

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

EFFECTO DE TRES CONDICIONES AMBIENTALES DE CULTIVO DE PLANTAS
DONANTES EN LA RESPUESTA AL CULTIVO DE ANTERAS DE TRES GENOTIPOS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L).

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

HERMAN ESTUARDO VELASQUEZ GODINEZ

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, AGOSTO DE 1,996.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

DR. JAFETH ERNESTO CABRERA FRANCO.

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr.	JOSE ROLANDO LARA ALECIO.
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr.	JUAN JOSE CASTILLO MONT.
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Agr.	WILLIAM ROBERTO ESCOBAR LOPEZ.
VOCAL TERCERO:	Ing. Agr.	CARLOS ROBERTO MOTTA DE PAZ.
VOCAL CUARTO:	P.A.	HENRY ESTUARDO ESPAÑA VILLEDA.
VOCAL QUINTO:	Br.	MYNOR JOAQUIN BARRIOS OCHAETA.
SECRETARIO:	Ing. Agr.	GUILLERMO EDILBERTO MENDEZ BETETA.

Guatemala agosto de 1,996

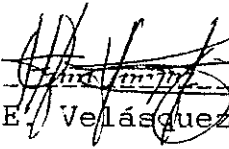
Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala.

En cumplimiento con lo establecido en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**EFFECTO DE TRES CONDICIONES AMBIENTALES DE CULTIVO DE PLANTAS
DONANTES EN LA RESPUESTA AL CULTIVO DE ANTERAS DE TRES GENOTIPOS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L).**

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado.

Respetuosamente:



Herman E. Velásquez Godínez

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS: Supremo Creador para quien sea la gloria y la honra por siempre.

MIS PADRES:

María Luisa Godínez Velásquez
Herman A. Velásquez (Q.E.P.D.)
Como una muestra de mi eterno agradecimiento por sus esfuerzos y sacrificios de toda su vida para mi superación.

MIS HERMANOS:

Oliver Froilan Velásquez Godínez.
Billy Baldwin Velásquez Godínez.
Por el apoyo y amor fraternal toda la vida y como un estímulo a su superación.

MIS ABUELOS:

Rufina Velásquez de Fuentes
Brigido Fuentes.
Bernarda Godínez de Velásquez.
Fabian Velásquez.
Por su orientación han sido mi inspiración a ser un hombre de bien.

MIS TIOS:

Por el cariño, apoyo y consejos brindados en el transcurso de mi vida.

TESIS QUE DEDICO

A:

Mi Patria Guatemala.

Mis padres Herman A. Velásquez Godínez. (Q.E.P.D.)

María Luisa Godínez

Mis hermanos Oliver F. Velásquez Godínez.

Billy B. Velásquez Godínez.

Universidad de San Carlos de Guatemala.

Facultad de Agronomía

Dirección General de Energía Nuclear específicamente a
la Sección Agropecuaria.

Mis compañeros de trabajo Luis Molina, Juan José
López, Antonieta Alfaro, Maritza García, Raul Macz,
Roberto Estrada, Victor Hugo Castellanos, Isidro Chen,
William Sánchez.

Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA),
especialmente al Programa de Arroz de los Centros
Experimentales en Producción de Cuyuta, Escuintla y
Los Amates, Izabal.

CONTENIDO

	Página
INDICE	i
INDICE DE FIGURAS	ii
INDICE DE CUADROS	iii
RESUMEN	iv
1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	4
3. JUSTIFICACION	5
4. MARCO TEORICO	7
4.1. MARCO CONCEPTUAL	7
4.1.1. Principios básicos del cultivo de anteras	7
4.1.2. Características de las plantas propagadas in vitro	8
4.1.3. Aplicaciones del cultivo de anteras	8
4.1.4. Condiciones físicas de incubación para la inducción de callos y diferenciación de plantas	9
4.1.5. Factores que influyen en el cultivo de anteras	10
4.1.6. Ventajas del cultivo de anteras	16
4.1.7. Desventajas del cultivo de anteras	18
4.1.8. Investigación para el mejoramiento del arroz en Guatemala	18
4.2. MARCO REFERENCIAL	20
4.2.1. Localización y características de los lugares de cultivo de las plantas donantes	20
4.2.2. Materiales experimentales	23
5. OBJETIVOS	25
6. HIPOTESIS	25
7. METODOLOGIA	26
8. RESULTADOS Y DISCUSION	34
9. CONCLUSIONES	51
10. RECOMENDACIONES	52
11. BIBLIOGRAFIA	53
12. ANEXOS	56

FIGURAS

	Página
1. Efecto de tres diferentes localidades en las cuales se cultivan las plantas donantes de anteras	37
2. Respuesta a la formación de callo a partir de anteras de tres genotipos de arroz	40
3. Regeneración de plantas verdes a partir de callos provenientes de tres localidades	44
4. Regeneración de plantas verdes de tres genotipos de arroz en distintas localidades	46
5. Eficiencia de regeneración de plantas verdes de arroz por localidad	48
6. Eficiencia de regeneración de plantas verdes de arroz por genotipo	50

CUADROS

	Página
1. Prueba de Normalidad "Saphiro-Wiks" para el porcentaje de inducción de callos de arroz	35
2. Respuesta a la Inducción de callos por genotipo y la localidad	36
3. Respuesta a la Regeneración de plantas por genotipo y localidad	43
4A. Formulación del medio de inducción de callo y el medio de regeneración de plantas	57
5A. Resultados del porcentaje de inducción de callos por variedad de arroz y localidad	58
6A. Resultados del porcentaje de inducción de callos por variedad de arroz y localidad con datos transformados con arcoseno de " x "	58
7A. Análisis de varianza para el porcentaje de callos para tres genotipos de arroz cultivados en tres diferentes localidades	59
8A. Prueba de tukey para el porcentaje de inducción de callos para tres genotipos de arroz	59
9A. Resultados de la prueba de tukey efectuado para las modalidades del factor localidades para la inducción de callos	59
10a. Resultados de la prueba de tukey efectuado para la interacción de las modalidades del factor localidades y las modalidades del factor variedades de arroz	60

EFFECTO DE TRES CONDICIONES AMBIENTALES DE CULTIVO DE PLANTAS
DONANTES EN LA RESPUESTA AL CULTIVO DE ANTERAS DE TRES GENOTIPOS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L).

EFFECT OF THREE ENVIRONMENTAL CONDITIONS FOR GROWING DONATE PLANTS
IN RESPONSE TO ANTHOR CULTURE OF THREE GENOTYPES OF RICE
(*Oryza sativa* L)

RESUMEN

En el estudio se evaluó el efecto de las condiciones ambientales de cultivo de plantas donantes de tres genotipos de arroz (CT-6241, Precozicta, Virginia) en su respuesta al cultivo de anteras. Las plantas donantes de anteras de arroz fueron cultivadas en tres diferentes localidades (El Centro de Producción Agrícola ICTA-Cristina, Izabal; El Centro de Producción Agrícola ICTA-Cuyuta, Escuintla y bajo condiciones de invernadero de la Dirección General de Energía Nuclear en la ciudad de Guatemala).

El propósito de la investigación fue determinar la respuesta de los genotipos de arroz a la inducción de callo y regeneración de plantas verdes en función de la localidad en la cual se cultivaron las plantas donantes de anteras. Se utilizó un diseño experimental en Completo Azar con Arreglo Factorial (3x3) con 5 repeticiones.

Las variables respuestas fueron el porcentaje de inducción de callos, el porcentaje de regeneración de plantas verdes y eficiencia en base a anteras. Los valores transformados del porcentaje de inducción de callos fueron sometidos a un análisis de varianza y se determinó que existen diferencias significativas entre los genotipos y las localidades, por lo que se realizó una prueba de comparación múltiple de medias con el estadístico de Tukey al 5% de significancia. También se le aplicó la prueba de normalidad de Saphiro-Wiks.

En los datos de regeneración de plantas no se efectuó análisis estadístico, simplemente se expresan los valores promedio en porcentaje, debido al bajo número de callos formados en algunos genotipos no permitió hacer repeticiones.

El genotipo CT-6241 fue superior en la inducción de callo a partir de anteras en comparación a los otros dos genotipos evaluados y fue además el genotipo que indujo el mayor número de plantas verdes regeneradas.

Las anteras derivadas de las plantas cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal tuvieron el mayor porcentaje de inducción de callo, y de los callos derivados de las anteras provenientes de plantas cultivadas en condiciones de invernadero en la localidad de Guatemala se obtuvo el mayor porcentaje de regeneración de plantas verdes.

1. INTRODUCCION

El arroz es uno de los cereales de la dieta alimenticia de la población guatemalteca, constituye una fuente rica en carbohidratos. Con el desarrollo de la genética y su aplicación al fitomejoramiento se han obtenido variedades de mayor rendimiento y de mejor calidad, adaptadas a diferentes condiciones climáticas.

El cultivo de tejidos vegetales se usa cada vez más como técnica complementaria del mejoramiento de plantas en la agricultura. Para lograr un incremento en el rendimiento de los cultivos por unidad de área se hace necesario el uso de metodologías de mejoramiento adecuadas para la obtención de variedades mejoradas y la evaluación previa de estas variedades antes de ser utilizadas comercialmente en forma intensiva.

El método más común que se utiliza para la producción de plantas doble haploides es el cultivo de anteras. El uso de doble haploides permite al fitomejorador la reducción del ciclo de mejoramiento de plantas. El cultivo de anteras permite la obtención de plantas haploides y de líneas doble haploides homocigotas a partir del cultivo in vitro de anteras que contienen granos de polen en estado inmaduro.

El cultivo de anteras de arroz comprende tres fases: 1) inducción de callos a partir de los granos de polen inmaduros contenidos en la antera, 2) la regeneración de plantas a partir de estos callos, 3) la adaptación y trasplante de las plantas al suelo. En la fase de inducción de callos, se esterilizan y se siembran las anteras de arroz en el medio que será utilizado para que dichas anteras formen callos.

Una vez formados los callos se trasladan al medio de regeneración y se mantienen en una cámara de crecimiento con fotoperíodo de luz y temperatura controlada.

Entre los factores que influyen en el cultivo de anteras de arroz están el genotipo, el estado de desarrollo del polen al iniciarse el cultivo, el medio de cultivo, el tratamiento de las anteras antes del cultivo, la pared de las anteras, las condiciones ambientales y el estado fisiológico de la planta donante.

Con respecto a este último factor, las condiciones de crecimiento de las plantas donantes, tales como el fotoperíodo, la intensidad de la luz, la temperatura y la nutrición mineral influyen en el desarrollo de las microsporas en el cultivo in vitro. Por ello fue necesario evaluar el efecto de las condiciones ambientales de las diferentes zonas productoras de arroz y las condiciones de invernadero ubicado en la ciudad de Guatemala en la respuesta de las anteras al cultivo in vitro.

Por lo anteriormente descrito, el programa de arroz del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA) ejecuta un proyecto colaborativo con la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN) con el objetivo de reducir el tiempo que implica estabilizar materiales segregantes de arroz, por lo que se consideró de importancia realizar el presente estudio, el cual contempló investigar la respuesta de las anteras al cultivo in vitro de plantas cultivadas en tres condiciones ambientales diferentes.

La fase de campo se realizó de junio a noviembre de 1,995 en tres diferentes localidades del país, una de ellas fue la Estación Experimental "ICTA-Cristina", Los Amates, Izabal; otra localidad fue la Estación Experimental del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas en Cuyuta, Escuintla, y la última localidad fue el invernadero de la Dirección General de Energía Nuclear, localizado en la Ciudad de Guatemala.

Los resultados obtenidos fueron analizados determinándose el efecto de las localidades en donde se cultivan las plantas donantes de arroz en la inducción de callo y regeneración de plantas verdes de tres genotipos de arroz.

2. DEFINICION DEL PROBLEMA.

La mayoría de variedades de arroz cultivadas en Guatemala pertenecen a la subespecie índica. Este grupo posee un bajo porcentaje de regeneración de plantas a partir del cultivo de anteras, lo cual hace necesario realizar investigaciones que contribuyan a mejorar la eficiencia de esta técnica, con el propósito de colaborar con el fitomejorador para incorporar las características deseadas que considere, y así llegar a establecer programas de mejoramiento genético utilizando el cultivo in vitro.

