cultivo del trigo	4
1.1. Zonificación del cultivo	4
2. Situación del cultivo de trigo en Guatemala	5
3. El cultivo de tejidos	6
3.1. Antecedentes históricos	6
4. Aplicación del cultivo de anteras en el mejoramiento	10
4.1. Desarrollo de nuevas variedades	10
4.2. Producción de haploides	10
4.3. Selección de mutantes	11
5. Mejoramiento del trigo a través del cultivo de anteras	12
6. Factores que influyen en la respuesta del cultivo de anteras de trigo.	13
6.1. Genotipo y estado fisiológico de la planta madre	13
6.2. Etapa de desarrollo de la microspora	15
6.3. Mejoramiento del medio de cultivo	15
7. Mejoramiento de condiciones de cultivo	17
7.1. Pretratamiento en frío	17
7.2. Temperatura	18

/.. contenido

	Pag. No.
V. MATERIALES Y METODOS	20
1. Area experimental	20
1.1. Localización	20
2. Material experimental	21
2.1. Variedades de trigo	21
3. Desarrollo de la investigación	22
3.1. Etapa de campo	22
3.2. Etapa de laboratorio	23
3.3. Evaluación de la investigación	27
3.3.1. Inducción de callo	27
3.3.2. Regeneración de plantas	30
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	
1. Inducción de callo	32
2. Regeneración de plantas	35
VII. CONCLUSIONES	41
VIII. RECOMENDACIONES	42
IX. BIBLIOGRAFIA	43
X. APENDICE	47



## LISTADO DE CUADROS

Cuadro No.		Pag. No.
1	Producción y rendimiento nacional del cultivo del trigo. 1979.	4
2	Area, producción, rendimiento de trigo en Guatemala. 1972-1988	5
3	Porcentaje de la producción de trigo por departamento. 1982.	7
4	Formulaciones de medios de cultivo de tejidos	17
5	Combinación de reguladores del crecimiento agregados a los medios basales N6 y Papa II para la inducción de callo	25
6	Combinación de reguladores del crecimiento agregados al medio basal Murashige y Skoog para la regeneración de plantas	26
7	Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Patzún	32
8	Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Villa Laura	33
9	Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Chocoyo	34
10	Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Xequijel	35
11	Efecto de medios de cultivo en la regeneración de plantas de la variedad de trigo Patzún	36
12	Medios de inducción de callo que regeneraron plantas en la variedad de trigo Patzún	37
13	Resumen de los resultados obtenidos en las variedades de trigo Patzún, Villa Laura, Chocoyo y Xequijel en los medios de inducción de callo y regeneración de plantas	40

## LISTADO DE CUADROS DEL APENDICE

### Cuadro No.

- 1 Análisis de varianza del efecto de medios de cultivo en la inducción de callo y regeneración de plantas en las variedades de trigo Patzún, Villa Laura, Chocoyo y Xequijel.
- 2,3 Análisis de varianza, prueba de Tukey de la variedad de trigo Patzún, en la inducción de callo.
- 4,5, Análisis de varianza, prueba de Tukey de la variedad de trigo Villa Laura, en la inducción de callo.
- 6 Prueba de Tukey para la regeneración de plantas de la variedad de trigo Patzún.
- 7,8,9,10,11 Datos primarios originados de la investigación en la etapa de inducción y regeneración de plantas en las variedades de trigo Patzún, Chocoyo, Villa Laura y Xequijel.

## LISTADO DE FIGURAS

### Figura No.

- 1 Representación esquemática del cultivo de anteras en trigo , página 28.

## ABREVIATURAS

AIA	ACIDO INDOLACETICO
ANA	ACIDO NAFTALENACETICO
BA	BENZIL ADENINA
MS	MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE Y SKOOG
N6	MEDIO DE CULTIVO N6
PAPA II	MEDIO DE CULTIVO CON EXTRACTO DE PAPA
2,4-D	ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACETICO

EVALUACION DE LA RESPUESTA DE CINCO VARIETADES DE TRIGO  
(Triticum aestivum L.) A LA INDUCCION DE CALLO Y REGENERACION  
DE PLANTAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO A PARTIR DEL CULTIVO  
DE ANTERAS

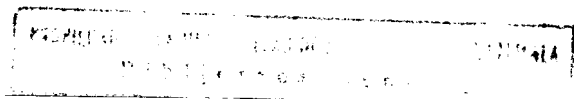
EVALUATION OF THE RESPONSE OF FIVE WHEAT (Triticum aestivum L.)  
VARIETIES TO CALLUS INDUCTION AND PLANT REGENERATION USING  
DIFFERENT CULTURE MEDIA THROUGH ANTHHER CULTURE

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó la respuesta de las variedades de trigo: Patzún, Chocoyo, Villa Laura, Xequijel y Chivito, en la inducción de callo y regeneración de plantas a través del cultivo de anteras. Los medios utilizados para evaluar la respuesta a la inducción de callo de las variedades de trigo estuvieron constituidos por los medios basales N6 y Papa II, suplementados cada uno con reguladores del crecimiento siguientes: ácido naftalenacético (ANA) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) en concentraciones de 2.0 mg/l y 0.5 mg/l. Se utilizaron anteras en estado uninucleado, las cuales se incubaron en medios de cultivo líquidos a temperatura constante de 28°C en la obscuridad por un período de 35 días.

Los callos provenientes del cultivo de anteras se transfirieron a medios sólidos de regeneración de plantas. Estos estuvieron constituidos por el medio basal Murashige y Skoog (MS), suplementado con ácido indolacético (AIA) en concentraciones de 1 y 2 mg/l y Benzil-adenina (BA) en concentración de 0.5 mg/l. Los callos en medios de regeneración de plantas se mantuvieron bajo luz continua a temperatura de 23 ± 3°C durante 6 semanas.

La mayor respuesta en la inducción de callo se obtuvo con la variedad de trigo Chocoyo utilizando el medio basal Papa II



suplementado con 2 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D. El me dio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA es el medio más adecuado para inducir callo en las variedades de trigo Patzún y Xequijel. En la variedad de trigo Villa Laura el medio ba sal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D mostró el mayor porcentaje en la inducción de callo. La variedad de trigo Chivito presenta dificultad en la inducción de callo, en ésta no se obtuvo respuesta.

Entre las variedades de trigo evaluadas, únicamente la variedad Patzún presentó respuesta en la regeneración de plan tas, el mayor porcentaje de plantas regeneradas se obtuvo con el medio basal MS suplementado con 1.0 mg/l de AIA y 0.5 mg/l de BA.

El proceso de aclimatación de plantas utilizado en este estudio no presentó ningún tipo de dificultad obteniéndose - un 100% de plantas verdes aclimatadas bajo condiciones de in vernadero.

EVALUACION DE LA RESPUESTA DE CINCO VARIEDADES DE TRIGO  
(Triticum aestivum L.) A LA INDUCCION DE CALLO Y REGENERACION  
DE PLANTAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO A PARTIR DE CULTIVO  
DE ANTERAS

I. INTRODUCCION

El trigo (Triticum aestivum L.) es un cereal de importancia en la alimentación de la población guatemalteca y se caracteriza por ser un trigo suave de primera que generalmente se utiliza para la fabricación de pan y pastas.

En el cultivo de trigo en Guatemala se utilizan variedades obtenidas a través de métodos de mejoramiento genético convencional, las cuales después de ser liberadas y utilizadas - pierden en corto tiempo características importantes como tolerancia a enfermedades, lo cual repercute en bajos rendimientos y se hace necesario cambiar constantemente las variedades de trigo.

En la actualidad los métodos de mejoramiento utilizando el cultivo in vitro dentro de ellos el cultivo de anteras, nos puede permitir obtener variedades en corto tiempo. Para utilizar el cultivo de anteras como una técnica de mejoramiento de trigo se hace necesario evaluar la respuesta de las diferentes variedades o líneas a la inducción de callo y regeneración de plantas. En Guatemala la utilización de esta técnica moderna de mejoramiento complementada con los métodos convencionales, representa una adecuada alternativa.

En este trabajo se reporta la evaluación de la respuesta de cinco variedades de trigo a la inducción de callo y regeneración de plantas utilizando diferentes medios de cultivo a partir de cultivo de anteras, siendo las variedades evaluadas las siguientes: Chocoyo, Patzún, Villa Laura, Xequijel y Chivito.

## II. HIPOTESIS

1. Las cinco variedades de trigo a evaluar tienen capa cidad de producir callo en medio de inducción de ca llo a partir del cultivo de anteras uninucleadas.
2. Las cinco variedades de trigo a evaluar tienen capa cidad de regenerar plantas a partir de callo produ-  
cido a través del cultivo de anteras.

## III. OBJETIVOS

1. Evaluar la respuesta de las cinco variedades de trigo en la inducción de callo, en dos medios basales y cinco combinaciones de reguladores del crecimiento a través del cultivo de anteras.
2. Evaluar la respuesta de las cinco variedades de trigo en la regeneración de plantas en un medio basal y cuatro combinaciones de reguladores del crecimiento a partir de callos generados del cultivo de anteras.



## IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. Cultivo del trigo (Triticum aestivum L.)

## 1.1. Zonificación del cultivo

Guatemala cuenta con áreas aptas para el cultivo del trigo. Las áreas de mayor importancia en producción están enmarcadas en dos zonas agrícolas: la primera abarca los departamentos de Quetzaltenango, San Marcos, Totonicapán, Sololá, Huehuetenango, Quiché y la segunda Chimaltenango, Guatemala y Jalapa.

En el cuadro 1 se muestra la producción y rendimiento del cultivo del trigo. Se observa que en 1979 existían 45019 fincas, las cuales ocupaban una superficie sembrada de 26579 has. El rendimiento reportado es bajo debido a que es un cultivo que se siembra en áreas pequeñas.

CUADRO 1. Producción y rendimiento nacional del cultivo de trigo año 78/79

Departamento	No. de fincas	Superficie (ha)	Producción (ton)miles	ton/ha
Quetzaltenango	9076	6167.0	10.35	1.67
San Marcos	12933	6711.6	8.36	1.24
Chimaltenango	5452	4027.8	7.31	1.81
Huehuetenango	6632	4116.7	4.31	1.05
Totonicapán	5724	2251.9	3.82	1.70
Sololá	3444	1787.1	1.28	0.72
Guatemala	24	238.0	0.77	3.23
Quiché	1049	569.1	0.70	1.23
Jalapa	641	448.1	0.64	1.43
Santa Rosa	21	133.7	0.34	2.54
Sacatepéquez	19	119.0	0.24	2.02
Baja Verapaz	3	8.4	0.01	1.19
Cobán	1	0.35	2X10 <sup>-4</sup>	0.57
TOTAL	45019	26579.34	38.13	20.40

FUENTE: Censo Nacional Agropecuario 1979

## 2. Situación del cultivo de trigo en Guatemala

Durante los últimos quince años la producción de trigo ha sido de 830800 ton. producidas en una extensión de 507600 hectáreas, lo cual da una producción promedio de 1.64 ton/ha/año (9). El cuadro 2 muestra el área cultivada, producción total y rendimiento de trigo en Guatemala.

CUADRO 2. Área, producción, rendimiento de trigo en Guatemala  
Período: 1972-73 - 1987-88

Año <u>1/</u>	Área cosechada (miles de ha)	Producción (miles en ton)	Rendimiento (ton/ha)
1972/73	34.2	50.8	1.5
1973/74	28.0	51.2	1.8
1974/75	43.5	55.5	1.3
1975/76	38.6	49.3	1.3
1976/77	44.9	62.7	1.4
1977/78	26.8	39.3	1.5
1978/79	36.1	60.0	1.7
1980/81	31.5	63.0	2.0
1981/82	31.5	45.7	1.4
1982/83	29.6	46.3	1.6
1983/84	33.4	60.0	1.8
1984/85	32.2	55.0	1.7
1985/86	31.5	75.0	2.4
1986/87	32.2	58.5	1.8
1987/88	33.6	60.0	1.8

FUENTE: Instituto Nacional de Estadísticas, Departamento del Banco de Guatemala y la Gremial Nacional de Trigueros

1/ Comprende el período diciembre de un año a noviembre del siguiente.

A consecuencia del alza de los precios de los fertilizantes en los años ochenta, el área cultivada en 1982 decreció un 8% en relación al porcentaje de 1977-78, el rendimiento - en 1983 decreció un 23% en relación al porcentaje de 1977-78. La tasa de crecimiento del área desde 1972 a 1988 ha sido negativa con un valor de 0.06%, el rendimiento ha aumentado en un 0.02% y la producción total se ha incrementado en un 0,6%. El cuadro 3 muestra el porcentaje de la producción de trigo por departamento.

### 3. El cultivo de tejidos

#### 3.1. Antecedentes históricos

Mucho antes de que fuera conocida la naturaleza - del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el código genético y asimismo se considerará en nuestro vocabulario el término - "Ingeniería Genética", los científicos se preguntaban si una célula vegetal aislada era "totipotente", pregunta ésta que parecía muy académica y teórica en esa época. (27)

Aún cuando es difícil determinar un punto de partida en el origen del cultivo de tejidos, importantes antecedentes se

CUADRO 3. Porcentaje de la producción de trigo por departamento, 1982

Departamento	Producción %
Quetzaltenango	30.8
Chimaltenango	20.7
San Marcos	15.3
Totonicapán	13.4
Huehuetenango	6.0
Sololá	7.8
Jalapa	2.1
Quiché	1.5
Sacatepéquez	1.1
Guatemala	1.0
Santa Rosa	0.3
<b>TOTAL</b>	<b>100.0%</b>

FUENTE: Gremial Nacional de Trigueros. Departamento de Estadística, 1986.

remontan a 1860-1861, años en que Sacko y Knops descubrieron que las sustancias más importantes absorbidas por las plantas eran los compuestos orgánicos. El resultado de estas observaciones fue la elaboración de una sustancia nutritiva (solución Knops) empleada hasta la fecha y que históricamente se usó como componente básico de los medios de cultivo. (31)

Otros estudios de importante repercusión fueron los llevados a cabo por Vochtina, referentes a la polaridad en la formación de yemas nuevas. En sus investigaciones empleó ramas de Salix, destacando que al vacío, las yemas siempre brotaron en la parte distal de la rama y las raíces en la porción proximal, esta polaridad se mantenía aún invirtiendo la posición del tallo. Este investigador concluyó que el destino de las células se define por el corte y no depende del tamaño de las ramas. (30)

En parte, estos estudios fueron seguidos por otros efectuados por Schwann en los cuales el concepto de totipotencia celular estaba implícito en los enunciados de su teoría celular. (28)

Haberland, asimiló todos estos conceptos existentes en aquel entonces y fue el que realizó los experimentos más importantes respecto al cultivo de tejidos, ya que propiamente cultivó células del mesofilo de tradescantia en un medio artificial. (27)

White, casi treinta años después demostró que era factible cultivar con éxito órganos vegetales. Para sus experimentos el Dr. White empleó raíces de Licopersicum esculentum M. White pensaba que los fragmentos que se incubaban, deberían estar limitados en tamaño conforme a la definición de tejido en los términos botánicos. Experimentó en pequeños primordios florales y foliares de 1 mm<sup>3</sup>. Después de estos experimentos,

pensó en forma estricta que los tejidos vegetales en cultivo, ya sean células somáticas aisladas o formando agregados podrían vivir normalmente in vitro y sin diferenciación. (32)

Otro trabajo importante fue realizado por Gautheret quien estableció un experimento para promover un crecimiento y división continua de células del cambium de algunas especies arbustivas. Las células de Populus nigra y Salix capraea utilizadas no sólo eran células meristemáticas, sino que también eran células muy homogéneas. Este investigador usó principalmente la solución de Knop como medio básico, suplementado de glucosa, extracto de levadura y cisteína. (10)

Skoog, descubrió que el callo del tabaco proliferaba cuando se cultivaba en un medio que tenía como uno de sus ingredientes una muestra vieja de ADN proveniente de semen de pescado. El componente activo responsable de este crecimiento prolífico fue la 6-furfurilpirina, a la que se le dio el nombre de "cinetina" para describir su aptitud para inducir la división de células. Cuando se agregó cinetina a los medios de cultivo, fue posible inducir la formación y proliferación de callos de un gran número de especies de plantas. Skoog y Miller lograron que las células de callos se desarrollaran como raíces o yemas, a las dos cosas, en cultivo de tejidos de tabaco. (31)

Ellos comprobaron que la diferenciación en raíces o yemas dependía de la proporción de cinetina y auxina en el medio de cultivo, demostrando así la importancia de la composición del sustrato. Murashige y Skoog publicaron un trabajo sobre la composición de un medio para cultivo de tejidos de tabaco, que posteriormente fue útil para muchas especies de plantas.

