

EVALUACIÓN DE LÍNEAS DE ARROZ OBTENIDAS MEDIANTE CULTIVO *IN VITRO* DE ANTERAS PARA CONDICIONES DE BAJOS SUMINISTROS DE AGUA

Elizabeth Cristo, María C. González, Noraida Pérez y Regla M. Cárdenas

Ms.C. Elizabeth Cristo, Investigadora Agregada y Noraida Pérez, Investigadora Auxiliar de la Estación Experimental de Arroz “Los Palacios”, Pinar del Río; Dra.C. María C. González, Investigadora Titular y Ms.C. Regla M. Cárdenas, Investigadora Auxiliar del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32700.

Email: ecristo@inca.edu.cu

RESUMEN. En la Estación Experimental del Arroz “Los Palacios”, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se evaluaron en condiciones de campo 55 líneas procedentes del cultivo *in vitro* de anteras de los cruces INCA LP-10/C4 153 y Amistad-82/C4 153, conjuntamente con los progenitores INCA LP-10, Amistad-82 y C4 153, que presentan genes de resistencia a la sequía, durante la primavera del 2001. Para provocar las condiciones de bajos suministros de agua, se empleó el siguiente manejo: se estableció la lámina de agua a los 15 días de germinado el arroz (DDG), suspendiendo la entrada de agua a los 35 días DDG, reponiéndola nuevamente en el cambio de primordio hasta después del 50 % de floración. Se hicieron las siguientes evaluaciones: altura final de las plantas (cm), panículas/planta, peso de 100 granos, granos llenos/panícula, granos vanos/panícula, longitud de los granos (10 de ellos) y rendimiento/planta. Los resultados mostraron una elevada respuesta de los híbridos F₂ al cultivo de anteras, así como la existencia de variabilidad fenotípica en el material evaluado en relación con sus progenitores. Se destacan con un mejor comportamiento las líneas 19, 26, 27, 28, 43, 44, 47, 48 y 49, así como el progenitor INCA LP-10.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, arroz, cultivo de anteras, *Oryza sativa*, mejoramiento, necesidades de agua

ABSTRACT. At “Los Palacios” Rice Research Station, belonging to the National Institute of Agricultural Sciences (INCA), 55 lines derived from *in vitro* anther culture of INCA LP-10/C4 153 and Amistad-82/C4 153 crossings were evaluated under field conditions, together with INCA LP-10, Amistad-82 and C4 153 parents, with drought-resistant genes, over 2001 spring. To induce low water supply conditions, the following management was employed: the water lamina was established 15 days after rice germination (DDG), interrupting water entry 35 days DDG, recovering it again at the primordium change up to 50 % flowering. These evaluations were performed: final plant height (cm), panicles/plant, 100-grain-weight, full grains/panicle, empty grains/panicle, grain length (10 out of them) and yield/plant. Results showed a high response of F₂ hybrids to anther culture, as well as and a phenotypical variability in the tested material related to their parents. The lines showing an appropriate performance were 19, 26, 27, 28, 43, 44, 47, 48 and 49, and the parent INCA LP-10.

Key words: *in vitro* culture, rice, anther culture, *Oryza sativa*, breeding, water requirements

INTRODUCCIÓN

El arroz constituye el alimento principal de más de dos mil millones de personas, una tercera parte de la población mundial, y las siembras ocupan unas 147 millones de hectáreas (1, 2). Se estima que para el 2030, la población en la tierra será de 8 300 millones de personas, con una demanda de arroz de 771 millones de toneladas (2). Para poder atender este aumento, la producción mundial de arroz actual, que es de 618 millones de toneladas, deberá incrementarse aproximadamente a 153 millones de

toneladas para el 2030, es decir, un 70 %. Se trata de un enorme desafío, ya que la tierra y el agua necesarias para el cultivo de arroz son recursos que continúan disminuyendo, como resultado de la urbanización e industrialización. Por consiguiente, se necesita explorar nuevas estrategias de investigación, para lograr un aumento sostenible de la producción de este cereal, preservando el medio ambiente y mejorando el bienestar de los productores (3, 4).