La respuesta al cultivo de anteras para el tipo de arroz índica según CIAT (4) en diferentes medios de inducción varia, observándose los mejores resultados en el medio " NL " con un 70% de inducción de callo en relación a los otros medios utilizados. En cuanto al porcentaje de plantas verdes por anteras en distintos medios de cultivo (Papa-2, N6, N6m, NL) el que mejor inducción ha presentado es el medio " NL ".

En una evaluación de la respuesta al cultivo de anteras en las variedades más usadas en Guatemala Macz (16) reporta para el genotipo Precozieta un porcentaje de inducción de callos de 2.83% y para el genotipo Virginia 0%.

Se consideró de importancia realizar este estudio para conocer cómo las condiciones ambientales de tres diferentes localidades del país afectan la respuesta de las anteras de acuerdo al lugar en donde se desarrolló la planta donante de arroz, para poder determinar cuál es la localidad más adecuada que favoreciera al cultivo in vitro.

3. JUSTIFICACION

El cultivo de anteras es muy importante, ya que ha hecho posible el desarrollo de plantas con características deseables dentro de períodos cortos y la selección de nuevas líneas a partir de interespecies F_1 o F_2 , por esta razón se utiliza para el mejoramiento de variedades comerciales de arroz. Además permite renovar continuamente los materiales de arroz a liberar debido a la susceptibilidad de las mismas a enfermedades, principalmente a Pyricularia sp.

Por ello, es de gran interés optimizar las condiciones de inducción de callo y regeneración de plantas para que así el fitomejorador pueda hacer un uso más eficiente de esta técnica, en la introducción de características genéticas deseables en el cultivo.

Con el cultivo de anteras se logran obtener plantas haploides mediante la inducción de la embriogénesis u organogénesis a partir de granos de polen. Las células del polen de los híbridos F_1 , contienen la dotación genética de las plantas paternas y las recombinaciones esperadas según las proporciones mendelianas, la producción de plantas homocigóticas doble haploides, es una de las aplicaciones más importantes del cultivo de anteras al fitomejoramiento.

Otra ventaja del cultivo de anteras es que permite al fitomejorador hacer más eficiente el proceso de selección. En Guatemala actualmente se utiliza esta técnica en un proyecto colaborativo ICTA-DGEN, con el objetivo de reducir el tiempo que implica estabilizar los materiales segregantes de arroz desde la generación F_2 .

El cultivo de anteras está afectado por el genotipo, el estado de desarrollo del polen al iniciarse el cultivo, el medio de cultivo, el tratamiento de las anteras antes del cultivo, la pared de las anteras y las condiciones en que se desarrolla la planta donante.

En relación a este último factor y con el propósito de incrementar la eficiencia de esta técnica, en el presente estudio se evaluó la respuesta al cultivo de anteras de plantas donantes cultivadas en tres diferentes localidades con diferentes condiciones ambientales.

4. MARCO TEORICO

4.1. MARCO CONCEPTUAL:

4.1.1. Principios Básicos del Cultivo de Anteras:

El cultivo de anteras de arroz comprende tres fases: 1) inducción de callos a partir de los granos de polen inmaduros contenidos en la antera, 2) la regeneración de plantas a partir de estos callos, 3) adaptación y trasplante de las plantas a suelo.

Como fuente de anteras se utilizan botones florales completamente cerrados. La superficie externa de los botones se desinfecta con solución diluida de hipoclorito de sodio.

Posteriormente se retiran los sépalos y pétalos, y los estambres se transfieren a una caja de petri estéril. La antera se secciona para verificar el estado de desarrollo de los granos de polen y en caso de que sea el apropiado, se eliminan cuidadosamente. Cuando los botones florales son demasiado pequeños puede usarse un estereomicroscopio y pinzas de disección de punta fina. (8)

Durante el período de incubación, las anteras se abren por la presión ejercida por el crecimiento de los embriones o del tejido calloso originado en los granos de polen. Los embriones se desarrollan y forman plántulas que emergen de las anteras.(8)

Cuando alcanzan un tamaño de 3 a 5 cm es conveniente transferirlas individualmente a un medio de cultivo que favorezca su desarrollo y posteriormente pueden colocarse en suelo. Las plántulas recién transferidas al suelo deben mantenerse de preferencia en un ambiente con alta humedad relativa hasta que las raíces se desarrollen adecuadamente. (8)

4.1.2. Características de las plantas propagadas in vitro:

Las plantas propagadas in vitro difieren de las plantas propagadas convencionalmente en lo siguiente: Las plantas in vitro son cultivadas bajo condiciones de asepsia, han permanecido en un ambiente controlado y su crecimiento requiere de fuentes de carbono exógeno. Aun cuando las plantas puedan parecer fisiológicamente funcionales, es difícil que exista alta actividad fotosintética, incluso si la clorofila está presente en las hojas, es probable que las enzimas responsables de la fotosíntesis estén inactivas o ausentes. (8)

Por otra parte, las plantas propagadas in vitro han sido desarrolladas en presencia de humedad relativa alta; debido a esto, las hojas presentan células de empalizada con grandes espacios intercelulares y bajas frecuencias de estomas, esta característica hace que dichas plantas sean más sensibles a pérdidas de agua. (8)

4.1.3. Aplicaciones del Cultivo de Anteras:

A) Selección de Mutantes:

El método conocido como cultivo de anteras o cultivo de polen, permite regenerar plantas a partir de gametos masculinos con la mitad de cromosomas (haploides), el empleo de haploides en la fitotecnia por mutaciones es ventajoso, ya que permite detectar las mutaciones después de ser inducidas. (23)

Las mutaciones recesivas en plantas haploides pueden detectarse fácilmente debido a que sólo presentan un juego simple de cromosomas y no hay alelos complementarios. Las células haploides pueden ser sometidas a tratamiento con mutágenos químicos o físicos para aumentar la frecuencia de mutación. (8)

B) Obtención de plantas homocigotas:

Para obtener plantas fértiles diploides y homocigotas, los cromosomas de las plantas haploides deben ser duplicados, tradicionalmente se utiliza el alcaloide llamado colchicina. La inducción de plantas haploides y la diploidización pueden facilitar enormemente los programas de mejoramiento genético tendientes a la fijación de características en híbridos heterocigotos obtenidos por cruzamiento. (8)

4.1.4. Condiciones Físicas de Incubación para la inducción de callo y diferenciación de plantas:

La temperatura y la luz juegan un papel importante en la androgénesis. En arroz, la temperatura adecuada para los procesos de formación de callos y de regeneración de plantas esta entre los 24 y 26°C. Con temperaturas por encima de 28°C las anteras se degeneran rápidamente, disminuyen la formación de callos y la tasa de regeneración de plantas y aumenta la presencia de plantas albinas.

La luz no es necesaria para la fase de inducción, el crecimiento de los callos se favorece en la oscuridad. Una vez que los callos son transferidos al medio de regeneración, la luz es necesaria para el proceso de fotosíntesis en el desarrollo de las plantas verdes.

(5)

El cambio de oscuridad a luz debe ser progresivo, primero exponiendo los callos a luz tenue y posteriormente a luz directa. Otros factores que influyen en la respuesta de las anteras es la composición de la atmósfera del recipiente de cultivo y la densidad de las anteras inoculadas. (4)

4.1.5. Factores que influyen en el Cultivo de Anteras:

Los siguientes factores influyen en la producción de plantas derivadas del cultivo de anteras de arroz: el genotipo, el albinismo, las condiciones ambientales y el estado fisiológico de la planta donante, el estado de desarrollo del polen al iniciarse el cultivo, el tratamiento de las anteras antes del cultivo, la pared de las anteras, el medio de Cultivo y las condiciones físicas de incubación de las anteras. (5)

4.1.5.1. El genotipo:

El genotipo afecta la frecuencia de las anteras que producen callos, la capacidad del callo de diferenciar plantas, la proporción de plantas verdes a albinas y la ploidía de las plantas regeneradas. Se han encontrado diferencias en la respuesta entre las especies, grupos y variedades de arroz, siendo el grupo japónica el que mejor ha respondido al cultivo in vitro.(3)

Estudios hereditarios sugieren que la inducción de callos y regeneración de plantas están controlados por uno o dos bloques de genes recesivos diferentes sin involucrar al citoplasma (la dominancia de la no respuesta es parcial), y el efecto de genes aditivos es predominante. (4)

En el arroz la aparición de plantas carentes de clorofila varía con el genotipo, en algunos casos puede obtenerse una alta tasa de regeneración de plantas en el total de la población, pero el porcentaje de plantas albinas puede ser alto (50 a 90%). (16)

CHUNG G.S. citado por Macz (16) reporta que el éxito del cultivo de anteras de arroz es afectado por el genotipo de los materiales inoculados. La frecuencia de inducción de callo y regeneración de plantas en híbridos F1 varía de acuerdo a los padres de los cruces.

4.1.5.2. El albinismo:

La producción de plantas albinas es un fenómeno común en el cultivo de anteras de cereales. El albinismo es particularmente predominante en plantas derivadas del polen inmaduro de híbridos interespecíficos o híbridos intraespecíficos entre las subespecies japónica e indica. (5)

Hay pruebas de que el albinismo está relacionado con la supresión del ADN de los plastidos y con deficiencias del ARN ribosomal de los plastidos. En el arroz, una fuerte inducción de callo no se correlaciona necesariamente con tasas altas de regeneración de plantas verdes, por consiguiente, la evaluación del germoplasma por su respuesta al cultivo de anteras debe considerar la inducción del callo y la regeneración de plantas verdes partiendo del número total de anteras cultivadas. (4)

Estudios sugieren que la formación de plantas albinas es debida a alteraciones de los plastidios durante la microsporogénesis in vivo. El albinismo está relacionado con el deterioro del ADN de los cloroplastos y con deficiencias en el ARN de los plastidios. (5)

4.1.5.3. Las condiciones ambientales y el estado fisiológico de la planta donante:

Las condiciones de crecimiento de las plantas donantes tales como el fotoperíodo, la intensidad de luz, la temperatura, la nutrición mineral, variaciones estacionales, tratamientos físicos y la aplicación de hormonas pueden influir en la respuesta de las microsporas al cultivo in vitro. (5)

Las plantas donantes idealmente deben cultivarse en condiciones controladas de nutrientes, luz, temperatura y humedad para que el material vegetal sea lo más homogéneo posible y poder obtener reproducibilidad de los resultados. (8)

Por lo general, anteras de plantas desarrolladas en el campo y bajo períodos de baja nubosidad y lluvia presentan una mayor respuesta debido a los altos niveles de radiación. (5) En las plantas cultivadas bajo control es posible establecer correlaciones entre la etapa de desarrollo del polen y ciertas características morfológicas externas de los botones florales (ej. tamaño y coloración de la corola). Tales características facilitan la selección de los botones que contengan anteras en la fase requerida para su cultivo. (8)

Los granos de polen anormales se les ha denominado granos-S o granos-P y se cree que son los responsables de la proliferación celular que da como resultado la formación de callos cuando se someten las anteras al cultivo in vitro. Su presencia dentro de la población del polen esta predeterminado por las condiciones ambientales bajo las que se desarrolla el estado fisiológico de las plantas donantes. (3)

En algunos casos la deficiencia de nitrógeno en las plantas donantes incrementa la respuesta al cultivo in vitro de las anteras y la aplicación de gametocidas a las panículas en sus estados iniciales de desarrollo puede también resultar en una mayor respuesta. (5)

Las plantas deben cultivarse de preferencia en soluciones nutritivas, con adecuado régimen de luz y alta intensidad luminosa. La temperatura a la cual se mantienen influye sobre la androgénesis y deberá ser estudiada en cada caso.