En los años siguientes, se logró en muchas especies el desarrollo de plantas enteras a partir de células aisladas (Vasil y Hildebrandt), el desarrollo de plantas haploides a partir de granos inmaduros de polen mediante el cultivo de anteras (Nitsch y Nitsch) y la regeneración de plantas a partir de protoplastos. La totipotencia de una célula vegetal aislada quedó, finalmente probada. (17)

#### 4. Aplicación del cultivo de anteras en el mejoramiento de cultivos

##### 4.1. Desarrollo de nuevas variedades

De acuerdo a resultados obtenidos cerca de un 90% de plantas obtenidas por medio de cultivo de anteras de trigo son haploides o diploides y la estructura de cromosomas de estas plantas es estable. Esto indica que las técnicas de cultivo de anteras puede ser aplicadas directamente en programas de mejoramiento. Las anteras de progenies de híbridos, especialmente de híbridos F1 puede usarse como material inicial. Las buenas características complementarias de los dos padres pueden combinarse en el mejoramiento de anteras haploides y se pueden obtener plantas homocigotas directamente en una generación simple, las cuales pueden evaluarse en la generación siguiente: Estas características son importantes para desarrollar en un período corto de 3 a 4 generaciones materiales haploides o diploides, en comparación al uso de métodos convencionales de mejoramiento. (17)

##### 4.2. Producción de haploides

En años recientes científicos de China y otros países en sus investigaciones han reportado que en el proceso del cultivo de anteras cambia el número y estructura de cromosomas, ordenamiento de los cromosomas y fusión nuclear (7,31)

Otras características de los cromosomas de las plantas es que no presentan apareamiento y sobrecruzamiento de sus cromosomas en la meiosis de híbridos distintos, lo que dificulta la transferencia de genes deseables dentro de cultivares de distintas hibridaciones. Pero a través del cultivo de anteras - combinado con hibridaciones, puede ocurrir un intercambio de cromosomas y un ordenamiento de los mismos, la frecuencia de estos cambios genéticos puede incrementarse. Durante el cultivo de anteras diferentes tipos de gametos pueden fácilmente - aparearse, por lo que se da una regeneración de plantas de varios tipos recombinantes con diferentes adiciones, sustituciones y traslocaciones. (7)

#### 4.3. Selección de mutantes

En las plantas superiores las mutaciones son difíciles de detectar debido a que los genes en condición recesiva no se expresan en presencia de los alelos dominantes complementarios. Los caracteres recesivos sólo se podrían detectar después de un largo proceso de autofecundación para tener plantas diploides homocigotas en condición recesiva. Sin embargo, las mutaciones recesivas en células o plantas haploides pueden detectarse fácilmente debido a que sólo presentan un juego simple de cromosomas y no hay alelos complementarios.

Las células o plantas haploides con mutaciones específicas pueden diploidizarse para obtener células o plantas diploides homocigotas con la mutación deseada. Las células haploides pueden ser sometidas a tratamiento con mutágenos químicos o físicos para aumentar la frecuencia de mutación.



Usando células o protoplastos haploides ha sido posible la selección de mutantes resistentes a antibióticos, toxinas, análogos de aminoácidos o de bases púricas y pirimídica, sales, bajas temperaturas, herbicidas, virus y nemátodos. (27)

##### 5. Mejoramiento del trigo a través del cultivo de anteras

El desarrollo de embriones haploides a partir de microsporas de Datura innoxia por cultivo de anteras se reporta por primera vez por Gua Ha y Maheshwari. Desde entonces muchos científicos de China y otros países como Hu Han y Bajaj han puesto gran atención a la inducción de haploides, principalmente porque el cultivo de anteras proporciona un excelente medio para la producción de un número largo de haploides el cual es usado en la investigación básica de genética y mejoramiento de plantas. El primer trabajo de investigación en el cultivo de anteras en trigo fue hecho por Fujii (1970) quien utilizó seis especies; obtuvo callos en Triticum aegilopoides, Triticum dicoccoides, pero con las anteras de Triticum aestivum no se obtuvo ninguna respuesta. Las primeras plantas originadas de anteras fueron obtenidas por J. Ouyang y compañeros. (7, 31).

Hu Han reporta, que durante la época pasada, se lograron éxitos significativos en el cultivo de anteras por los Chinos Ouyang y Chu, por los Franceses De Byuser y Henry, así como trabajos efectuados por los estadounidenses Schafeer y Baenziger. (17)

En el incremento en la frecuencia de inducción de plantas verdes a partir del cultivo de anteras se han investigado los aspectos siguientes: a) Investigaciones sistemáticas de varios

factores que influyen en la respuesta en el cultivo de anteras. Por ejemplo, con el mejoramiento del medio de cultivo - el promedio de incremento en la frecuencia de inducción de plantas de trigo a partir de callo derivado del cultivo de anteras ha aumentado de un 0.7% a un 5%. b) Se ha enfocado la utilización de la técnica del cultivo de anteras en el mejoramiento de plantas. Muchas variedades nuevas y líneas de trigo obtenidas por esta técnica se han desarrollado y liberado para su cultivo. c) Aspectos de investigación sobre genética y citogenética de plantas obtenidas de polen de trigo y de otros aspectos los que incluyen: las características concernientes a la habilidad de regeneración de las plantas de trigo; estabilidad genética y - la variabilidad de las plantas. (17)

## 6. Factores que influyen en la respuesta del cultivo de anteras

La frecuencia de regeneración de plantas provenientes de cultivo de anteras se ha incrementado. Los siguientes factores son importantes para lograr alta frecuencia de regeneración:

- a) Genotipo y estado fisiológico de plantas madres
- b) El estado de desarrollo de la microspora
- c) Medio de cultivo; y
- d) Condiciones de cultivo

### 6.1. Genotipo y estado fisiológico de la planta madre

El genotipo de las plantas donantes tiene una gran influencia sobre la respuesta de cultivo de anteras. En estudios recientes, se observó diferencias significativas en la formación de callos usando varias variedades y cruces diferentes.

Ouyang y compañeros (17), estudiaron las bases genéticas de diferentes genotipos relacionados con la formación de callo en cultivo de anteras. Lo llevaron a cabo utilizando varias variedades, híbridos F1, evaluando la habilidad para producir callo a partir de anteras de trigo. En la mayoría de los híbridos la frecuencia de callo fue significativamente alta en relación a las líneas. El vigor híbrido se expresó fuertemente. Por ejemplo, cuando se utilizaron las variedades, Xiaoyan 759 y la Ketog 58 como progenitores la frecuencia de inducción de callo y regeneración de plantas de híbridos F1 fue significativamente más alta que en las líneas. Así también observaron que el vigor híbrido puede eliminarse cuando las anteras de F1 provenientes de cruces dobles y de cruces recíprocos, mostrando la existencia de no diferencias entre los miembros de cada híbrido.

Ouyang (17) debido a los resultados mencionados anteriormente, llegó a considerar lo siguiente:

- a) La transferencia in vitro de la habilidad androgenética de híbridos F1 no dependen del citoplasma materno.
- b) La frecuencia de inducción de callo en cultivo de anteras y regeneración de plantas es una característica heredable controlada cuantitativamente.
- c) La frecuencia de la inducción de vigor híbrido solamente existe en los heterocigotos F1, pero se puede perder en líneas homocigotas.

Esto indica que la expresión del vigor híbrido está fuertemente ligada al papel del genotipo de la antera, pero no del genotipo de las microsporas.

En adición, al genotipo de las plantas donantes, la naturaleza de las variedades de trigo (trigo de verano o invierno) - también afecta la frecuencia de la inducción de plantas.

## 6.2. Etapa de desarrollo de la microspora

El estado de desarrollo de la microspora es un factor importante que afecta los resultados del cultivo de antera. Han Hu menciona que recientemente D.G He y Ouyang estudiaron las fases morfológicas de desarrollo de la microspora de trigo en detalle y definieron las respuestas de las anteras en diferentes estados de desarrollo; llegaron a determinar que sólo aquellas microsporas conteniendo un estado uninucleado medio o tardío pueden ser inoculadas, la frecuencia de inducción de callo en estos estados son altos. (17)

## 6.3. Mejoramiento del medio de cultivo

El medio de cultivo es uno de los factores que inducen y controlan la inducción de callo y regeneración de plantas, su composición tiene influencia sobre la respuesta de los genotipos, los principales componentes que afectan la inducción de callo y regeneración de plantas en los medios de cultivo son:

### 6.3.1. Inducción en la concentración de sucrosa

Inicialmente se consideró que la concentración de sucrosa era un factor importante en la inducción de callo en cultivo de anteras. En un principio las primeras plantas obtenidas por cultivo de anteras de trigo fue con la concentración de sucrosa en un rango de 3 a 6%.

Puede ser que la sucrosa no solamente sea un regulador de presión osmótica del medio pero puede ser también además una efectiva fuente de carbohidrato. En la actualidad se ha determinado que 9% de sucrosa es apropiado para el cultivo de anteras de trigo. (17)

### 6.3.2. Relación del óptimo nitrógeno-amoniaco: Relación nitrógeno nitrato.

Lapham y Chu mencionados por Han Hu; (17) afirman que una alta concentración de iones de amonio inhiben la formación de callo de polen en cebada y arroz respectivamente. Basado sobre estos resultados, se ha desarrollado un nuevo medio denominado N6, el cual se muestra en el cuadro 4, por considerarse que reduce la concentración de iones de amonio y regula la relación entre amonio nitrogenado y nitrato-nitrógeno. Se ha demostrado que el medio N6 es más eficiente que otros medios sintéticos para el cultivo de anteras de arroz y otros cereales, incluyendo el trigo.

### 6.3.3. Desarrollo del medio de papa

Extractos naturales de papa, camote, ñame, tomate y endospermo de arroz, maíz cuando el grano ha empezado a llenar fueron probados reemplazando otros componentes en un medio sintético. De los extractos arriba mencionados, el extracto acuoso de papa ha mostrado resultados satisfactorios debido a que se logra alta frecuencia en la inducción de callo y regeneración de plantas en el cultivo de anteras. El contenido mayor de sales de papa puede variar considerablemente de acuerdo al material utilizado, esto produce efectos en el medio. Esto fue mejorado por Chuang y compañeros, mencionado por Han Hu, quien desarrolló un nuevo medio de papa, el cual es llamado medio de papa II, este contiene un 10% de extracto acuoso de papa, la mitad de los macroelementos del medio W4, hierro y la tiamina del medio MS. La frecuencia de inducción de callo en este medio fue mucho más alta que en otros medios sintéticos para el cultivo de anteras. (17)

CUADRO 4. Formulaciones de medios de cultivo utilizado en el cultivo de anteras de trigo.