La producción arroceras actual demanda nuevas variedades, que presenten excelentes características agronómicas y posean buen comportamiento en la industria, resistencia a las principales plagas y enfermedades, y que resistan el déficit de agua (5), debido a que a pesar de que existen condiciones climáticas para que se desarrolle el arroz, en los últimos años se ha observado una reducción sustancial de los rendimientos, por la influencia negativa de diversos factores (6). Por otro lado, la composición varietal del cultivo ha dependido, casi exclusivamente, de los métodos tradicionales de mejoramiento; sin embargo, los avances logrados en la Biotecnología representan nuevas herramientas de investigación, con las cuales el fitomejorador puede desarrollar mejores variedades en menos tiempo (6, 7, 8). La técnica de cultivo de anteras de arroz ha sido utilizada de forma progresiva, como una alternativa para el método convencional de mejoramiento por pedigrí (7) y sus éxitos han sido descritos por muchos investigadores (9).

Un grupo de variedades han sido liberadas por esta técnica en varios países (9, 10), dentro de ellos: China (más de 30), Corea (4), Japón (3), Francia (10), Filipinas (1) y Cuba (2).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la factibilidad de utilizar la técnica del cultivo *in vitro* de anteras de híbridos, para la obtención de nuevas variedades en las condiciones de bajos suministros de agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el Laboratorio de cultivo de tejidos de la Estación Experimental del Arroz “Los Palacios”, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se obtuvieron 55 líneas isogénicas procedentes del cultivo *in vitro* de anteras de los cruces INCA LP-10/C4 153 y Amistad-82/C4 153 durante la primavera del 2001, ya que los progenitores de estos cruces presentan un buen comportamiento para las condiciones de sequía y bajos suministros de agua. Cuando las plantas alcanzaron suficiente desarrollo foliar y radicular, se retiraron del frasco, se eliminaron los residuos de callos y medios de cultivo, y se colocaron durante dos días en agua, para posteriormente transplantarlas en bandejas con suelo Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso (11). Se mantuvieron en condiciones semicontroladas con una temperatura entre 28 y 30°C, y protegidas del sol directamente para evitar su deshidratación.

Después de ocho días se fertilizaron con NPK, que contenía nitrógeno 70 kg.ha⁻¹, fósforo 26.8 kg.ha⁻¹ y potasio 28.8 kg.ha⁻¹, y al cabo de las dos semanas se trasplantaron al campo, conjuntamente con los progenitores INCA LP-10, Amistad-82 y C4 153. Se aplicó el manejo fitotécnico del cultivo del arroz (12). Para provocar las condiciones de bajos suministros de agua, se empleó el siguiente manejo: se estableció la lámina de agua a los 15 días de germinado el arroz, suspendiendo la entrada de agua a los 35 días después de germinado (DDG), reponiéndola nuevamente en el cambio de primordio hasta después del 50 % de floración. Al momento de la cosecha, se tomaron 10 plantas al azar y se le realizaron las siguientes evaluaciones.

- altura final de las plantas (cm)
- panículas/planta
- peso de 100 granos (g)
- granos llenos/panícula

- granos vanos/panícula
- longitud de los granos (mm)
- rendimiento/planta

Los datos fueron procesados mediante las técnicas Multivariadas de Componentes Principales y análisis de Conglomerados (13).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta el análisis de Componentes Principales (Tabla I), se observó que las componentes C1 y C2 extrajeron el 61.51 % de la variabilidad total. En la primera componente, las variables de mayor contribución fueron las panículas/planta, el rendimiento/planta y número de granos llenos/panícula, este último en sentido positivo y, en la segunda componente, las variables de mayor contribución fueron los granos vanos/panícula y el peso de 100 granos, en sentido negativo.

Tabla I. Valores propios y porcentajes de contribución de las componentes 1 y 2

	C1	C2
Valores propios	2.3546	1.9575
% contribución	33.63	27.87
% acumulado	33.63	61.51
Altura	- 0.219	0.217
Panículas/planta	- 0.841 ***	0.449
Peso de 100 granos	- 0.347	- 0.648 **
Rendimiento	- 0.815 ***	0.521
Granos llenos/panícula	0.658 **	0.549
Granos vanos/panícula	- 0.446	- 0.820 ***
Longitud de los granos	- 0.546	- 0.184

La representación gráfica, teniendo en cuenta la primera y segunda componentes, donde ejercen mayor contribución las principales variables evaluadas (Figura 1), mostró la distribución de los genotipos, lo que evidencia la existencia de variabilidad fenotípica en el material evaluado. Resultados similares fueron obtenidos al evaluar líneas isogénicas provenientes del cultivo *in vitro* de anteras de híbridos (10, 14, 15).