En ocasiones el material proveniente del campo es más vigoroso y da mejores resultados que el de plantas cultivadas en cámaras de crecimiento. El estado fisiológico de la planta donante en el momento en que se cosechan las panículas también influye en los resultados obtenidos. (8)

4.1.5.4. Estado de desarrollo del polen al iniciarse el cultivo:

El estado de desarrollo del polen, en el momento en que se separán las anteras, para someterlas al cultivo in vitro es un factor clave para asegurar una respuesta exitosa. En estudios comparativos y en la práctica se ha determinado que la etapa de desarrollo del polen comprendida entre el estado uninucleado medio y el uninucleado tardío es la óptima para asegurar una respuesta exitosa. (5)

Para controlar la androgénesis, es crucial la caracterización citológica y bioquímica de las etapas muy tempranas de la evolución de los granos de polen, las pequeñas diferencias en el desarrollo del polen darían lugar a cambios notables en la producción de plantas derivadas de polen. (4)

Si la siembra de las anteras en el medio nutritivo se realiza cuando el estado de desarrollo del polen no se encuentra en el estado uninucleado medio a tardío, la producción de callos decrece notablemente. (5)

4.1.5.5. El tratamiento de las anteras antes del cultivo:

Los efectos de pretratamiento a bajas temperaturas sobre la respuesta del cultivo de anteras de arroz han sido estudiado por varios investigadores. La inducción óptima se consigue con un pretratamiento de 8 a 10°C por 7 días en la oscuridad en anteras con microsporas en estado uninucleado medio. (8)

El tratamiento frío se ha relacionado con una disminución en el albinismo de los cereales, así como con la estimulación de la división mitótica de las microesporas androgenéticas. (4)

Ese tratamiento no solamente incrementa la formación de callo, pero también la diferenciación de plantas verdes. Un pretratamiento en frío por más de 14 días reduce la capacidad morfogénica de los callos e incrementa la producción de albinos. (5)

Los efectos benéficos del tratamiento con frío y en ausencia de luz, consisten en reducir la actividad respiratoria de las anteras al disminuir el consumo de materiales, lo cual prolonga la actividad biológica del arquesporio que alberga a los granos de polen, manteniendo su viabilidad, evitando la dehiscencia prematura de las anteras en el cultivo y retrasando la senescencia del polen. (5)

Cuando son cultivadas muchas anteras al mismo tiempo en un programa de mejoramiento, el pretratamiento frío puede tener un beneficio de importancia práctica, en términos de ahorro de tiempo y trabajo. (16)

4.1.5.6. La pared de la Antera:

La inducción de callos y posterior regeneración de plantas es mayor en cultivos donde la senescencia de las anteras ocurre hacia el final del período del cultivo, después de la cuarta semana, que cuando aparece en los primeros quince días. (8)

Esta es una evidencia de la importancia que tienen las sustancias fisiológicamente activas contenidas en el tapete o pared de la antera, las cuales inducen la morfogénesis de las microsporas durante los primeros días de cultivo. (4,5)

Cuando se inoculan anteras o granos de polen en medios en donde se cultivaron previamente anteras del mismo tipo o de una especie o variedad diferente la frecuencia de la androgénesis aumenta. Estudios histológicos han revelado que el contacto de la parte basal de los embriones con la pared interna de las anteras, parece ser esencial para el desarrollo normal de los embriones durante el cultivo in vitro. (8)

4.1.5.7. El Medio de Cultivo:

Los requerimientos químicos para la inducción de la androgénesis están íntimamente relacionados a la especie vegetal, edad de las anteras y a las condiciones de cultivo de las plantas donantes. La sacarosa juega un papel esencial en la inducción de la androgénesis. (8) Normalmente se utilizan dos medios de cultivo, una para la inducción de callos a partir del polen inmaduro y otro para la regeneración de plántulas a partir de los callos. Los medios de cultivo están constituidos por dos grupos de sustancias. (4)

El primer grupo o medio basal está formado de nutrimentos inorgánicos (macro y microelementos), hidratos de carbono, vitaminas y en algunos casos otros aditivos orgánicos. El segundo grupo de sustancias lo constituyen los reguladores de crecimiento de tipo hormonal. Según Lentini citado por el CIAT (5) sugiere que es posible incrementar la inducción de callos 24 veces en las índicas y 2 veces en las japónicas cuando se utiliza el medio de inducción "NL" complementándolo con 2 mg/lt de 2,4-D; 0.07 mg/lt de picloramo, 1 mg/lt de kinetina, 5% de maltosa y 10 mg/lt de $AgNO_3$.

En el cultivo de anteras de arroz, los primeros estudios que se hicieron, fueron en medios básicos MS (Murashings-Skoog) y Miller, pero recientemente ha sido adoptado ampliamente el medio básico N6 con contenido de amonio modificado. (16)

4.1.6. Ventajas del Cultivo de Anteras:

El Cultivo de anteras ofrece las siguientes ventajas a los programas de mejoramiento genético: (4)

- A) La técnica puede restringirse a los híbridos F_1 o F_2 cuya genealogía contiene genotipos que responden al cultivo de anteras. La clasificación de variedades según su respuesta permitirá calcular el número de anteras necesarias para obtener un híbrido F_1 dado.
- B) Alrededor de un 50% de las plantas de arroz regeneradas son haploides duplicados (autodiploides) lo que excluye el uso de la duplicación artificial de cromosomas.

- C) Los estudios de progenie sobre híbridos F_1 regenerados de polen señalan que la mayoría de las plantas regeneradas son uniformes y estables; esto significa que la mayor parte de las plantas de arroz diploides, obtenidas por cultivo de anteras, son homocigotos que provienen de microesporas haploides mediante la duplicación espontánea de los cromosomas.
- D) Obtención de haploides duplicados a partir de híbridos F_1 puede ser útil para desarrollar variedades en forma fija en una estación central, con el fin de distribuir las en ambientes ecológicos muy diversos y de ensayarlas en ellos.
- E) Puede ser una fuente útil de variación gametoclinal para el mejoramiento intravarietal.
- F) Permitir la expresión e identificación de alelos recesivos.
- G) La producción de líneas homocigóticas en especies altamente heterocigóticas, con el propósito de producir líneas puras de diferente genotipo y de facilitar así el uso de la heterosis de la semilla híbrida F_1 .
- H) Las microsporas se pueden usar para la inducción de mutantes y para la selección de caracteres esporofíticos.
- I) La introgresión de genes de tipos de germoplasma distantes mediante el restablecimiento de la fertilidad de los haploides duplicados obtenidos de cruzamientos amplios de la F_1 .
- J) Obtener la purificación de líneas de restauración de la esterilidad masculina.
- K) Crear y acrecentar reservas citogenéticas y citoplasmáticas de los principales cultivos.

4.1.7. Desventajas del Cultivo de Anteras:

Entre las más comúnmente citadas se tienen su alta dependencia del genotipo, el rango de la variabilidad genética recuperada, el limitado número de recombinaciones meióticas y el costo del laboratorio.

Con el fin de maximizar el ahorro en tiempo, las plantas F1 son generalmente procesadas por cultivo de anteras. No obstante en este caso, sólo se permite un ciclo de recombinación entre los genomios parentales antes de la fijación de los genotipos, lo que se ha indicado como una desventaja con respecto a los métodos estándar de mejoramiento para la recuperación de ciertos recombinantes deseables.

(5)

4.1.8. Investigación para el mejoramiento del arroz en Guatemala:

El programa de producción de arroz del ICTA ha venido estudiando el germoplasma proveniente del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), del Instituto Colombiano Agropecuario (ASIA) de Inca, Colombia y del Instituto de Arroz de Filipinas (IRRI), además del material que en el mismo Programa ha desarrollado bajo las condiciones climáticas y edáficas de la Costa del Pacífico y Atlántico de Guatemala.

Durante 1976 se hicieron evaluaciones de 16 genotipos entre líneas avanzadas y variedades comerciales de arroz en las localidades de Cuyuta, Cristina, finca Limones, Joya de Oro, Caboncito, Mercedes, Constanza y el Valle del Polochic; las líneas se identificaron como L-4221, L-4250, L-4247, L-4251 y L-4303 fueron seleccionadas como muy promisorias por lo que pasaron junto con la variedad IR-28 a formar parte de los ensayos de Finca a nivel regional. (17)

Macz (16) reporta que la variedad Precozicta tanto para el solidificador (Agarosa) como para el extracto de arroz obtuvo el mayor porcentaje de callos que regeneraron plantas verdes.

López (15) establece que la variedad ICTA VIRGINIA presentó rendimientos mayores que el testigo (Precozicta), también presentó correlación directa entre las características agronómicas de vigorosidad, habilidad de macollamiento, altura total de planta.

4.2. MARCO REFERENCIAL:

4.2.1. Localización y características de los lugares de cultivo de las plantas donantes:

El cultivo de plantas donantes se localizó en los lugares que a continuación se describen:

A) El Centro de Producción Agrícola ICTA-Cristina:

Se encuentra ubicado en el municipio de Los Amates del departamento de Izabal, dentro del área que conforma el Valle del Motagua.

Según De la Cruz (7), el Valle del Motagua en la Costa Atlántica, se cataloga ecológicamente como Bosque muy Húmedo Subtropical cálido. El valle del Motagua se caracteriza por una precipitación anual de 3000 a 3500 mm.

El Centro de Producción Cristina está localizado a 211 km al noreste de la ciudad de Guatemala. Tiene una extensión de 45 ha y sus suelos son de textura arcillosa, con un pH de 4.5 a 5.5, deficientes en fósforo y materia orgánica; la precipitación anual es de 3500 mm, la temperatura media es de 28°C y la humedad relativa de 80%. (25)

Simmons et al (24), describe la localidad a una altura de 69 metros sobre el nivel del mar, con una precipitación promedio anual de 2000 mm y una temperatura promedio anual de 27°C. Los suelos corresponden a la serie Cristina y se caracterizan por ser poco profundos, mal drenados, desarrollados en regiones cálidas y húmedas sobre materiales aluviales lavados de áreas de roca serpentina y ocupan superficies casi planas o suavemente inclinadas.

El suelo superficial a una profundidad de 40 cm es arcilloso, muy plástico, que va de un color gris oscuro a café grisáceo muy oscuro. Toda el área se puede usar para potreros y este es quizás el mejor uso, ya que el suelo es difícil de cultivar. Las superficies más planas se pueden usar para la producción de arroz irrigado. (7)

B) El Centro de Producción Agrícola ICTA-Cuyuta, Escuintla.

El lugar se encuentra geográficamente ubicado a una Latitud Norte de 14° 07' 00" y a una Longitud Oeste de 71° 09' 00" . Se comunica a la cabecera departamental a través de la carretera CA-9 Sur a una distancia de 27 km.

El parcelamiento Cuyuta se encuentra limitado al Norte con la finca Cádiz, la finca Carolina y la finca Versailles; al Sur con la finca La Felicidad, finca Santa Elena y la finca San José Las Flores; el Este con la finca el Naranjo, estando la línea del ferrocarril de por medio y al Oeste con el Río Achiguate. (15)

Según la clasificación de Holdridge (12) el área del parcelamiento se encuentra ubicada en la zona de vida Bosque muy Húmedo Subtropical Cálido, a una elevación de 48 metros sobre el nivel del mar, con una precipitación pluvial de 1,800 mm anuales. La temperatura promedio es de 26°C.

Según la clasificación de Thornthwaite (11) el clima de la zona por sus características de temperatura y precipitación pluvial presenta un clima cálido, sin estación seca bien definida, húmedo con invierno seco.

Los suelos corresponden a la Serie Tiquisate Franco los cuales se caracterizan por desarrollarse sobre depósitos marinos aluviales de color oscuro en un clima cálido húmedo seco, son profundos bien drenados.

El suelo superficial a una profundidad aproximada de 35 cm es franco, de color café oscuro a café muy oscuro. El contenido de materia orgánica oscila alrededor del 5 al 10%. La estructura es granular fina poco desarrollada. Ocupan relieves casi planos, suaves en el plano costero del Pacífico. (24)

C) Invernadero de la Dirección General de Energía Nuclear:

Las plantas donantes se cultivaron bajo condiciones de invernadero con temperatura promedio de 30°C y humedad relativa de 40%. El invernadero utilizado tiene techo de vidrio de dos aguas y armazón de hierro, cuenta con cajas de madera para la siembra, dichas cajas están forradas con plástico negro, para no dejar filtrar el agua, la capacidad de cada caja es para 36 macetas plásticas de dos kilogramos de suelo, se cuenta con ventilación lateral mecánica.

D) Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Dirección General de Energía Nuclear:

El cultivo de anteras se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Sección Agropecuaria de la Dirección General de Energía Nuclear, del Ministerio de Energía y Minas, ubicado en la zona 12 de la ciudad de Guatemala.

La Dirección General de Energía Nuclear se encuentra ubicada a una Latitud Norte de 14° 34' 51" y una Longitud Oeste de 90° 03' 16" y una elevación de 1476 metros sobre el nivel del mar, con temperatura media anual de 18°C. (16)

5. OBJETIVO

1. Evaluar el efecto de las condiciones ambientales de cultivo de plantas donantes en la respuesta al cultivo de anteras de tres genotipos de arroz.

6. HIPOTESIS

Los tres genotipos de arroz cultivados en diferentes condiciones ambientales tienen el mismo comportamiento evaluado por la cantidad de plantas verdes producidas en cultivo de anteras.

Al menos una localidad presenta condiciones ambientales más favorables para el desarrollo de plantas donantes de anteras de arroz, lo cual se manifiesta en una mayor cantidad de plantas verdes producidas.

7. METODOLOGIA

7.1. Desarrollo de la Investigación:

El presente trabajo se realizó en cuatro etapas: primero la etapa de gabinete inicial, la etapa de campo, etapa de laboratorio y la etapa de gabinete final.

7.1.1. Etapa de Gabinete inicial:

Comprendió la elaboración del anteproyecto de investigación, en el cual se recolecto información para la elaboración del proyecto para realizar la investigación.

7.1.2. Etapa de Campo:

Esta etapa comprendió la preparación del terreno, siembra y manejo de las plantas donantes en cada una de las localidades.

7.1.2.1. Preparación del terreno:

a) Campo:

Se realizó en forma mecanizada, se paso una vez arado y dos veces rastra, el terreno quedó bien mullido lo que permitió una buena cama para la germinación de la semilla. En la preparación del suelo se incorporó al mismo el insecticida Terbuphos a razón de 12.90 kg/ha.

b) Preparación de macetas en invernadero:

Se utilizaron macetas de 2 kg de capacidad con una mezcla de suelo, las cuales sirvieron para la siembra de las plantas de arroz en el invernadero de la Dirección General de Energía Nuclear.

7.1.2.2. Siembra de las plantas donantes:

a) Campo:

Se realizó el surqueado del suelo manualmente a una distancia de 30 cm entre surco. La siembra se efectuó manualmente depositando a chorro la semilla en surcos de cinco metros de longitud a razón de 65 kg/ha.

b) Invernadero:

La siembra de plantas de arroz en el invernadero se efectuó en forma manual depositando cinco semillas por maceta. Al momento de la germinación de las semillas se dejó solamente una planta por maceta. Las macetas se colocaron en cajas de madera forradas de plástico con una lámina de agua de 15 centímetros.

7.1.2.3. Fertilización:

Al momento de la siembra tanto en el campo como en el invernadero de la Dirección General de Energía Nuclear se aplicó fertilizante fórmula compuesta 15-15-15 utilizando una dosis de 270 kg/ha. Al iniciar el macollamiento (35 días después de la siembra) se aplicó urea 46% a razón de 81 kg/ha.

7.1.2.4. Control de Malezas:

Se realizó control químico de malezas en las plantas sembradas en el campo, haciendo una aplicación de herbicida cuando las malezas presentaron de 2 a 5 hojas verdaderas.

Se aplicó Basagram M60 (Bentazon + MCPA) a razón de 3 lit/ha. Para las plantas sembradas en el invernadero se realizó una limpieza de entresaque en forma manual.

7.1.2.5. Control de Plagas de insectos:

Se aplicó Metamidophos a razón de 600 gr/ha, para controlar las chinches de las panículas, a intervalos de 15 días entre las aplicaciones.

7.1.3. Etapa de Laboratorio (Cultivo de Tejidos):

En esta etapa se preparó el medio de inducción y el medio de regeneración conteniendo hormonas de crecimiento, vitaminas, solución de microelementos y macroelementos. De las plantas de arroz se colectaron las panículas para poder extraer las anteras que se utilizaron en la determinación del estado uninucleado de los granos de polen.

Para la incubación de los tejidos se utilizó una cámara de crecimiento con control de luz y temperatura, en la cual se incubaron las anteras a una temperatura de 25°C en frascos de vidrio de 130 centímetros cúbicos de capacidad conteniendo medio de inducción, hasta la formación de callo, luego estos callos se trasladaron a frascos de polipropileno de 360 centímetros cúbicos de capacidad conteniendo el medio de regeneración, los cuales se incubaron hasta la regeneración de plantas de la semilla. En la preparación del suelo

7.1.3.1. Inducción de Callo: Se aplicó Terbufos a razón de 2.50

7.1.3.1.1. Determinación del estado uninucleado de las anteras:

Para observar el estado uninucleado de las microsporas, se procedió a realizar montajes y observarlos en el microscopio, se removieron las inflorescencias y se sumergieron las flores en una solución fijadora compuesta por 3 partes de etanol al 95% (alcohol etílico), 1 parte de ácido acético glacial y 0.1% de cloruro férrico, posteriormente se dejaron las anteras en dicha solución fijadora durante 24 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo se maceraron las anteras y se tiñeron con una solución de acetocarmin al 5%, una vez teñidas las anteras se observaron los diferentes estados de desarrollo, utilizando un microscopio con un lente de 10X y 40X.

Si la muestra evaluada presentaba granos de polen en estado uninucleado medio-tardío, el lote cosechado se utilizaba para la siembra, caso contrario se descartaba.

7.1.3.1.2. Pretratamiento del Material Vegetal:

Las panículas se colectaron cuando la hoja bandera sobresalía del primer entrenudo una distancia entre 6 a 8 cm se colectaron en las primeras horas del día, y se trasladaron al laboratorio de cultivo de tejidos de la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN), utilizando una hielera.

Una vez en el laboratorio se sacaron las panículas de arroz de la hielera y se dejaron en la refrigeradora a 5°C durante cuatro días para aplicar pretratamiento en frío, luego se esterilizaron por un período de 15 minutos, utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 2% (Clorox comercial con 5.25% NaOCl de compuesto activo), luego se lavaron tres veces con agua destilada estéril.

Se utilizó alcohol etílico al 70% para desinfectar el área de trabajo en la cámara de flujo laminar. Las espigas esterilizadas se colocaron en cajas petri, y las anteras fueron removidas con pinzas finas. Estas anteras fueron colocadas sobre el medio de inducción de callos en frascos de vidrio con capacidad de 130 cc.

Los frascos de vidrio de 130 cc. fueron incubados a una temperatura de 25°C en completa oscuridad. Cuando se observó la aparición de callos con un tamaño adecuado (aproximadamente entre 1-2 mm de diámetro) se procedió a transferir los callos a medio de regeneración, únicamente fueron transferidos los de apariencia embriogénica, caracterizada por la apariencia seca, superficie lisa, esféricos y de color blanco. Los callos se trasladaron del medio de inducción al medio de regeneración aproximadamente 40 días después de la siembra de las anteras.

7.1.3.1.3. Medio de cultivo:

Se utilizó el medio " NL " (5) para la inducción de callos, y el medio " MS " para la regeneración de plantas, la composición de los mismos se muestra en el cuadro 4A.

7.1.3.1.4. Regeneración de plantas:

Se transfirieron los callos del tipo embriogénico provenientes del medio de inducción, de 1 a 2 milímetros de diámetro al medio de regeneración utilizando una espátula y un bisturí para su manipulación. Se transfirieron los callos a cajas de policarbonato con tapaderas de polipropileno que contenían el medio de regeneración "MS" con 3% de sucrosa, en las cuales se colocaron nueve callos por caja conteniendo 20 ml del medio " MS " para que posteriormente regeneraran plantas. El número de callos sembrados por genotipo dependió de su porcentaje de inducción.

Para la regeneración de plantas las cajas de policarbonato se mantuvieron a una temperatura de 26°C, y expuestas a un fotoperíodo de 16 horas. Seis semanas después de que los callos fueron trasladados al medio de regeneración se observó el número de plantas regeneradas.

7.1.3.1.5. Registro de datos:

Los datos se registraron después de 40 días de incubación de las anteras (6 semanas), el número de callos totales formados por genotipo y localidad, el número de callos trasladados al medio de regeneración. A los 80 días (12 semanas) se registró el número de callos con plantas verdes y callos con plantas albinas.

7.1.4. Etapa de Gabinete Final:

Se realizó el análisis e interpretación de la información recopilada en el transcurso del desarrollo de la investigación. Los resultados de la investigación se evaluaron estadísticamente de acuerdo al diseño experimental.

7.1.5. Normalidad de los datos de Formación de Callos:

Los datos que se obtuvieron del porcentaje de inducción de callo fueron analizados para observar si tenían una tendencia de distribución normal, para lo cual fue necesario realizar la prueba de normalidad de Saphiro-Wiks.

En base al resultado que se obtuvo se efectuó la transformación de la variable porcentaje de inducción de callos utilizando arcotangente de "x". (cuadro 6A)

Los valores transformados de la inducción de callos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) como a su respectiva prueba de medias Tukey. En los datos de regeneración de plantas no se efectuó análisis estadístico, simplemente se expresan los valores promedio en porcentaje, debido a que el bajo número de callos formados en algunos genotipos no permitió hacer repeticiones.

7.2. Variables Respuesta:

En el estudio se evaluaron las siguientes variables:

7.2.1. Porcentaje de inducción de callo.

7.2.2. Porcentaje de regeneración de plantas

7.2.3. Eficiencia en base a anteras.

El porcentaje de inducción de callo se obtuvo de la siguiente manera:

$$\% \text{ inducción de callo} = \frac{\text{No. de callos formados}}{\text{Total de anteras sembradas}} * 100$$

En la regeneración de plantas se tomaron únicamente en cuenta los callos que regeneraron plantas. Esta variable se determino de la siguiente forma:

$$\% \text{ R.P.V.} = \frac{\text{No. callos que formaron plantas verdes}}{\text{No. total de callos inoculados}} * 100$$

donde:

% R.P.V. = % de regeneración de plantas verdes.

La eficiencia en base a anteras se calculó así:

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{No. de callos que formaron plantas verdes}}{\text{No. anteras inoculadas}} * 100$$

7.3. Diseño Experimental:

Se utilizó un diseño en completo azar con arreglo factorial (3x3) con 5 repeticiones, siendo los factores las diferentes localidades así como también los diferentes genotipos de arroz, la unidad experimental estuvo conformada por 5 frascos de vidrio de 130 centímetros cúbicos de capacidad, conteniendo 150 anteras de arroz por cada 10 cc del medio de inducción " NL " cada uno, haciendo un total de 750 anteras de arroz por unidad experimental.

El modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \delta_i + \tau_j + \delta\tau_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

de donde:

Y_{ijk} = Inducción de callos de la ijk -ésima unidad experimental.

μ = Efecto de la media general de los tratamientos.

δ_i = Efecto de la i -ésima variedad de arroz.

τ_j = Efecto de la j -ésima localidad.

$\delta\tau_{ij}$ = Efecto de la interacción variedad*localidad.

ϵ_{ijk} = Efecto del error experimental.

8. RESULTADOS Y DISCUSION.

8.1. FORMACION DE CALLOS:

8.1.1. Comportamiento de Normalidad de la Inducción de Callos:

Con esto se pudo comprobar que los resultados de inducción de callos no siguen un patrón de distribución normal. En el cuadro 1 se muestran los resultados transformados aplicando la prueba de normalidad de Saphiro-wiks.

Para poder inducir a la normalidad el valor del porcentaje de inducción de callo se le aplicó una transformación matemática al valor original, utilizando la transformación de arcotangente de "x", ya que con dicha conversión de la escala original se logro inducir los valores del porcentaje de inducción de callo a la normalidad.

8.1.2. Respuesta de los Genotipos a la Inducción de Callo en función de la localidad:

Las plantas donantes cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal presentan el más alto porcentaje promedio de inducción de callos (25.46%) seguido de las plantas donantes cultivadas en la localidad de Cuyuta, Escuintla con 9.63% promedio de inducción de callos. Los resultados obtenidos en las diferentes localidades se muestran en el cuadro 2.