Ingredientes	MS (mg/l)	N6 (mg/l)	Papa II (mg/l)
(NH <sub>4</sub> )NO <sub>3</sub>	1650		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		463	100
KNO <sub>3</sub>	1900	2800	1000
CA(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O			100
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	400	125
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	166	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	400	200
KCl			35
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	27.8	27.8
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	37.3	37.3	37.3
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3	3.3	
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6	1.5	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	1.6	
KI	0.83	0.8	
NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25		
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025		
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025		
MyO-inositol	100		
Acido nicotínico	0.5	0.5	
Piridoxina-HCl	0.5	0.5	
Tiamina-HCl	0.1	1.0	1.0
Glicina	2.0		
Acido amino acético		2.0	
Extracto de papa			20000
Sucrosa	30000	60000	60000
pH	5.7-5.8	5.75	5.75

## 7. Mejoramiento de condiciones de cultivo

### 7.1. Pretratamiento en frío

El tratamiento frío antes de la inoculación de anteras puede incrementar la frecuencia en la inducción de callo. En un experimento con dos cruces de trigo (Orofen y Xiaoyan 759) y (Cianyang No. 4 x 7497), las espigas de trigo fueron pretratadas a 1-4°C por 48 horas. Los resultados indicaron un aumento en el porcentaje de anteras que forman callo, en

el cruce (Orofen x Xiayon 759) se reporta un 11.7% sin tratamiento y un 20.6% con tratamiento con frío y en el híbrido (Xianyang No. 4 y 7497) fue de 4.2% y 8.9% respectivamente. Tenemos así la frecuencia de inducción de callo fue incrementada aproximadamente dos veces cuando las espigas fueron tratadas a una baja temperatura. (17)

En otros estudios realizados en trigo, en donde se han evaluado varios cultivares, se ha demostrado que la diferencia en el porcentaje de anteras que ha formado callo y regenerado plantas se ha observado el efecto de la variación de los genotipos, la duración del pretratamiento, las temperaturas utilizadas y a la interacción entre el genotipo-pretratamiento. (25)

## 7.2. Temperatura

Donde la temperatura de las espigas de trigo cultivadas en el campo, han sido sometidas a elevadas o bajas temperaturas a nivel de laboratorio la inducción de frecuencia de callo en trigo ha sido incrementada. En trabajos mencionados por Han Hu que fueron realizados por Ouyang y compañeros, en donde las espigas de trigo fueron incubadas a elevada temperatura por pocos días, luego transferidas a una temperatura normal, la frecuencia en la inducción de callo fue incrementada, asimismo, el incremento de plantas verdes. La frecuencia de inducción de plantas verdes de la variedad Orofen fue alrededor de 10% (en un experimento de 100 anteras pueden producirse 10 plantas verdes). (17)

La respuesta del cultivo de anteras a la temperatura fue estudiada en detalle usando varias variedades en híbridos F1 de líneas de trigo (Triticum aestivum L.). El rango de temperatura utilizado para inducir callos embriogénicos oscila entre 26°C a 30°C la cual varía con los genotipos. Para la mayoría de genotipos de trigo las temperaturas adecuadas son de 28°C a 30°C. (25)



## V. MATERIALES Y METODOS

### 1. Area Experimental

#### 1.1. Localización

La investigación se realizó en el Centro Experimental Docente de Agronomía -CEDA-, invernadero y laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía.

La zona de vida del CEDA, según De la Cruz (5), se encuentra en la faja termométrica altitudinal subtropical húmeda, y según Holdridge, en un bosque montano bajo tropical. Los suelos pertenecen a la serie Guatemala, para los cuales Simmons (29), reporta una textura y consistencia franco arcillosa friable, formado de cenizas volcánicas. El CEDA se encuentra en la parte sur de la Ciudad Universitaria,  $14^{\circ}34'51''$  LN y  $90^{\circ}33'16''$  LO y una elevación de 1476 msnm. (8). Tiene una precipitación media anual de 1247 mm, con temperatura media anual de  $18^{\circ}\text{C}$  (16).

El invernadero utilizado está cubierto de vidrio con techos de dos aguas, distribuidas de tal manera que el espacio se utiliza en forma adecuada para pasillos y bancos de propagación fijos. Cuenta además con un sistema de microaspersión y ventiladores laterales mecánicos.

El laboratorio de Cultivo de Tejidos cuenta con un espacio de uso común, así como materiales y equipos de uso general. Se tiene alacenas para almacenar reactivos y cristalería limpia, área para manipulaciones asépticas. Para la incubación de los tejidos se emplea un cuarto de cultivo o incubadora con control de luz y temperatura.

## 2. Material experimental

### 2.1. Variedades de trigo

En el presente estudio se utilizaron cinco variedades de trigo (Triticum aestivum L.) procedentes de semilla certificada producidas por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), las cuales presentan las siguientes características:

#### a) Patzún

Es una variedad que se cultiva entre 1525 a 1980 msnm y temperaturas que oscilan entre 18°C a 24°C. Alcanza alturas de 85 a 95 centímetros de la base del tallo al extremo distal de la espiga. Alcanza su madurez fisiológica a los 120-125 días. El peso específico del grano es de 74 kilos por hectolitro. Su rendimiento oscila entre 3.5-4.5 toneladas por hectárea. (12)

#### b) Chivito

Esta variedad se cultiva a 2150 msnm y a temperaturas 18-26°C. Alcanza alturas de 95-100 centímetros de la base del tallo al extremo distal de la espiga. La madurez fisiológica ocurre entre 125-130 días, y su peso específico de grano es de 75 kilos por hectolitro. Su rendimiento estabilizado es de 4.7 toneladas por hectárea. (12)

#### c) Villa Laura

Las plantas de esta variedad se encuentran adaptadas a 2150 msnm y a temperaturas de 18-26°C. Alcanza alturas en

tre 110-114 centímetros y su madurez fisiológica ocurre entre 130-135 días; tiene un peso específico de 76 kilos por hectolitro. Su rendimiento es de 3.36 toneladas por hectárea (13).

d) Xequijel

Esta variedad se encuentra adaptada a 2150 msnm y a temperaturas de 19-25°C. Alcanza alturas entre 100-110 centímetros de la base del tallo al extremo distal de la espiga. La madurez fisiológica ocurre entre los 123-129 días. Además tiene un peso específico de 77.5 kilos por hectolitro y un rendimiento que varía de 3.5 a 4.3 toneladas por hectárea. (14)

e) Chocoyo

Es una variedad cuyas plantas se desarrollan entre los 1525-1980 msnm y a temperaturas entre 18-26°C. Alcanzan alturas entre 95-105 centímetros, la madurez fisiológica la alcanza entre 135-145 días. Su peso específico es de 76.4 kilos por hectolitro, además posee un rendimiento que oscila entre 3.5-4.3 toneladas por hectárea (15).

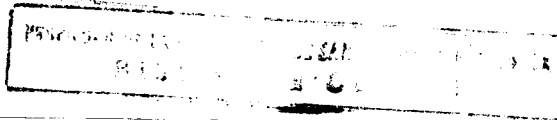
### 3. Desarrollo de la investigación

La presente investigación se realizó en dos etapas: Etapa de campo y etapa de laboratorio

#### 3.1. Etapa de campo

##### 3.1.1. Siembra de variedades

Esta actividad se realizó en el área del Centro



Experimental Docente de la Facultad de Agronomía. El material de trigo utilizado lo constituyeron las variedades de trigo - Chivito, Villa Laura, Chocoyo, Patzún y Xequijel, las cuales fueron obtenidas del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA).

La siembra se realizó en agosto, septiembre y octubre del año 1988 y febrero, marzo, abril y mayo del año 1989; efectuando siembras con un intervalo de 15 días. Se sembraron cuatro surcos de cinco metros de largo de cada variedad en forma escalonada.

### 3.2. Etapa de laboratorio

#### 3.2.1. Inducción de callo

##### 3.2.1.1. Determinación del estado uninucleado de las anteras

Para conocer el estado de desarrollo de las microsporas se observó constantemente el desarrollo de las variedades utilizadas, se observó para cada variedad el momento en que el trigo inició la formación de su inflorescencia y se determinó el estado uninucleado de las microsporas para cada una de las variedades.

Para observar el estado uninucleado de las microsporas, se procedió a la fijación, tinción y observación en el microscopio de las mismas, para ello se observó el procedimiento siguiente:

- a) Fijación: Se fijaron las anteras en una solución compuesta por tres partes de etanol al 95% (alcohol etílico), una

parte de ácido acético glacial y 0.1% de cloruro férrico. Posteriormente se calentó la inflorescencia en esta solución a -70°C por 45 minutos cuando se requirieron inmediatamente o se dejaron en la solución fijadora durante 24 horas a temperatura ambiente con la finalidad de favorecer una mejor acción de la solución de tinción.

b) Tinción: Las anteras fueron maceradas y teñidas con una solución al 0.5% de acetocarmín. Una vez teñidos los granos de polen, se observó los estados de desarrollo bajo un microscopio. (20)

#### 3.2.1.2. Extracción de anteras

Las espigas, fueron colectadas en el campo en las mañanas antes de las diez horas y se sometieron a tratamiento frío, durante siete días a 6°C, fueron esterilizadas por diez minutos utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% luego lavadas tres veces con agua estéril. Asimismo se utilizó, alcohol etílico al 70% para desinfectar el área de trabajo en la cámara de flujo laminar.