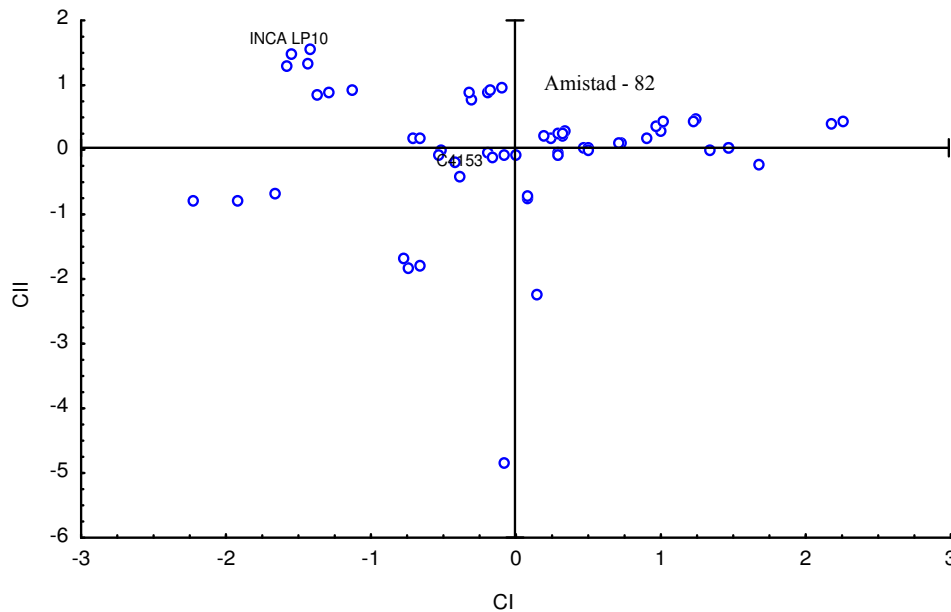


Figura 1. Distribución de los individuos en los ejes 1 y 2, según el análisis de Componentes Principales

En la parte negativa del eje C1 se encuentran los mejores genotipos, con excelentes valores para el rendimiento/planta y el número de panículas/planta, mientras que en la parte positiva los de más granos llenos/panícula para estas condiciones de bajos suministros de agua. Las panículas/planta es el componente más variable y ha sido la principal causa que ha limitado el rendimiento agrícola en nuestras condiciones; sus valores están muy relacionados con la calidad de la preparación del suelo, la siembra, la norma de siembra, la capacidad de ahijamiento de las variedades, el manejo del agua y la fertilización nitrogenada. Otro de los indicadores que contribuye a la obtención de altos rendimientos son los granos llenos/panícula, que aunque tienen menos variabilidad que el componente anterior, también han limitado el rendimiento cuando hay falta de desarrollo de las plantas y daños por plagas y enfermedades (16), y en el eje C2 se encuentran los genotipos con mayor número de granos vanos, peso de los granos en la parte negativa; a su vez, algunas progenies se ubicaron en una posición cercana a los progenitores, mientras que otras se encontraron distantes.

Se plantea que el conocimiento adecuado de las correlaciones entre el rendimiento y los caracteres que influyen en este, así como su interrelación, son esenciales para seleccionar un programa de mejoramiento efectivo (17); en este caso, son resultados de otros en ensayos superiores del rendimiento, empleando variedades originadas a través de técnicas biotecnológicas (5, 15).

Este resultado, aunque de carácter preliminar, constituye una alerta sobre la participación que tiene el número de panículas/planta en la formación del rendimiento, lo que puede ser un marcador para la selección temprana de genotipos de altos rendimientos, en las condiciones de suelo y clima en que se desarrolló esta experiencia (5). Del mismo modo, algunos señalaron que existe una relación lineal entre el número de hijos y el rendimiento. El número de hijos es muy importante por su contribución al rendimiento del arroz, si se parte de la base de que cada uno de ellos es capaz de producir panículas, pero no siempre es así, y se da el caso de variedades que producen muchos hijos, pero el porcentaje de fertilidad en ellos es bajo (17).

También algunos plantean que en este período lluvioso se acorta el ciclo del cultivo y está expuesto a una menor irradiación solar, lo que permite una menor traslocación de fotoasimilatos; además, al someter el cultivo a una deficiencia de agua durante un período de 30 días, se eleva la temperatura del suelo gradualmente hasta alcanzar entre 22 y 26°, permitiendo que aumente el ahijamiento (18).