En las plantas donantes cultivadas en la localidad de Guatemala el mayor porcentaje de inducción de callos se obtuvo del genotipo "CT-6241" seguido del genotipo "Precozicta", el genotipo "Virginia" no presentó ninguna respuesta al cultivo de anteras en esta localidad.

Cuadro 1. Prueba de Normalidad " Saphiro-Wiks" para el porcentaje de inducción de callos de Arroz.

No.	$Y_i < Y_n$	S_o^2	n	b	W_c	Wt 5%
1	9.04	245.55	35.92	15.28	0.8990	0.91
2	11.49	174.77	33.22	9.78		
3	12.36	152.52	32.10	7.98		
4	14.75	99.20	29.66	6.37		
5	15.67	81.72	26.19	5.63		
6	18.54	38.07	18.27	3.36		
7	18.54	38.07	14.65	2.37		
8	18.54	38.07	14.20	1.77		
9	18.54	38.07	13.81	1.46		
10	18.54	38.07	11.71	1.01		
11	18.54	38.07	10.96	0.87		
12	18.54	38.07	10.85	0.62		
13	18.54	38.07	10.54	0.40		
14	18.54	38.07	10.06	0.23		
15	18.54	38.07	8.89	0.07		
16	18.54	38.07	7.56	0.06		
17	18.54	38.07	6.85	0.05		
18	18.54	38.07	6.39	0.05		
19	19.49	27.25	5.17	0.04		
20	19.78	24.30	4.31	0.03		
21	20.60	16.89	3.28	0.02		
22	22.21	6.25	1.45	0.01		
23	23.22	2.22	0.00	0.00		
24	23.66	1.10				
25	23.88	0.69				
26	24.09	0.38				
27	24.66	0.00				
28	24.93	0.05				
29	25.39	0.46				
30	26.10	1.93				
31	27.43	7.40				
32	28.60	15.13				
33	29.08	19.10				
34	29.39	21.90				
35	29.50	22.94				
36	30.25	30.69				
37	32.35	58.37				
38	32.74	64.48				
39	33.19	71.91				
40	36.81	146.41				
41	41.86	294.12				
42	44.41	388.09				
43	44.46	390.06				
44	44.71	400.00				
45	44.96	410.06				

Cuadro 2. Respuesta a la inducción de callos por genotipo y localidad.

Localidad	Genotipo	No. Anteras Inoculadas	No. de callos formados	% de Inducción
Guatemala	Precozieta	5400	197	3.65
	CT-6241	7500	1547	20.63
	Virginia	6900	0	0
Escuintla	Precozieta	6150	616	10.02
	CT-6241	6000	1133	18.88
	Virginia	5500	0	0
Izabal	Precozieta	6000	741	12.35
	CT-6241	6000	3527	58.78
	Virginia	6000	315	5.25

En las plantas donantes de anteras cultivadas en la localidad de Cuyuta, Escuintla, el genotipo de arroz "CT-6241" presentó la mejor respuesta en cuanto a la formación de callos, seguido del genotipo "Precozieta".

Es de hacer notar que el genotipo de arroz "Virginia" no respondió al cultivo *in vitro*, pero se pudo observar como una excepción que solamente el 5.25% de las anteras respondió a la formación de callos en la localidad de Cristina, Izabal.

En la figura 1 se puede apreciar la tendencia de los diferentes genotipos de arroz en las distintas localidades en las cuales fueron cultivadas las plantas donantes de anteras, en lo relacionado a su comportamiento a la inducción de callos.

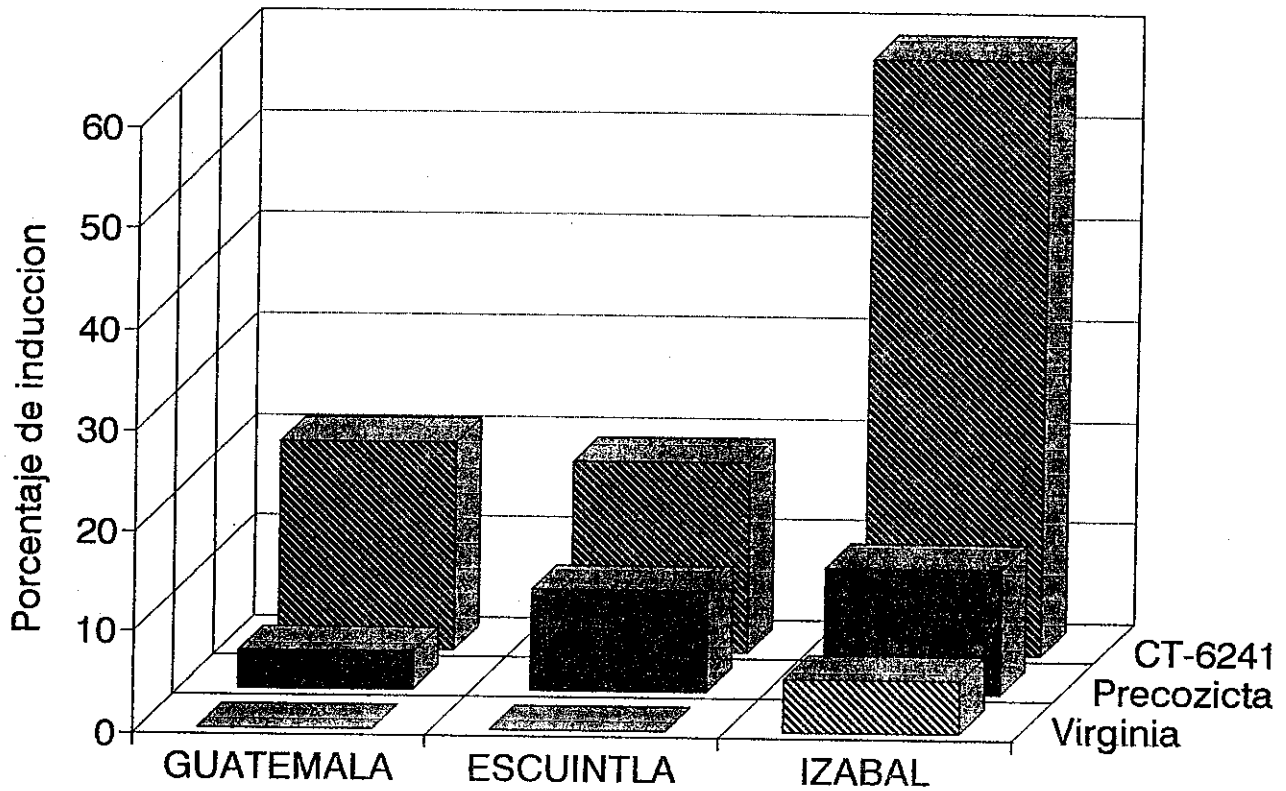


Figura 1. Efecto en la induccion de callo de tres diferentes

localidades en las cuales se cultivan las plantas

donantes de anteras de tres genotipos de arroz. 1995

Según los resultados del análisis de varianza (ANDEVA) efectuado para los datos transformados de inducción de callos se pudo comprobar que existen diferencias significativas entre las diferentes localidades en las cuales se cultivan las plantas donantes de anteras y además existen diferencias significativas entre la interacción del genotipo de arroz y la localidad. (cuadro 7A)

La prueba de media Tukey efectuada al factor localidades en las cuales se cultivan las plantas donantes de anteras, indica que las anteras provenientes de la localidad de Los Amates, Izabal son las más adecuadas, porque fueron las que presentaron la mayor formación de callos en lo que se refiere a la localidad en donde siembran y crecen las plantas donantes de anteras para la inducción de callos, seguido de las plantas donantes de anteras provenientes de la localidad de Cuyuta, Escuintla con (23.03%) de inducción de callos y por último las plantas cultivadas bajo condiciones de invernadero en la localidad de Guatemala.

8.1.3. Respuesta de los Genotipos a la Inducción de callos:

De los tres genotipos de arroz, el que presentó la mejor respuesta en cuanto a formación de callo fue el genotipo "CT-6241" con un promedio de 32.76% seguido del genotipo "Precozicta" con un promedio de inducción de 8.67%, en lo referente al genotipo "Virginia" únicamente obtuvo 1.75% de inducción de callos.

En las anteras provenientes de la localidad de Cristina, Izabal utilizadas para la inducción de callos se obtuvo un porcentaje de formación de callos de 58.78% para el genotipo "CT-6241", seguido por las anteras provenientes de la localidad de Guatemala del genotipo "CT-6241" con 20.63% de inducción de callos.

En cuanto a la formación de callos para el genotipo "Precozicta" se puede observar en la figura 2, que las anteras tienen una respuesta intermedia a la formación de callos en concordancia en lo reportado según la literatura consultada. (16,18,20)

El nivel de formación de callos para el genotipo de arroz "Virginia" fue de 0% de formación de callos, a excepción de un 5.25% de formación de callos que se obtuvo en las anteras derivadas de plantas cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal. En la figura 2 se puede apreciar el comportamiento de formación de callos en los distintos genotipos de arroz en estudio.

En base a los resultados de la prueba de medias efectuado para los genotipos de arroz, el genotipo "CT-6241" es el que obtuvo la media más alta (35.07%) en cuanto a la formación de callos, seguido por el genotipo "Precozicta" con una media de formación del 19.58%, y el genotipo "Virginia" con una media de 19.48% de formación de callos. (Cuadro 8A)

El resultado de la prueba de medias efectuados a la interacción existente entre los genotipos de arroz y la localidad en la cual se siembran las plantas de arroz donantes de anteras, indica que la interacción existente entre el genotipo "CT-6241" que se obtuvo de la localidad de Los Amates, Izabal presentó la media más alta (44.08%) en cuanto al porcentaje de inducción de callos, seguido de las interacciones existentes entre el genotipo "CT-6241*Guatemala" y "CT-6241*Cuyuta" los cuales obtuvieron 32.49% y 28.63% respectivamente en lo relacionado a la inducción de callos.

(Cuadro 10A)

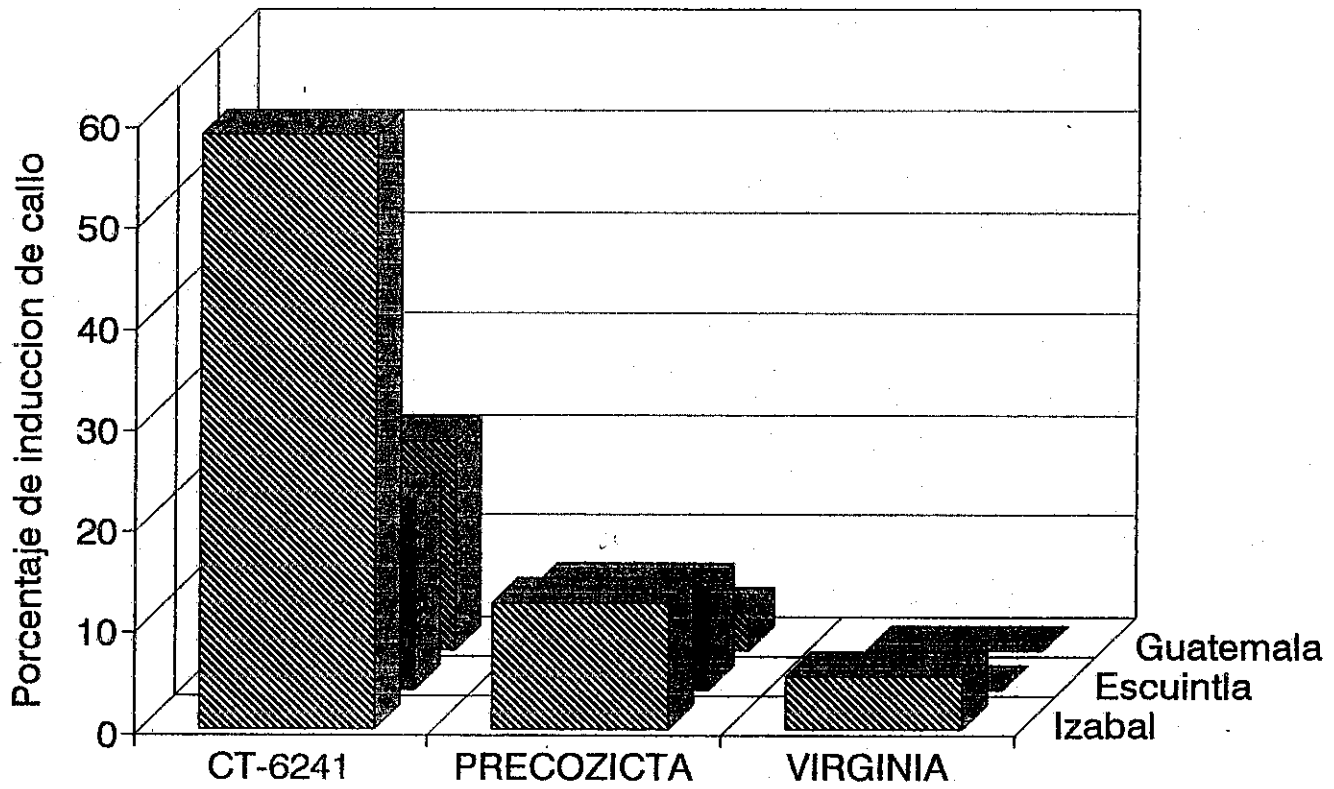


Figura 2. Respuesta a la induccion de callo a partir de anteras de tres genotipos de arroz. 1995

Se pudo comprobar que el genotipo "Virginia" no responde al cultivo de anteras, el genotipo "Precozicta" tiene una respuesta intermedia en cuanto a la formación y regeneración de plantas, y que el genotipo "CT-6241" tiene muy buena respuesta al cultivo de anteras.