Las espigas estériles fueron colocadas en cajas de petrí estériles y las anteras fueron removidas utilizando una pinza de punta fina. Posteriormente las anteras fueron transferidas a los medios de inducción de callo.

#### 3.2.1.3. Medios de cultivo

Se utilizaron como medios basales el medio de Papa II y el medio N6. La composición de los mismos se muestra en el cuadro 4.

Las combinaciones de reguladores del crecimiento agregados a cada uno de los medios basales se muestran en el cuadro 5.

CUADRO 5. Combinación de reguladores del crecimiento agregados a los medios basales N6 y Papa II para la inducción de callo

2,4-D (mg/l)	ANA (mg/l)
0.0	0.0
2.0	0.0
0.0	2.0
2.0	0.5
0.5	2.0

El medio basal y la combinación de reguladores del crecimiento constituyó el medio de inducción de callo.

Para la inducción de callo se utilizaron 15 ml de medios líquidos, los cuales se colocaron en frascos de vidrio de 120 ml de capacidad, los que se esterilizaron en autoclave a 121° C, 15 libras de presión por pulgada cuadrada por 15 minutos.

#### 3.2.1.4. Condiciones de incubación

Las anteras en los medios de inducción de callo fueron incubadas durante 35 días a temperaturas constantes de 28°C en la oscuridad. Después de 35 días se determinó el número de callos inducidos.

#### 3.2.2. Regeneración de plantas

Los callos provenientes de los medios de inducción fueron trasladados a tubos de ensayo que contenían el me

### 3.2.2.2. Aclimatación

Las plantas con una altura aproximada de cinco centímetros en los tubos de ensayo, se sometieron a un proceso de aclimatación, el cual consistió en extraer la planta del tubo de ensayo, luego se realizó un lavado de las raíces con el objeto de eliminar residuos del medio nutritivo, seguidamente se sembraron en macetas de plástico conteniendo una mezcla de suelo con arena de proporción de 3:1 previamente esterilizado en autoclave a 121°C, 15 libras de presión por pulgada cuadrada por 30 minutos. A las plantas se les aplicó riego cada dos días y fueron cubiertas con bolsas plásticas transparentes, con el objeto de mantener una alta humedad relativa.

A partir del tercer día se procedió a realizar agujeros en la bolsa, para ir adaptando las plantas al medio exterior, finalmente a los cinco días se eliminó la bolsa.

En la figura 1, se observa en una forma general la metodología utilizada desde la siembra de variedades de trigo hasta la obtención de plantas a través del cultivo de anteras.

## 3.3. Evaluación de la investigación

### 3.3.1. Inducción de callo

Para la evaluación de los diferentes medios de inducción de callo se utilizó un diseño experimental completamente al azar.

Se utilizaron cinco repeticiones, la unidad experimental estuvo constituida por un frasco de vidrio de 120 ml de capacidad al cual se le agregaron 15 ml del medio de cultivo y se

- Siembra de las variedades de trigo en el campo. Duración 2 a 4 meses.
  
- Recolección de espigas en el campo, antes de las 10 horas. Deben tener un estado uninucleado.
  
- Extracción de anteras transferidas al medio de cultivo de anteras.
  
- Inicia la embriogénesis y organogénesis en el medio de inducción de callo. Duración: 35 días.
  
- Regeneración de plantas en el medio de regeneración. Duración: 6 semanas.
  
- Aclimatación de las plantas regeneradas. Duración: 5 días.
  
- Crecimiento de las plantas haploides o doble haploides. Recolección de granos. Duración: 5 a 6 meses.

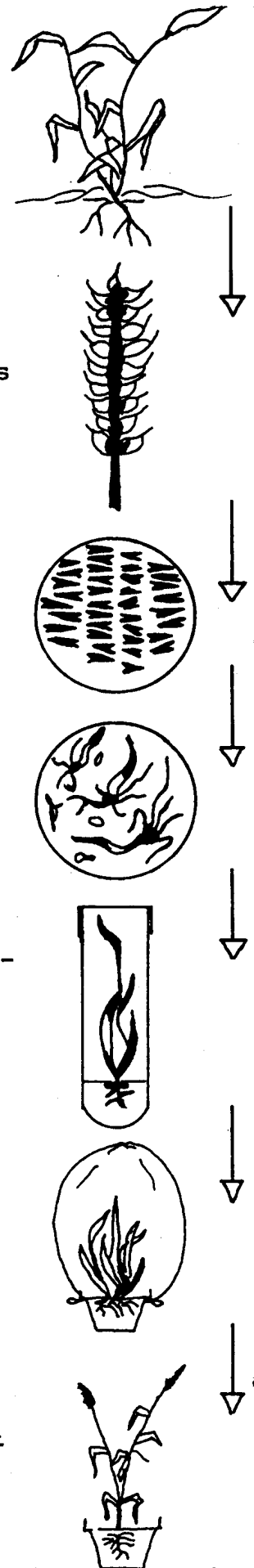


FIG. 1 Representación esquemática del cultivo de anteras en trigo.



cultivaron en el mismo 60 anteras, con un total de diez tratamientos.

El modelo estadístico utilizado para el diseño experimental completamente al azar en la fase de inducción de callo fue:

$$Y_{ij} = M + T_i + E_j$$

Y = Variable respuesta de la iésima unidad experimental

i = Tratamiento

j = Repetición

M = Media general de la población

T = Efecto del iésimo tratamiento

E = Efecto del error experimental asociado a la ij unidad experimental.

### 3.3.1.1. Análisis Estadístico

Los valores obtenidos en la inducción de callo de las variedades de trigo Chocoyo, Patzún, Xequijel, Villa Laura y Chivito, fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA), aplicado al número de anteras que forman callo. Los análisis fueron independientes para cada variedad.

Asimismo, a estas variedades se les aplicó la prueba de medias de Tukey y prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con la finalidad de detectar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, debido especialmente a la presencia de datos discontinuos dentro de un mismo medio basal y combinación de reguladores del crecimiento.

### 3.3.1.2. Variables evaluadas

Para los medios de inducción de callo se determinó el número de anteras que forman callo, lo cual se realizó a los treinta y cinco días después del cultivo de las mismas.

a) Número de anteras que forman callo

$$\% \text{ callos} = \frac{\text{No. anteras que forman callo}}{\text{Total anteras inoculadas}} \times 100$$

### 3.3.2. Regeneración de plantas

Para la evaluación de los diferentes medios de regeneración de plantas se utilizó un diseño completamente al azar. Los tratamientos evaluados para cada variedad fueron las cuatro combinaciones hormonales. Se utilizaron diez repeticiones, la unidad experimental estuvo constituida por un tubo de ensayo de 16 x 25 mm al cual se le agregaron 6 ml. del medio de cultivo, colocándose un callo por tubo, con un total de cuatro tratamientos.

El modelo estadístico utilizado para el diseño experimental completamente al azar, es el mismo utilizado en la fase de inducción de callo.

#### 3.3.2.1. Análisis estadístico

Los valores obtenidos en la regeneración de plantas de las variedades de trigo Chocoyo, Patzún, Xequijel, Villa Laura y Chivito, fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA), aplicado al número de plantas regeneradas. Los análisis fueron independientes para cada variedad. Asimismo a estas variedades se les aplicó la prueba de medias de Tukey.

### 3.3.2.2. Variables evaluadas

Para los medios de regeneración de plantas se determinó el número total de plantas regeneradas, el número de plantas albinas y el número de plantas verdes. Estos datos se tomaron seis semanas después de transferidos los callos al medio de regeneración.

#### b) Porcentaje de regeneración de plantas

$$\frac{\text{No. de plantas regeneradas a partir de callos}}{\text{Total de callo inoculado}} \times 100$$

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. Inducción de callo

En la variedad de trigo Patzún, el tratamiento consistente en el medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA o 2 mg/l de 2,4-D mostró el mayor porcentaje en la inducción de callo. El cuadro 7 muestra el efecto de medios de inducción de callo en la variedad de trigo Patzún. El efecto del medio basal N6, suplementado con 2,4-D o ANA en la inducción de callo en anteras de trigo ha sido reportado anteriormente para otras variedades y coincide con los resultados obtenidos en cuanto al efecto sobre la inducción de callo (19). El análisis de varianza refleja significancia al 5%, en los tratamientos de inducción de callo. Dentro de un mismo tratamiento existe alta variación en los valores de la inducción de callo, esto se refleja en la no significancia que se observa en la prueba de medias. Este comportamiento es normal en estudios de inducción de callo (21).