Al respecto, la literatura plantea que el rendimiento es el resultado de muchas funciones fisiológicas del crecimiento de la planta, su herencia es poligénica y, por ello, está notablemente influido por el ambiente (19).

El análisis de conglomerados permitió agrupar los genotipos en cuatro clases. Las medias por variables y los genotipos pertenecientes a cada clase aparecen en la Tabla II. La clase I estuvo integrada por 20 líneas y el progenitor C4 153, que se caracterizó por presentar los genotipos más altos. En la clase II se agruparon 15 líneas y el progenitor Amistad-82, que se caracterizaron por presentar todos un excelente comportamiento para el carácter número de granos llenos/panícula; además, este progenitor es una variedad que se empleó mucho en el sector especializado, con la bondad de ser resistente a la sequía. En la clase III se agruparon 11 líneas, que se encuentran distantes a los progenitores que le dieron origen, y se caracterizaron por presentar los granos más pesados y la mayor cantidad de granos vanos, así como los rendimientos más bajos. Algunos coinciden en plantear que el número de granos llenos/panícula es el componente que más influencia tiene sobre el rendimiento (16). Sin embargo, si bien estas clases tienen una media verdaderamente alta en el carácter granos llenos/panícula, también es bastante alta para el carácter granos vanos/panícula, lo cual se debe a que en este grupo se encuentran las líneas 29, 30, 31, 52 y 57, con la mayor cantidad de granos vanos/panícula, lo cual afectó el valor de la media para este carácter en dichas clases. Otro de los caracteres de peor comportamiento para las clases II y III es el rendimiento/planta, que se debe entre otras causas a la cantidad de granos vanos que presentaban, lo cual influyó en el período que se realizó el experimento, donde existían condiciones de altas temperaturas, provocando que aparecieran algunas plagas que afectan el llenado de los granos e incrementan el vaneamiento de la panícula.

En algunas investigaciones hay resultados de la afectación que presentan las panículas en la época lluviosa por algunas plagas, como consecuencia de los daños causados por el ácaro *Sternotarsonemus spinki* y las enfermedades fungosas que aparecieron conjuntamente, entre ellas el *Sarocladium orizae* (16).

La clase IV, integrada por nueve líneas y el progenitor INCA LP-10, se caracterizó por presentar un excelente comportamiento en cuanto al rendimiento/planta, el número de panículas/planta y la longitud de la panícula para estas condiciones de bajos suministros de agua; se destacan las líneas 19, 26, 27, 28 y 43, obtenidas por cultivo de anteras perteneciente a los cruce INCA LP-10/C4 153 y las líneas 44, 47, 48 y 49, también obtenidas por la misma vía biotecnológica mediante el cruzamiento Amistad-82/C4 153. Además, estos progenitores presentan genes de resistencia a la sequía.

En otros estudios realizados, empleando como progenitores a las variedades Amistad-82 e INCA LP-10, han mostrado un buen comportamiento al manejo de agua que se utiliza en este estudio (4, 10).

Tabla II. Valores medio de los caracteres evaluados en cada grupo establecido sobre la base de la diversidad existente

Clases	Al (Cm)	P/P	Peso (g)	Rend/P	GLL/P	GV/P
LG						
I	97.72	36.11	25.8	114.62	76.65	22.28
8.82						
II	94.34	19.67	27.8	67.97	90.28	20.72
8.68						
III	95.30	11.48	25.7	32.76	77.43	36.81
8.85						
IV	94.07	54.51	29.9	179.78	68.76	29.10
9.18						
Media	94.29	29.79	24.4	96.24	78.75	26.33
8.85						
Clases						Genotipos
Efectivos						
I	1, 2, 15, 9, 10, 11, 13, 12, 3, 5, 7, 8, 4, 6, C4 - 40,		153, 14, 16, 17, 42,			41
21						
II	20, 24, 22, 23, 25, 21, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, Amistad - 46					
16						
III		29, 30, 31, 45,	57, 50, 51, 52, 53, 54, 55			
11						
IV		INCA LP - 10, 19, 26, 27, 28, 43, 44, 47, 48, 49				
10						

Leyenda: Al: Altura de las plantas P/P: Panícula/planta Peso: Peso de los granos GLL/P: Granos llenos/panículas GV/P: Granos vanos/panícula LG: Longitud de la panícula