Montepeque *et al* (20) reporta para la variedad Precozicta un porcentaje de inducción de callos de 1.88% y para la variedad Virginia 0.46% de formación de callos. Molina (18) reporta para la variedad Precozicta 2.80% de formación de callos.

En un estudio realizado por Macz (16) reporta para la variedad Precozicta 1.64% de inducción de callos y 0% de formación de callos para la variedad Virginia.

Efectuando una comparación de los resultados promedios obtenidos en la presente investigación con los reportados por Montepeque, Molina y Macz en lo relacionado a la inducción de callos para los genotipos Precozicta y Virginia fueron de 8.67% y 1.75% respectivamente. Estos datos son relativamente mayores a los reportados por los diferentes investigadores en este campo de estudio de mejoramiento genético de plantas.

8.1.4. Interacción de la localidad de siembra de plantas donantes de anteras con los genotipo de arroz.

Las plantas donantes de anteras cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal presentan las condiciones ambientales más favorables para el desarrollo y crecimiento de estas, lo cual se manifiesta en su respuesta al cultivo de anteras.

En dicha localidad el genotipo "CT-6241" fue el que tuvo la mayor cantidad de formación de callos a partir de anteras con 58.78% de inducción seguido del genotipo "Precozicta" con 12.35% de inducción de callos.

La segunda localidad que podría utilizarse para que se cultiven las plantas donantes de anteras para la inducción de callos sería la localidad de Cuyuta, Escuintla, y en último lugar las plantas cultivadas bajo condiciones de invernadero en la ciudad de Guatemala. En ambas localidades los genotipos CT-6241 y Precozicta respondieron únicamente a la inducción de callos a partir de anteras.

8.2. REGENERACION DE PLANTAS A PARTIR DE CALLOS:

8.2.1. Respuesta de los genotipos a la regeneración de plantas verdes en función de la localidad:

En los callos de las anteras de las plantas donantes cultivadas en la localidad de Guatemala obtuvo la mayor cantidad de regeneración de plantas verdes (63.05%), siguiéndole las cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal con 39.17% de regeneración de plantas.

En las cultivadas en la localidad de Guatemala el genotipo de arroz "CT-6241" obtuvo un 34.95% de regeneración de plantas, seguido por el genotipo "Precozicta" con un 28.10% de regeneración.

Los resultados obtenidos de regeneración de plantas de los diferentes genotipos de arroz en las distintas localidades se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Respuesta a la regeneración de plantas por genotipo y localidad.

Localidad	Genotipo	No. C.T.	No. C.P.V.	% REG.	No. P.V.R.	Eficiencia P.V.R.
Guatemala	Precozicta	121	34	28.10	38	0.70
	CT-6241	1090	381	34.95	496	6.61
	Virginia	0	0	0.00	0	0.00
Escuintla	Precozicta	413	63	15.25	120	1.95
	CT-6241	393	34	8.65	40	0.66
	Virginia	0	0	0.00	0	0.00
Izabal	Precozicta	300	46	15.33	82	1.36
	CT-6241	599	120	20.03	193	3.22
	Virginia	315	12	3.81	15	0.25

Referencia:

- No. C.T. = Número de callos trasladados
 No. C.P.V. = Número de callos con plantas verdes
 % REG. = Porcentaje de regeneración.
 No. P.V.R. = Número de plantas verdes regeneradas.
 P.V.R. = Plantas verdes regeneradas.

En los callos de las anteras de las plantas donantes cultivadas en la localidad de Cuyuta, Escuintla el genotipo de arroz que tuvo el mayor porcentaje de regeneración de plantas fue "Precozicta" con un 15.25% de regeneración de plantas verdes y el genotipo "CT-6241" con únicamente 8.65% de regeneración de plantas verdes.

En los callos de las anteras de las plantas donantes cultivadas en la Localidad de Cristina, Izabal los tres genotipos de arroz regeneraron plantas verdes a partir de callos, observando que el genotipo "CT-6241" presentó un 20.03% de regeneración de plantas, seguido del genotipo "Precozicta" con un 15.33% y por último el genotipo Virginia con únicamente un 3.81% de regeneración de plantas.

En la figura 3 se puede apreciar el comportamiento de regeneración de plantas verdes a partir de callos de los genotipos de arroz en las diferentes localidades.

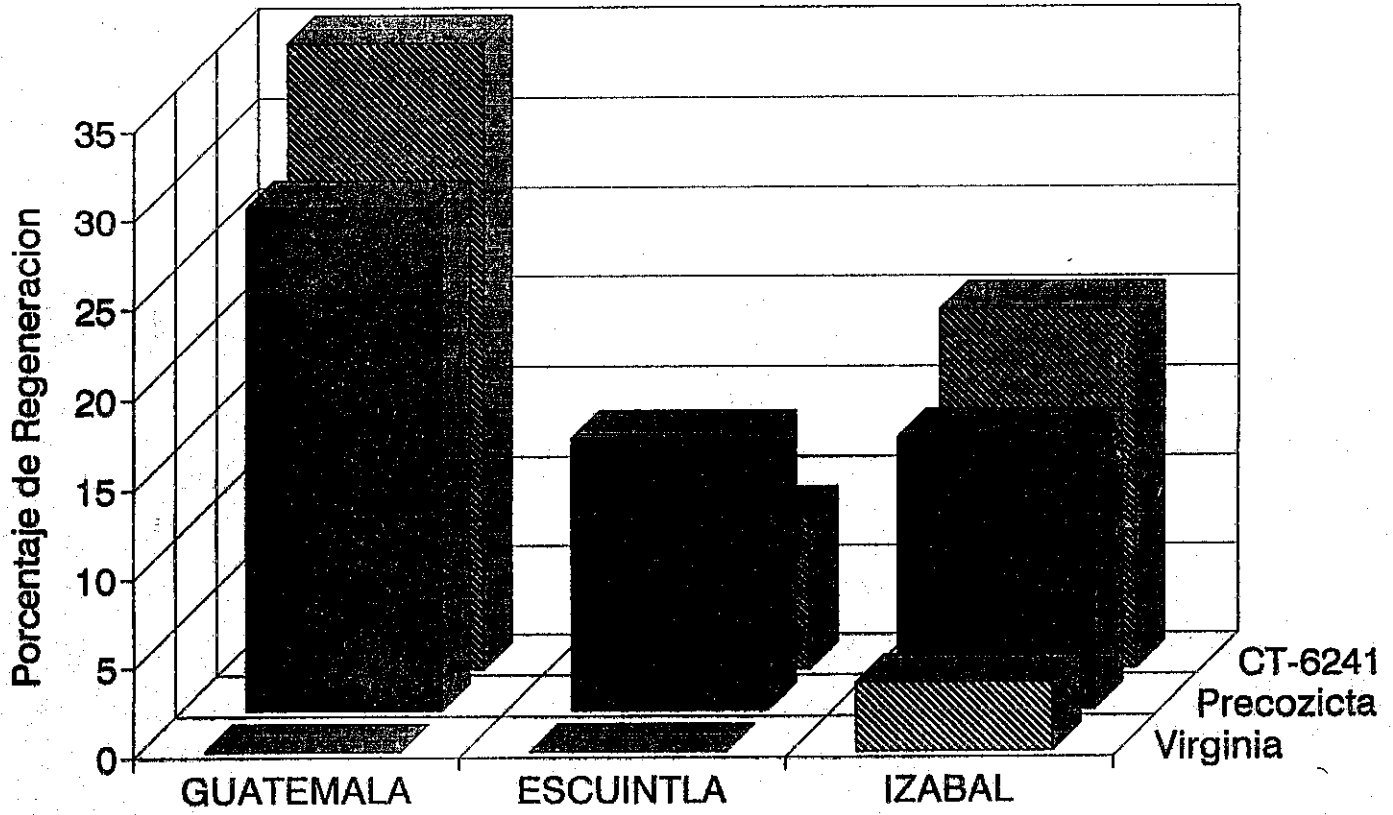


Figura 3. Regeneracion de Plantas Verdes a partir de Callos
provenientes de anteras de tres genotipos de arroz
de plantas cultivadas en tres localidades. 1995

8.2.2. Respuesta de los Genotipos a la Regeneración de Plantas Verdes:

El genotipo de arroz que obtuvo los mejores resultados en cuanto a regeneración de plantas fue el genotipo "CT-6241", seguido del genotipo "Precozicta". El porcentaje de regeneración de plantas verdes para el genotipo "CT-6241" estuvo comprendido dentro del rango de 8.65% a 34.95%, obteniéndose el mayor valor de regeneración de las anteras que formaron callos provenientes de la localidad de Guatemala (34.95%) y el menor porcentaje de regeneración en callos provenientes de la localidad de Cuyuta, Escuintla.

Referente al genotipo "Precozicta", la regeneración de plantas fue mayor en callos de anteras de plantas donantes cultivadas en la localidad de Guatemala, seguido por las cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal; y en último lugar las cultivadas en la localidad de Cuyuta, Escuintla.

Se pudo observar que del 5.25% de callos formados para el genotipo "Virginia" un 3.81% regeneró plantas verdes en la única localidad en la cual respondió al cultivo in vitro.

Montepeque *et al* (20) reporta para la variedad Precozicta un porcentaje de regeneración de plantas verdes formadas a partir de callos de 30.40% y para la variedad Virginia 25% de formación de plantas verdes.

Molina (18) reporta para la variedad Precozicta 3.19% de regeneración de plantas verdes. Macz (16) reporta para la variedad Precozicta 10.81% de regeneración de plantas verdes.

En la figura 4 se puede apreciar la tendencia de regeneración de plantas verdes para cada genotipo de arroz en las diferentes condiciones ambientales.