CUADRO 7. Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Patzún

<u>Medios de inducción de callo</u>			
Medio basal	<u>Reguladores del crecimiento</u>		Producción de callo %
	2,4-D	ANA	
	(mg/l)		
N6	0.0	0.0	0.0
N6	2.0	0.0	2.3
N6	0.0	2.0	3.0
N6	2.0	0.5	0.0
N6	0.5	2.0	0.0
Papa II	0.0	0.0	0.0
Papa II	2.0	0.0	0.0
Papa II	0.0	2.0	0.0
Papa II	2.0	0.5	0.0
Papa II	0.5	2.0	1.0

En la variedad de trigo Villa Laura los tratamientos con sistentes en los medios basales N6 y Papa II suplementados con 2 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D mostraron el mayor porcentaje en la inducción de callo. Resultado similar ha sido reportado sobre el efecto de estos medios en la inducción de ca llo para la variedad de trigo Chris, Edwall, Pitic y DW50 (21, 23). El análisis estadístico mostró diferencias significativas al 5% entre tratamientos. El cuadro 8 muestra el efecto de los medios de inducción de callo sobre la variedad de trigo Villa Laura.

CUADRO 8. Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Villa Laura

Medios de inducción de callo			Producción de callo <u>1/</u> (%)
Medio basal	Reguladores del crecimiento 2,4-D (mg/l)	ANA	
N6	0.0	0.0	0.0c
N6	2.0	0.0	1.0b
N6	0.0	2.0	1.0b
N6	2.0	0.5	1.0b
N6	0.5	2.0	3.0a
Papa II	0.0	0.0	0.0c
Papa II	2.0	0.0	0.3bc
Papa II	0.0	2.0	0.0c
Papa II	2.0	0.5	0.0c
Papa II	0.5	2.0	1.3ab

1/ Los tratamientos que aparecen con la misma letra son iguales al 0.05 de significancia de acuerdo a la prueba de Tukey.

La mejor respuesta en la inducción de callo para la varie dad de trigo Chocoyo se obtuvo con los medios de inducción de callo, constituidos por los medios basales N6 y Papa II suplementados con 2 mg/l de 2,4-D más 0.5 mg/l de ANA o 2 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D. El efecto de los medios basales in dicados con las combinaciones de reguladores del crecimiento

que mostraron mayor inducción de callo han sido reportados para las variedades Orofen y Ciano (4,6). El análisis estadístico no muestra diferencias al 5% entre tratamientos para la variedad de trigo Chocoyo. El cuadro 9 muestra el efecto de los medios de inducción de callo para la variedad de trigo - Chocoyo.

CUADRO 9. Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Chocoyo

Medio basal	Medios de inducción de callo		Producción de callo (%)
	Reguladores del crecimiento		
	2,4-D	ANA	
	(mg/l)		
N6	0.0	0.0	3.0
N6	2.0	0.0	0.0
N6	0.0	2.0	8.3
N6	2.0	0.5	23.3
N6	0.5	2.0	0.3
Papa II	0.0	0.0	0.0
Papa II	2.0	0.0	16.0
Papa II	0.0	2.0	11.6
Papa II	2.0	0.5	16.0
Papa II	0.5	2.0	24.3

En la variedad de trigo Xequijel el tratamiento de inducción de callo consistente en el medio N6 suplementado con 2 mg/l de ANA mostró el mayor porcentaje en la inducción de callo. Sin embargo no se observó diferencia estadística al 5%. Al igual que los resultados obtenidos en las variedades reportadas anteriormente el medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA muestra la mayor eficiencia en la inducción de callo, esto ha sido reportado para otras variedades de trigo (21). El cuadro 10 muestra el efecto de los medios de inducción de callo sobre la variedad de trigo Xequijel.

CUADRO 10. Efecto de medios de cultivo en la inducción de callo de la variedad de trigo Xequijel

<u>Medios de inducción de callo</u>			
Medio basal	<u>Reguladores del crecimiento</u>		Producción de callo (%)
	2,4-D. (mg/l)	ANA	
N6	0.0	0.0	0.0
N6	2.0	0.0	1.0
N6	0.0	2.0	1.3
N6	2.0	0.5	0.0
N6	0.5	2.0	0.3
Papa II	0.0	0.0	0.0
Papa II	2.0	0.0	0.3
Papa II	0.0	2.0	0.0
Papa II	2.0	0.5	0.0
Papa II	0.5	2.0	1.0

La variedad de trigo Chivito no presentó respuesta en los medios de inducción de callo, que estuvieron constituidos por los medios basales N6 y Papa II, suplementados con reguladores del crecimiento. La diferencia entre las diferentes variedades en la inducción de callo y la no respuesta de algunas variedades ya ha sido reportada con anterioridad (21,22,26).

## 2. Regeneración de plantas

En la regeneración de plantas se utilizaron callos de color blanco amarillento con una consistencia friable y con un tamaño alrededor de 2 mm, provenientes de las variedades de trigo Villa Laura, Chocoyo, Patzún y Xequijel.

En las variedades de trigo Villa Laura, Chocoyo y Xequijel no se observó respuesta en la regeneración de plantas, lo cual confirma lo reportado sobre la influencia de los diferentes genotipos en la regeneración de plantas y sus diferentes requerimientos dentro de una misma especie. ( 3 )

En el cuadro 10 se muestra la respuesta a los medios de regeneración de plantas de la variedad de trigo Patzún. El medio de regeneración MS sin reguladores del crecimiento o suplementado con 1 mg/l de AIA más 0.5 mg/l de BA mostraron un mayor porcentaje en la regeneración de plantas. Lo anterior está acorde con la combinación de reguladores del crecimiento que mejor resultado mostró en la regeneración de plantas para las variedades Highbury, Sicco, Ciano, Sinton (1,2,6,23,24)

Asímismo el cuadro 11 muestra la respuesta a la morfogénesis inducida por medios de regeneración de plantas, se observa que no es necesario el uso de reguladores del crecimiento o cuando se utilizan se hace en bajas concentraciones.

CUADRO 11. Efecto de medios de cultivo en la regeneración de plantas en la variedad de trigo Patzún

Medio de regeneración	Reguladores del crecimiento		Regeneración de plantas (%)	
	AIA	BA	Verdes <sup>1/</sup>	Albinas
Medio basal	(mg/l)			
MS	0.0	0.0	61.53a	38.47
MS	1.0	0.5	66.66a	33.34
MS	2.0	0.0	0.0b	0.0
MS	2.0	0.5	0.0b	0.0

<sup>1/</sup> Los tratamientos que aparecen con la misma letra son iguales al 0.05 de significancia, de acuerdo a la prueba de Tukey.



CUADRO 12. Medios de inducción de callo que regeneraron plantas en la variedad de trigo Patzún

Medio basal <u>1/</u>	Medio de inducción de callo		Producción callo (%)	Regeneración de plantas (%)	
	Reguladores del crecimiento	ANA		Verdes	Albinas
	2,4-D (mg/l)				
N6	2.0	0.0	2.3	66.66	33.34
N6	0.0	2.0	3.0	61.53	38.47

1/ Anteras cultivadas en el medio basal Papa II suplementado con 0.5 mg/l de 2,4-D más 2 mg/l de ANA que indujeron callo, no regeneraron plantas.

Las plantas que se utilizaron para el cultivo de anteras - fueron obtenidas del cultivo de las variedades bajo condiciones ambientales no controladas en el campo. Todas fueron obtenidas de siembras realizadas en la misma fecha, por lo que todas las anteras fueron expuestas a las mismas condiciones ambientales y no se tuvo un control de las condiciones de suelo y humedad. Se reporta que existe efecto de las condiciones ambientales bajo las cuales se cultivan las plantas de donde se obtienen las anteras (25). En este estudio no se evaluó esta condición.

En los cuadros 12 y 13 se muestra que la regeneración de plantas verdes en el medio MS sin reguladores del crecimiento se tuvo en los callos provenientes del medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA, el efecto del medio de inducción de callo sobre la regeneración de plantas ha sido reportado con anterrioridad y se observa en el presente estudio (21).

Se muestra además que el mayor porcentaje de regeneración de plantas verdes se obtuvo en el medio MS suplementado con - 1 mg/l de AIA más 0.5 mg/l de BA, de callos provenientes del me

dio basal N6 suplementado con 2 mg/l de 2,4-D. Este resultado confirma lo reportado por otros autores, quienes indican que las altas o bajas concentraciones de 2,4-D influyen en la regeneración de plantas y ésta se logra utilizando combinaciones de AIA y BA (3,6,21)

El cuadro 13 muestra las variedades de trigo evaluadas - que produjeron callo, el medio basal N6 suplementado con reguladores del crecimiento presentó la mayor cantidad de callo inducido para las variedades Patzún, Villa Laura y Xequijel. Para la variedad de trigo Chocoyo el medio basal Papa II suplementado con 2 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D mostró el 24.3% de inducción de callo, mientras que el medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de 2,4-D más 0.5 mg/l de ANA produjo el 23.3% de callo. En la variedad de trigo Villa Laura el tratamiento de inducción de callo consistente en el medio N6 suplementado con 2 mg/l ANA más 0.5 mg/l de 2,4-D mostró el mayor porcentaje en la inducción de callo. En general se puede afirmar que el medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA produce alta respuesta en la inducción de callo en las variedades Patzún y Xequijel.