REFERENCIAS

1. Cordero, V. y Rivero, L. E. Principales enfermedades fungosa que inciden en el cultivo del arroz en Cuba. La Habana, Cuba, MINAGRI, 2001.
2. FAO. WWW. FAO. Sala de prensa. Grande Esperanza. 2006. Consultado el 20 de mayo 2008.
3. Fischer, K. S. Research approaches for variable rainfall systems—thinking globally. Acting locally. Plant adaptation and crop improvement. Los Baños: IRRI. 1996, 623 p.
4. Alfonso, R., Rodríguez, S.; Pérez, R.; Suárez, E.; Hernández, L.; Ginarte, A. y Ávila, C. Resultados para el mejoramiento del arroz para bajos insumos de agua y fertilizantes en Cuba 2004–2007. En: Arroz. Encuentro Internacional

- del Arroz, Instituto de Investigación del Arroz. Memorias (4, 2008 jun. 2–6, La Habana). 2008, 15 p.
5. Cristo, E. *et al.*. Informe final del PTCT: Obtención de nuevas líneas y variedades de arroz para condiciones de estrés abiótico mediante el empleo de técnicas biotecnológicas. 2008, 53 p.
 6. Pérez, V. A. Comportamiento de líneas homocigóticas provenientes de cruces alejados en estudios de secano favorecido en el Instituto de Investigación del Arroz durante los años 2005–2007. En: Arroz Encuentro Internacional del Arroz, Instituto de Investigación del Arroz. Memorias (5, 2008 jun. 2–6, La Habana), 2008.
 7. Lentini, Z.; Martínez, C. M.; y Roca, W. M. Cultivo de anteras de arroz en el desarrollo de germosplasma, CIAT. Cali. Colombia. 1997, 51 p.
 8. González, M. C.; Rodríguez, M.; Pérez, Z.; Cristo, E.; López, Y.; Canales, E. y Borrás, O. Cuban rice mutants obtained from proton radiations. *Plant Breeding & Genetics Newsletter*, 2008, vol. 2, no. 1.
 9. Lentini, Z.; Mora, A.; Delgado, A.; Reyes, R.; Ortega, J. y Ordañez, L. Cultivo de anteras en el mejoramiento de arroz, CIAT Consultado [3–3-09]. Disponible en: <http://www.ciat.cgiar.org>.
 10. Cristo, E. V. Obtención de gametoclones derivados de plantas de arroz (*Oryza sativa*) mediante el cultivo de anteras de híbridos y variedades. *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no. 2, p. 35–39.
 11. Cuba, MINAGRI. Instituto de Suelos. Programa nacional de mejoramiento y conservación de suelos. La Habana. Agrinfor, 2001. 39 p.
 12. Cuba. MINAGRI. Instructivo técnico del arroz. 2001, 15 p.
 13. Varela, M. Análisis multivariado de datos. Aplicación a las Ciencias Agrícolas. La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 1998, 56 p.
 14. Pérez, N.; Admetlla, E. y Aguilar, M. Evaluación de líneas de arroz obtenidas por cultivo *in vitro* de anteras de híbridos. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24., no. 2. p. 81–83.
 15. Pérez, N. Ismael, C. y González, M. C. Mejoramiento genético mediante el cultivo *in vitro* de anteras de híbridos de arroz. *Cultivos Tropicales*, 1995, vol. 16, no. 2, p. 54–56.
 16. Cuba. MINAGRI. Instructivo técnico del arroz. 2006, 113 p.
 17. Deus, J. E.; Pérez, R.; Ávila, J. y Rodríguez, S. Análisis de correlaciones genotípicas, fenotípicas y ambientales entre el rendimiento y caracteres de importancia agronómicas en arroz (*Oryza sativa* L.). *Agrotecnia de Cuba*, 1990, vol. 22, no. 1. p. 51-56.
 18. Polón, P. R.; Castro, R. I.; Pérez, Z.; Morejón, R.; Ramírez, M. A.; Miranda, A. y Rodríguez, A. T. Influencia de la altura de soca en el rendimiento del arroz (*Oryza sativa* L.) en una variedad de ciclo medio J- 104. *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no. 2, p. 53–55.
 19. Abreu, F. B.; Leal, N. R.; Rodríguez, R.; Amaral, A. T. Jr. y Siva, D. J. H. Divergencia genética entre accesos de feijão-de-vagem de hábito de crecimiento indeterminado. *Horticultura Brasileira*, 2004, vol. 22, no. 3, p. 547–552.