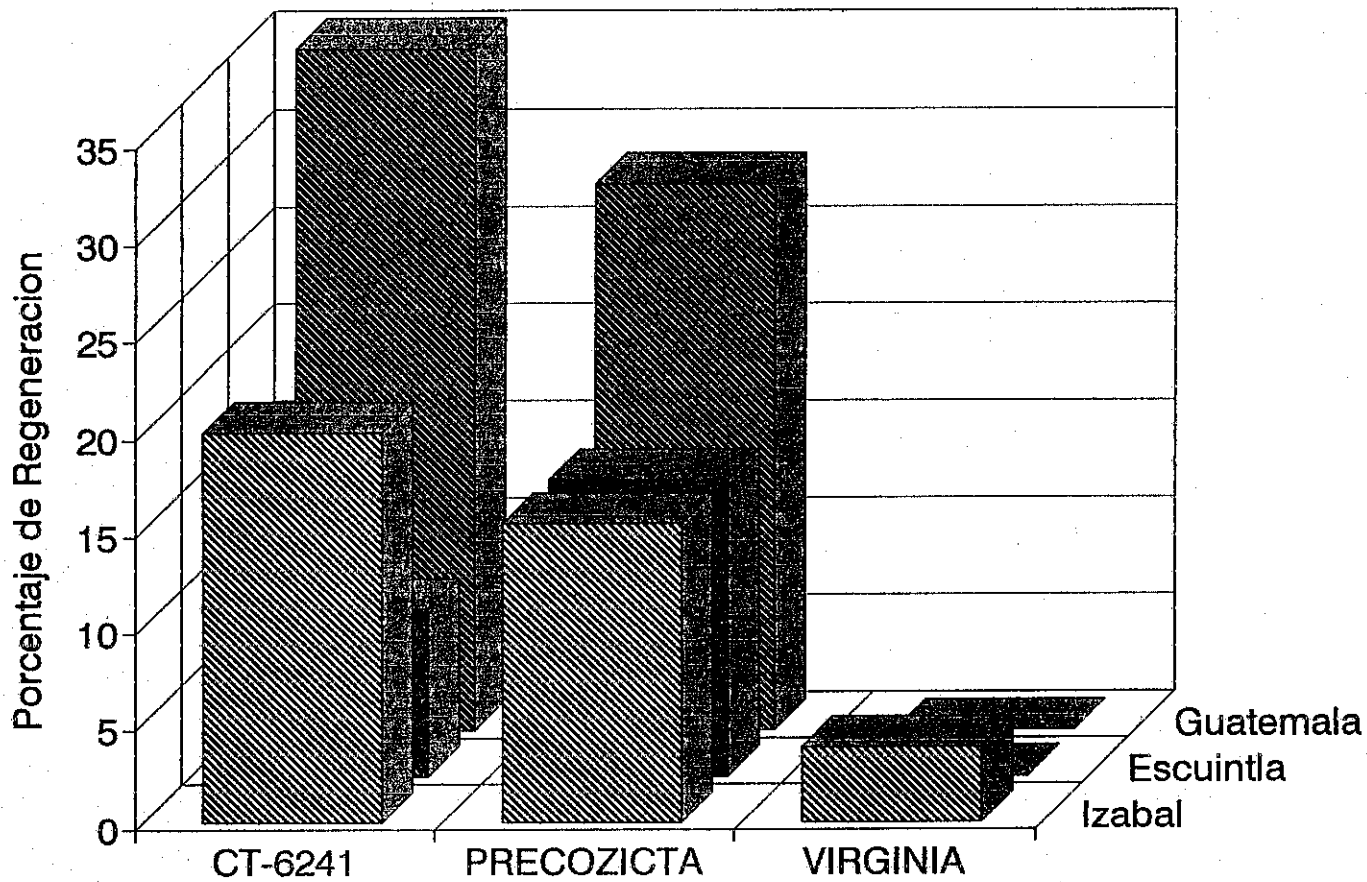


Figura 4. Regeneracion de Plantas Verdes derivadas de callos

de anteras de plantas de tres genotipos de arroz

cultivadas en tres localidades. 1995

Los resultados promedios obtenidos en la presente investigación en lo relacionado a la regeneración de plantas verdes a partir de callos se obtuvieron los valores promedio de 19.56% de regeneración de plantas para la variedad Precozicta, y 1.27% de regeneración para la variedad Virginia, con esto podemos observar que se obtuvo un resultado intermedio a los reportados con los estudios antes citados.

8.2.3. Interacción de la localidad de siembra de plantas donantes de anteras con los genotipo de arroz.

Los callos provenientes de anteras cultivados en la localidad de Guatemala, bajo condiciones de invernadero fueron los que obtuvieron los mejores resultados en lo que se refiere a la regeneración de plantas verdes. Aunque es de hacer notar que en dicha localidad se obtuvo el menor porcentaje de inducción de callos, pero es la localidad más eficiente en regeneración de plantas, que es lo que se pretende en el cultivo de anteras.

8.3. EFICIENCIA DE REGENERACION DE PLANTAS VERDES:

8.3.1. Localidades:

En cuanto al porcentaje de producción de plantas verdes los callos de anteras provenientes de plantas cultivadas en invernadero en la localidad de Guatemala fue la que obtuvo el valor más alto (7.31%), seguido por las plantas cultivadas en la localidad de Cristina, Izabal con 4.83% de eficiencia de regeneración de plantas verdes, y las plantas cultivadas en la localidad de Cuyuta, Escuintla con 2.61% de eficiencia de producción de plantas verdes.

En la figura 5 se puede apreciar la eficiencia de regeneración de plantas verdes por localidades, para cada uno de los genotipos de arroz.

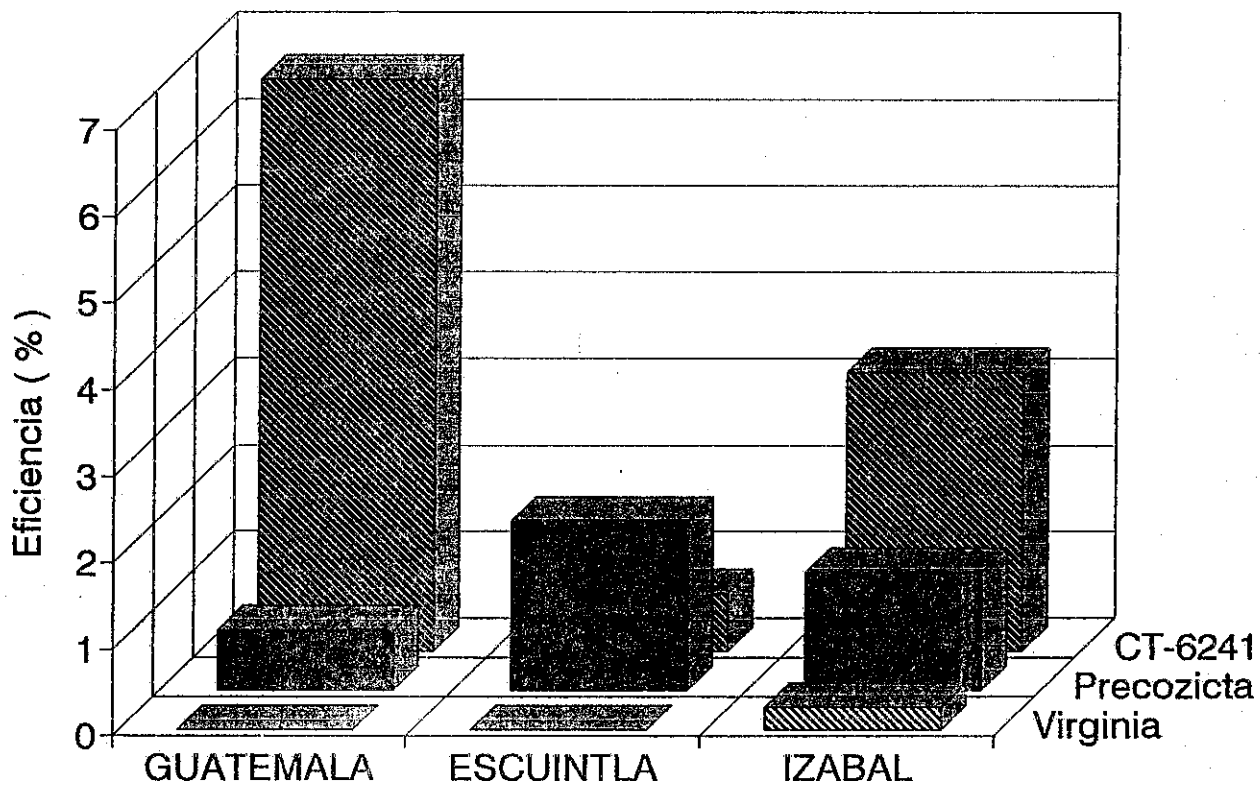


Figura 5. Eficiencia de Regeneracion de Plantas Verdes

de tres genotipos de Arroz por localidad. 1995

8.3.2. Genotipos:

El genotipo "CT-6241" tuvo la más alta eficiencia de regeneración de plantas verdes (10.48%) siguiéndole los genotipos Precozicta y Virginia con 4.01% y 0.25% de eficiencia respectivamente.

La eficiencia de regeneración de plantas verdes para el genotipo CT-6241 fue mayor solamente en dos localidades bajo estudio (Izabal y Guatemala), mientras en la localidad de Escuintla su eficiencia fue menor.

Con respecto al genotipo Precozicta, la eficiencia de regeneración fue superior en la localidad de Cuyuta, Escuintla, seguido de las plantas verdes regeneradas a partir de callos provenientes de la localidad de los Amates, Izabal.

El genotipo "Virginia" obtuvo 0.25% de eficiencia de regeneración de plantas verdes, únicamente de los callos provenientes de anteras cultivadas en la localidad de Los Amates, Izabal.

La frecuencia promedio de inducción de plantas para el genotipo Precozicta fue de 0.75%, para el genotipo CT-6241 3.50% y para Virginia 0.08% de eficiencia de regeneración de plantas verdes.

En la figura 6 se puede apreciar la eficiencia de regeneración de plantas verdes para cada genotipo de arroz.

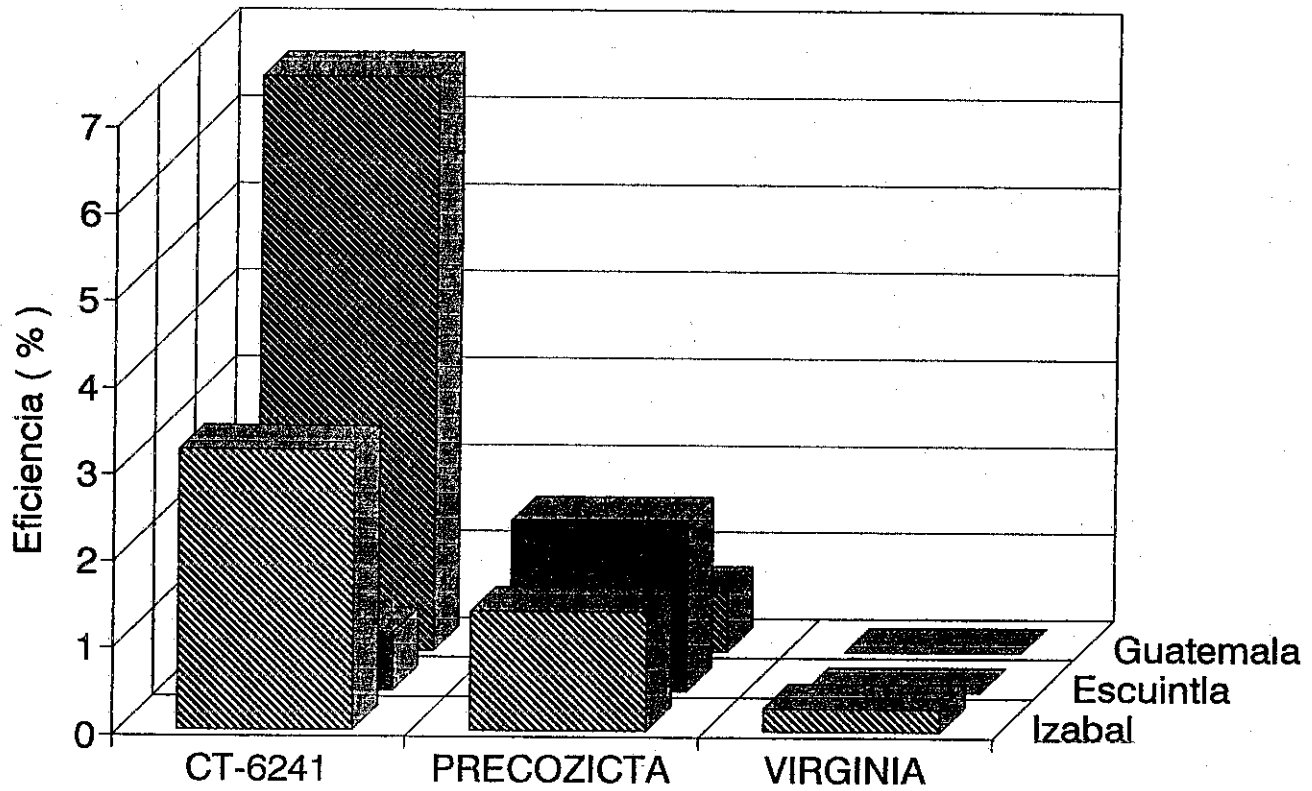


Figura 6. Eficiencia de Regeneracion de Plantas Verdes

de Arroz por genotipo.