Asímismo muestra que el mejor medio basal para inducir callo en la variedad Patzún es N6 el cual debe suplementarse con los reguladores del crecimiento 2,4-D o ANA en concentración de 2 mg/l. Se reporta que es más conveniente utilizar ANA para lograr plantas sin utilizar reguladores del crecimiento en el medio de regeneración (6).

La respuesta diferente en la inducción de callo de los medios basales N6 y Papa II en las variedades evaluadas se debe a que las concentraciones de Nitrato de Potasio ( $KNO_3$ ) son mayores en el medio N6, lo cual está acorde a lo reportado en

otros estudios, en que la concentración de  $\text{KNO}_3$  afecta significativamente la frecuencia de inducción de callo. (9)

El proceso de aclimatación de plantas utilizado en este estudio no presentó ningún tipo de dificultad obteniéndose un 100% de plantas verdes aclimatadas bajo condiciones de invernadero.

CUADRO 13. Resumen de los resultados obtenidos en las variedades de trigo Patzún, Villa Laura, Chocoyo y Xequijel en los medios de inducción de callo y de regeneración de plantas

Variedad	Medio de inducción de callo			Producción de callo(%)	Medio de regeneración				
	Medio basal	Reguladores del crecimiento			Medio basal	Reguladores del crecimiento		Regeneración de plantas	
		2,4-D (mg/l)	ANA			AIA	BA (mg/l)	Verdes	Albinas
							(%)		
Patzún	N6	0.0	2.0	3.0	MS	0.0	0.0	61.53	38.47
	N6	2.0	0.0	2.3	MS	1.0	0.5	66.66	33.34
	Papa II	0.5	2.0	1.0					
Villa Laura	N6	0.5	2.0	3.0					
	Papa II	0.5	2.0	1.3					
	N6	2.0	0.0	1.0					
	N6	0.0	2.0	1.0					
	N6	2.0	0.5	1.0					
Chocoyo	Papa II	0.5	2.0	24.3					
	N6	2.0	0.5	23.3					
	Papa II	2.0	0.0	16.0					
	Papa II	2.0	0.5	16.0					
	Papa II	0.0	2.0	11.0					
	N6	0.0	2.0	8.3					
	N6	0.0	0.0	0.3					
Xequijel	N6	0.0	2.0	1.3					
	N6	2.0	0.0	1.0					
	Papa II	0.5	2.0	1.0					
	Papa II	2.0	0.0	0.3					
	N6	0.5	2.0	0.3					

## VII. CONCLUSIONES

Después de haber analizado los resultados obtenidos en ésta investigación, las siguientes conclusiones son válidas para las condiciones en las cuales se llevó a cabo el experimento, utilizando los medios basales N6, Papa II y MS suplementados con las diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento utilizados en el presente estudio.

1. El medio basal N6 suplementado con 2 mg/l de ANA es el medio más adecuado para inducir callo en las variedades de trigo: Patzún y Xequijel.
2. Existe diferente respuesta entre variedades de trigo a la inducción de callo, de las variedades evaluadas la variedad Chivito es difícil de utilizar en el cultivo de anteras, ya que no presenta respuesta a la inducción de callo.
3. La variedad de trigo Patzún presenta respuesta a la regeneración de plantas. Las variedades Villa Laura, Xequijel y Chocoy no presentan respuesta a la regeneración de plantas.
4. Para la regeneración de plantas en la variedad Patzún no es necesario utilizar reguladores del crecimiento en el medio de regeneración, el medio de inducción de callo tiene efecto en la regeneración.
5. Tanto en la inducción de callo como en la regeneración de plantas de las diferentes variedades evaluadas, existen diferencias en requerimientos por ser diferentes genotipos dentro de la misma especie.

## VIII.. RECOMENDACIONES

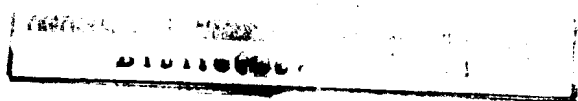
1. Realizar estudios similares a éste, utilizando otras variedades de trigo y los mismos medios basales de inducción de callo, suplementados con otras combinaciones hormonales, con el objeto de conocer la respuesta de estos materiales y poder utilizar la información con fines de programas de mejoramiento.
2. Efectuar estudios de evaluación de factores como concentraciones de sucrosa, pretratamiento en frío, en las variedades que presentaron mejores resultados, con el fin de aumentar los porcentajes de inducción de callo y regeneración de plantas.
3. Llevar a cabo estudios de ploidia de las plantas obtenidas con la finalidad de diploidizarlas.
4. Iniciar la producción masiva de plantas con la finalidad de iniciar programas de mejoramiento.
5. Establecer otros métodos de regeneración de plantas a partir del cultivo de anteras en trigo; tomando como base los resultados obtenidos en esta investigación, con la finalidad de aumentar el porcentaje de regeneración de plantas.

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. AGACHE, S. et al. 1988. Studies of genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. *Plant Breeding (Inglaterra)* 100:26-33.
2. ANDERSEN, S.B.; DUE, T.K.; OLESEN, A. 1987. The response of anther culture in a genetically wide material of - winter wheat (Triticum aestivum L.). *Plant Breeding (Inglaterra)* 99:181-186.
3. ARMSTRONG, T.A.; METZ, S.G.; MASCIA, P.N. 1987. Two regeneration system for the production of haploid plant - from wheat anther culture. *Plant Science (Irlanda)* 51: 231-237.
4. CHU, C.C.; HILL, R.D. 1988. An improved anther culture - method for obtaining higher frequency of pollen embryos in Triticum aestivum L. *Plant Science (Irlanda)* 55:175-81.
5. CRUZ S., J.R. DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala, a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
6. DATTA, S.K.; WENZEL, G. 1987. Isolated microspore derived plant formation via embryogenesis in Triticum aestivum L. *Plant Science (Irlanda)* 48:49-54.
7. DE BUYSER, J.; HENRY, Y. 1986. Wheat: production of haploid performance of double haploid, and yield trials. *Biotechnology in agriculture and forestry*. Berlín, Springer-Verlag. 219 p.
8. ESTADOS UNIDOS. DEPARTMENT OF DEFENSE. s.f. Guatemala city maps, Guatemala, no. E954X Guatemala 01. Washington D.C. U.S. Army Topographic Commander. Esc. 1: 12,500,000 Color.
9. FENG, G.H.; OUYANG, J.W. 1988. The effects of KNO<sub>3</sub> concentration in callus induction medium for wheat anther culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (Holanda)* 12:3-12.
- 10 GAUTHERET, R.J. 1959. *La culture des tissus végétaux, techniques et réalisations*. Paris, Masson. s.p.

citado por Villalobos, V.M. 1986. Fundamentos técnicos del cultivo de tejidos vegetales. México, Colegio de Postgraduados, Centro de Genética, Laboratorio de Biotecnología. 192 p.

11. GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. 1988. Estadística de productos agrícolas. Guatemala. 47 p.
12. ----- . INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS. 1979. El cultivo del trigo en la región I. Guatemala, ICTA. Folleto Técnico 8. 16 p.
13. ----- . 1984. Informe técnico, programa de trigo región I. Guatemala. 53 p.
14. ----- . 1986. Programa nacional del trigo. Guatemala. 62 p.
15. ----- . 1987. Informe técnico, programa nacional de trigo región I. Guatemala. 55 p.
16. ----- . INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA e HIDROLOGIA. 1988. Atlas climatológico de la república de Guatemala. Guatemala. 21 p.
17. HAN, H. 1978. Wheat improvement through anther culture. Beijing, China, Academia Sínica, Institute of Genetics. 219 p.
18. HENRY, Y. et al. 1984. Wheat microspore embryogenesis during in vitro anther culture. Theor. Appl. Genet. (EE.UU.) 67:439-442.
19. JONES, A.M.; PETOLINO. J.F. 1988. Effects of support medium on embryo and plant production from cultured of soft-red winter wheat (Triticum aestivum L.). Plant. Cell, Tissue and Organ Culture (Holanda) 12:253-261.
20. KHAN , S.H. 1982. Technique for staining rice-chromosomes, cytología. s.n.t. 1 p.
21. KONZAK, C.F.; ZHOU, H. 1988. Anther culture methods for haploid production in wheat. Washington, Washington State University, College of Agriculture and Home Economics Research Center. Information Paper no. 8802-18. 19 p.
22. LIANG, G.H.; XU, A.; TIANG-H. 1987. Direct generation of wheat haploids via anther culture. Crop Sci (EE.UU) 27:336-339.





23. MARSOLAIS, A.A.; SEGUIN-SWARTZ, G.; KASHA, K.J. 1984. The influence of anther cold pretreatment and donor plant genotypes on "in vitro" androgenesis in wheat (Triticum aestivum L.). Plant Cell and Organ Culture (Holanda) 3:69-79.
24. OUYANG, J.W.; ZHOU, S.M.; JIA, S.E. 1984. The response of anther culture temperature in wheat (Triticum aestivum L.). Theor-Appl. Genet (EE.UU) 67:101-109.
25. OUYANG, J.W. et al. 1987. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. Plant Science - (EE.UU) 49:145-148.
26. PICARD, E.J.; DE BUYSER, J. 1973. Obtention of plantules haploids of Triticum aestivum L. a partir de cultivos de anteras in vitro. Acad. Sci. (EE.UU.) 277D: 1463-1466.
27. SCHILDE, L.; SCHIMIEDICHE, P. 1984. El cultivo de tejidos, su pasado, presente y futuro. Lima, Perú, Centro Internacional de la Papa. Circular v.11. 7 p.
28. SCHWANN, T.H. 1839. Mikroskopische untersuchungen uber die ubereininstimmung in der struktur und dem wachstum der tiere und pflanzen. Leipzig, Englemann, Oswalds Klassiker der exakten wissenschaften. s.p.
- citado por: Villalobos, V.M. 1986. Fundamentos técnicos-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. México, Colegio de Postgraduados, Centro de Genética, Laboratorio de Biotecnología. 192 p.
29. SIMMONS, C.S.; TARANO, J.M.; PINTO, J.H. 1959. Clasificación a nivel de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulzona. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1,000 p.
30. THORPE, T.A. 1981. Plant tissue culture; methods and applications in agriculture. EE.UU, Academic Press. 379 p.
31. VILLALOBOS, V.M. 1986. Fundamentos técnico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Chapingo, México, Colegio de Postgraduados, Centro de Genética, Laboratorio de Biotecnología. 192 p.

32. VOCHTING, H. 1878. Uber organbildung im pflanzereich.  
Bonn, Verlag Von Max Cohen & Sohn. s.p.

citado por: Villalobos, V.M. 1986. Fundamentos técnico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. - Chapingo, México, Colegio de Postgraduados, Centro de Genética, Laboratorio de Biotecnología. 192 p.

33. WAYNE, W.D. 1978. Applied non parametric statistics - EE.UU., Georgia State University. 503 p.
34. WHITE, P.R. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomate root tips in a liquid medium. Plant Physiol. (EE.UU) 9:585-600.



Vo.Bo.

*P. Atualde*

**APENDICE**

CUADRO 1. Análisis de varianza del efecto de medios de cultivo en la inducción de callo y regeneración de plantas en las variedades de trigo Patzún, Villa Laura, Chocoyo y Xequijel

Variedad	Inducción de callo		Regeneración de Plantas	
	1/ C.M.	C.V.2/	C.M.	C.V.
Patzún	2.286*	260.51	2.371*	
Villa Laura	1.600*	181.88		
Chocoyo	1.60460N.S.	212.60		
Xequijel	0.480 N.S.	353.55		

1/ C.M. = Cuadrado medio

2/ C.V. = Coeficiente de variación

\* = Significancia al 0.05% de prueba de medias de Tukey

N.S. = No significancia al 0.05% de prueba de medias de Tukey

CUADRO 2. Prueba de Tukey para inducción de callo de la variedad de trigo Patzún. (GLE = 40,  $\alpha=0.05$ )

	Tratamientos		Media producción de callo
	2,4-D (Mg/l)	ANA	
N6	0.0	2.0	1.80a
N6	2.0	0.0	1.40a
Papa II	0.5	0.0	0.60b
N6	0.0	0.0	0.00c
N6	0.5	2.0	0.00c
N6	2.0	0.5	0.00c
N6	2.0	0.5	0.00c
Papa II	2.0	0.0	0.00c
Papa II	0.0	2.0	0.00c
Papa II	2.0	0.5	0.00c
Papa II	0.0	0.0	0.00c

CUADRO 3. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis. Variedad Patzún

J	Variabes	nJ	Rj	Rj/nj
1	n1	10	557.5	31080.63
2	n2	10	544.5	29648.03
3	n3	10	712.5	50765.63
4	n4	10	666	44355.6
5	n5	10	405	29648.03
6	p1	10	405	16402.5
7	p2	10	405	16402.5
8	p3	10	405	16402.5
9	p4	10	405	16402.5
10	p5	10	405	16402.5
		100		267510.4

Grados de libertad = 9      Valor de H = 30.398  
 Probabilidad = 3.75

CUADRO 4. Prueba de Tukey para inducción de callo de la variedad de trigo Villa Laura. (GLE = 40,  $\alpha = 0.05$ )

	Tratamiento		Media producción de callo
	2,4-D (mg/l)	ANA	
N6	0.5	2.0	1.80a
Papa II	0.5	2.0	0.80b
N6	0.0	2.0	0.60b
N6	2.0	0.5	0.60b
N6	2.0	0.0	0.60b
Papa II	2.0	0.0	0.20b
N6	0.0	0.0	0.00c
Papa II	0.0	2.0	0.00c
Papa II	2.0	0.5	0.00c
Papa II	0.0	0.0	0.00c

CUADRO 5. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis. Variedad Villa Laura

Variables	nj	Rj	Rj <sup>2</sup> /nj
n1	10	550.5	30305.03
n2	10	638	40704.4
n3	10	541.5	29322.23
n4	10	586	34339.6
n5	10	534	28515.6
p1	10	440	19360
p2	10	440	19360
p3	10	440	19360
p4	10	440	19360
p5	10	440	19360
	100		259986.9

Grados de libertad = 9  
 Valor de H = 17.280  
 Probabilidad = 4.45

CUADRO 6. Prueba de Tukey para la regeneración de plantas de la variedad de trigo Patzún. (GLE = 36,  $\alpha=0.05$ )

Medio Basal	Medios de Regeneración Reguladores del crecimiento		Media regeneración de plantas
	AIA	BA (mg/l)	
MS	0.0	0.0	1.30a
MS	1.0	0.5	1.20a
MS	2.0	0.0	0.0b
MS	2.0	0.5	0.0b

CUADRO 7. Datos primarios originados de la investigación en la variedad de trigo Patzún

Repetición	Inducción de callo									
	Tratamientos									
	(# de callos)									
#	1		2		3		4		5	
	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII
1	0	0	4	0	5	0	0	0	0	0
2	0	0	3	0	2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

P = Papa II

CUADRO 8. Datos primarios originados de la investigación en la variedad de trigo Villa Laura

Repetición	Inducción de callo									
	Tratamientos									
	(# de callos)									
#	1		2		3		4		5	
	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII
1	0	0	1	0	0	0	0	0	4	4
2	0	0	1	0	2	0	0	0	2	1
3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
4	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

CUADRO 9. Datos primarios originados de la investigación en la variedad de trigo Chocoyo

Repetición	Inducción de callo									
	Tratamientos									
	(# de callos)									
#	1		2		3		4		5	
	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII
1	0	0	0	6	4	0	0	0	0	46
2	0	0	0	0	1	1	0	33	0	0
3	9	0	0	0	0	16	60	6	1	23
4	0	0	0	40	20	18	0	7	0	4
5	0	0	0	2	0	0	10	2	0	0

P = Papa II



CUADRO 10. Datos primarios originados de la investigación en la  
variedad de trigo Xequijel

Repetición	Inducción de callo									
	Tratamientos (# de callos)									
	1		2		3		4		5	
#	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII	N6	PII
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3
4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0

CUADRO 11. Datos primarios originados de la investigación en la  
Variedad de trigo Patzún

Repetición	REGENERACION DE PLANTAS							
	Tratamientos (# de callos)							
	1		2		3		4	
#	Verdes	Alb.	Verdes	Alb.	Verdes	Alb.	Verdes	Alb.
1	2	0	1	0	0	0	0	0
2	2	0	1	0	0	0	0	0
3	2	0	3	0	0	0	0	0
4	0	1	0	2	0	0	0	0
5	0	1	0	2	0	0	0	0
6	0	1	1	0	0	0	0	0
7	0	0	1	0	0	0	0	0
8	2	0	1	0	0	0	0	0
9	0	1	0	0	0	0	0	0
10	0	1	0	0	0	0	0	0

Alb. = Albinas




UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA: EVALUACION DE LA RESPUESTA DE CINCO VARIEDADES DE TRIGO (Triticum aestivum L.) A LA INDUCCION DE CALLO Y REGENERACION DE PLANTAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO A PARTIR DE CULTIVO DE ANTERAS.

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: JOSE HUMBERTO CALDERON DIAZ  
CARNET No. 83-18455.

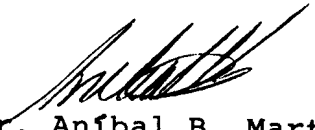
Ha sido evaluada por los siguientes profesionales: Ing. Agr. Fernando Rodríguez Bracamonte, Ing. Agr. Domingo Amador, Ing. Agr. José Jesús Chonay e Ing. Agr. Ariel Ortíz.

El Asesor y Autoridades de la Facultad de Agronomía hacen constar que ha cumplido con las normas universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

  
Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
ASESOR

  
Vo.Bo. Ing. Agr. Hugo A. Tobías  
DIRECTOR IIA

I M P R I M A S E:

  
Ing. Agr. Aníbal B. Martínez M.  
DECANO



HT/dydea