9. CONCLUSIONES

El genotipo de arroz " CT-6241 " es superior en la respuesta a la inducción de callós que los genotipos Precozicta y Virginia.

Las condiciones ambientales en las cuales se cultivan las plantas donantes influyen sobre la respuesta de las anteras al cultivo in vitro.

En las plantas cultivadas en la localidad de Guatemala bajo condiciones de invernadero se tienen condiciones favorables para el cultivo de plantas donantes de anteras de arroz con alta eficiencia en la regeneración de plantas verdes.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar los genotipos CT-6241 y Precozicta para proseguir con estudios en la inducción de callo y regeneración de plantas ya que su respuesta al cultivo in vitro es aceptable.

Se recomienda proseguir estudios bajo condiciones de invernadero en la localidad de Guatemala en la inducción de callo y regeneración de plantas verdes con los genotipos CT-6241 y Precozicta.

Se recomienda evaluar condiciones de medio de cultivo y tratamiento a las anteras y callos derivados de ellas, para inducir regeneración de plantas verdes de plantas donantes cultivadas en la localidad de Los Amates, Izabal para aprovechar la alta frecuencia de inducción de callos que fue manifestada en las anteras derivadas de las plantas cultivadas en esa localidad.

11. BIBLIOGRAFIA

1. BARRIENTOS, M.; ALVAREZ, V. 1982. Algunas transformaciones para el análisis de varianza. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Centro de Estadística y Cálculo. p 9-19.
2. BRAINERD, K.E. et al. 1981. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured "Pixy" plum grown under different conditions. Hort. Science 16(2): 173-175.
3. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (Col.). 1989. Cultivo de anteras en el mejoramiento de Arroz. Calí, Colombia. 57 p.
4. ----- . 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura; fundamentos y aplicaciones. Colombia. 152 p.
5. ----- . 1994. Mejoramiento de arroz con cultivo de anteras. Inca, Colombia. 79 p.
6. CORNEJO MARTIN, M.J. 1984. Organogénesis en cultivos celulares diploides y haploides de arroz. Madrid, España, Ministerio de Agricultura y Pesca, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie Producción vegetal, no. 58. 127 p.
7. CRUZ S., J.R. DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala, a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
8. FAO (Italia). 1990. Fundamentos teóricos-prácticos del cultivo de anteras vegetales. Roma. Estudio FAO. Producción y Protección Vegetal no. 105. 112 p.
9. GARCIA TECUN, O.R. 1980. Evaluación del comportamiento de 18 genotipos de arroz (*Oryza sativa*) bajo condiciones limitantes de humedad. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 78 p.
10. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1972. Atlas nacional de Guatemala. Guatemala. 52 p.
11. ----- . 1975. Mapa climatológico preliminar de la república de Guatemala, según el sistema Thornthwaite. 2 ed. Guatemala. Esc. 1: 1000000 color.

- 12.----- INSTITUTO NACIONAL FORESTAL. 1983. Mapa de zonas de vida a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Geográfico Militar. Esc. 1:600,000.
- 13.----- INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. Tarjeta de datos climáticos de la estación Guatemala. 1,995.

Sin publicar.
- 14.GROUT, B.W.; ASTON, M.J. 1977. Trasplanting of cauliflower plants regenerated meristem culture I, water loss and wather transfer related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. p 1-7.
- 15.LOPEZ BENITEZ, F.L. 1992. Evaluación de mutantes de arroz (Oryza sativa) producidas con rayos Gamma Co-60 bajo condiciones de Cuyuta, Escuintla. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 56 p.
- 16.MACZ MARQUEZ, R.E. 1994. Irradiación de semillas de arroz (Oryza sativa) con rayos Gamma (Co-60) y su efecto sobre la inducción de callo y regeneración de plantas en cultivo de anteras, utilizando diferentes solidificadores en el medio de cultivo. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 74 p.
- 17.MOLINA CASTELLAN, L.F. 1979. Evaluación de 10 líneas avanzadas y 5 variedades comerciales de arroz (Oryza sativa) bajo condiciones de secado en el parcelamiento La Maquina. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 48 p.
- 18.MOLINA MONTERROSO, L.G., LOPEZ ARGUETA, J.J. 1994. Effect of the irradiation on panicle and four different media on rice anther culture efficiency. Guatemala, Dirección General de Energía Nuclear. 8 p.
- 19.MONTEPEQUE, ROLDAN, R. et al, 1989. Contribución al mejoramiento de arroz (Oryza sativa), a través de inducción artificial de mutaciones con rayos gamma Cobalto-60. Guatemala, Dirección General de Energía Nuclear. 13 p.
- 20.MONTEPEQUE ROLDAN, R. et al. 1992. Inducción de callos y regeneración de plantas a partir del cultivo de anteras de arroz (Oryza sativa L.). Guatemala, Dirección General de Energía Nuclear. 5 p.

12. ANEXOS

21. NARVAEZ VASQUEZ, J. 1983. Cultivo de tejidos de Arroz (*Oryza sativa* L.) inducción y regeneración de plantas. Arroz (Col.)/32(325):26-35.
22. NOVAK, F.J.; BRUNNER, H. 1992. Fitotécnia, tecnología de mutaciones inducidas para el mejoramiento de los cultivos. Boletín del OIEA. (Austria) 34(4):25-33.
23. NUÑEZ, V.M. 1985. Guía práctica para el cultivo de anteras de arroz. Colombia. 24 p.
24. SIMMONS, C.S.; TARANO, J.M.; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, Ed. José de Pineda Ibarra. 1000 p.
25. TAVICO LEGUARCA, D.M. 1990. Evaluación del efecto de cinco momentos de cosecha sobre la calidad molinera de cuatro líneas promisorias y una variedad de arroz (*Oryza sativa*) en Cristina, Los Amates, Izabal. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 77 p.

V. B.

Meriam De La Boca



Cuadro 4A. Formulación del medio de inducción de callos y el medio de regeneración de plantas.

COMPUESTO	NL (mg/lt)	MS (mg/lt)
NH ₄ NO ₃	-----	1650.00
(NH ₄) ₂ SO ₄	321.50	-----
KNO ₃	3134.00	1900.00
KH ₂ PO ₄	540.00	170.00
MgSO ₄ .7H ₂ O	185.00	370.00
CaCL ₂ .2H ₂ O	150.00	440.00
H ₃ BO ₃	6.00	6.20
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.30	22.30
ZnSO ₄ .7H ₂ O	10.00	8.60
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.25
CoCL ₂ .6H ₂ O	0.025	0.025
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.025
KI	0.83	1.00
Na ₂ EDTA	37.30	37.30
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80	27.80
Tiamina-HCL	2.50	0.10
Acido nicotinico	2.50	0.50
Piridoxina-HCL	2.50	0.50
Glicina	2.50	2.00
2,4-D	2.00	-----
Picloramo	0.07	-----
Kinetina	0.50	4.00
AgNO ₃	10.00	-----
Maltosa (gr/lt)	50.00	-----
M-inositol	-----	100.00
ANA	-----	1.00
Sucrosa (gr/lt)	-----	30.00
Phytigel (gr/lt)	-----	3.00

CUADRO 5A. Resultados del porcentaje de inducción y formación de callos por variedad de arroz y localidad.

Localidad	Genotipo	REPETICIONES				
		I	II	III	IV	V
1	1	6.93	4.80	2.53	7.87	4.13
2	1	12.93	12.53	21.60	16.67	18.40
3	1	21.07	19.60	20.00	24.00	14.13
1	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	2	30.93	19.20	0.00	0.00	0.00
1	3	41.33	32.00	56.00	34.00	4.80
2	3	40.13	29.73	22.53	26.93	31.73
3	3	80.27	98.00	96.27	99.73	96.00

Referencias:

Localidad 1: Guatemala.
 Localidad 2: ICTA Cuyuta, Escuintla.
 Localidad 3: ICTA Los Amates, Izabal.

Genotipo 1: Precozicta.
 Genotipo 2: Virginia.
 Genotipo 3: CT-6241.

CUADRO 6A. Resultado del porcentaje de inducción y formación de callos por variedad de arroz y localidad con datos transformados con arcotangente de " x ".

LOCALIDAD	GENOTIPO	REPETICIONES				
		I	II	III	IV	V
1	1	14.75	12.36	9.04	15.67	11.49
2	1	19.78	19.49	24.93	22.21	23.22
3	1	24.66	23.88	24.09	26.10	20.60
1	2	18.54	18.54	18.54	18.54	18.54
2	2	18.54	18.54	18.54	18.54	18.54
3	2	29.08	23.66	18.54	18.54	18.54
1	3	32.74	29.50	36.81	30,25	33.19
2	3	32.35	28.60	25.39	27.43	29.39
3	3	41.86	44.71	44.46	44.96	44.41

CUADRO 7A. Análisis de Varianza para el porcentaje de callos para tres genotipos de arroz cultivados en tres diferentes localidades.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Pr > F
Tratamientos	8	3451.08	431.39	70.60	2.22 *
Variedades	2	2413.64	1206.82	197.51	3.27 *
Localidades	2	623.31	311.65	51.00	3.27 *
Variedad* Localidad	4	414.13	103.53	16.94	2.64 *
Error	36	219.79	6.11		
Total	44	3670.87			

rz = 0.9401 C.V. = 9.99%

* Existen diferencias significativas.

CUADRO 8A. Prueba de Tukey para los datos transformados del porcentaje de formación de callos para tres genotipos de Arroz.

GENOTIPO	MEDIA	AGRUPAMIENTO TUKEY
CT-6241	35.07	A
Precozicta	19.58	B*
Virginia	19.48	B*

* Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales.

CUADRO 9A. Resultados de la Prueba de Tukey efectuado para las modalidades del factor localidades, para la inducción de callos.

LOCALIDAD	MEDIA	AGRUPAMIENTO TUKEY
Los Amates, Izabal	24.87	A
Cuyuta, Escuintla	23.03	B*
Guatemala	21.23	B*

* Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales.

CUADRO 10A. Resultados de la Prueba de Tukey efectuado para la interacción de las modalidades del factor localidades y las modalidades del factor variedades de arroz.

VARIEDAD x LOCALIDAD	MEDIA	AGRUPAMIENTO TUKEY
CT-6241 x Amates	44.08	A
CT-6241 x Guatemala	32.49	B*
CT-6241 x Cuyuta	28.63	B*

* Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales.



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

Ref. Sem. 032-96

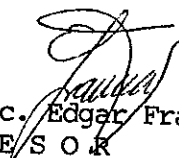
LA TESIS TITULADA: "EFECTO DE TRES CONDICIONES AMBIENTALES DE CULTIVO DE PLANTAS DONANTES EN LA RESPUESTA AL CULTIVO DE ANTERAS DE TRES GENOTIPOS DE ARROZ (Oriza sativa L.)".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: HERMAN ESTUARDO VELASQUEZ GODINEZ

CARNET No: 8913474

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Ana Dolores Arévalo
 Ing. Agr. Francisco Vásquez
 Ing. Agr. Domingo Amador

Los Asesores y las 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.

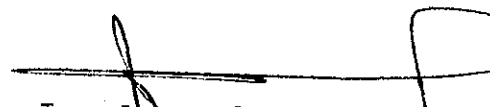

 Ing. M.Sc. Edger Franco
 ASESOR


 Ing. Agr. Luis G. Molina


 Ing. Agr. Fernando Rodríguez
 DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E


 Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
 DECANO



cc:Control Académico
 Archivo
 FR/prr.

APARTADO POSTAL 1545 • 01091 GUATEMALA, C. A.

TELEFONO: 769794 • FAX: (5022) 769770