



66999
COLECCION HISTORICA

USO DEL CULTIVO DE ANTERAS EN EL DESARROLLO DE GERMOPLASMA DE
ARROZ TOLERANTE A TEMPERATURAS BAJAS ^{a/}

César P. Martínez y E. Pulver ^{b/}

RESUMEN

7 ENE. 1982

9455

El cultivo de anteras ha sido presentado como un medio útil para la obtención de líneas homocigotas en forma rápida. El Programa de Arroz del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) ha venido trabajando en el desarrollo de un método sencillo para producir un volumen grande de material genético a través del cultivo de anteras. Se estudiaron formas para mejorar la siembra y el medio de cultivo. Se observó que para reducir contaminación se debe trabajar con paniculas recién cosechadas; la siembra se efectúa "golpeando" las flores cortadas en su parte basal sobre los bordes de los frascos. No se detectó interacción entre el medio de cultivo y el genotipo; se identificó el medio de extracto de papa + 4 ppm NAA + 1 ppm Kinetina como el más eficiente en la inducción de callos. Se encontró que sometiendo anteras de variedades con capacidad androgénica a temperaturas de 80°C por períodos de 5 a 15 días se puede aumentar la formación de callos. De los cuatro solidificantes estudiados, Agar Comercial, Agarosa, Gel Rite y Algodón, el primero mostró tendencia a aumentar la mortalidad de callos y disminuir la regeneración de plantas en seis variedades. El método de siembra, el medio nutritivo y las condiciones ambientales que mostraron mayor eficiencia para la producción de plantas haploides dobladas se utilizaron para producir líneas tolerantes al frío y de buena calidad para Chile, y para estudiar la incidencia del cultivo de anteras sobre algunas características.

a/ Trabajo presentado en la XVIII. Reuniao da Cultura do Arroz. Porto Alegre, Brasil. Setembro 25-29/89

b/ Fitomejorador y Agrónomo del Programa de Arroz CIAT, respectivamente. A.A. 67-13, Cali-Colombia.

Se han obtenido líneas promisorias para Chile, varias de las cuales provienen del cultivo de anteras y se encuentran en la etapa final de evaluación. El uso sucesivo del cultivo de anteras no afecta significativamente el rendimiento de las líneas resultantes. Hasta el momento los factores limitantes para el uso extensivo de la técnica de cultivo de anteras en mejoramiento de arroz son la alta proporción de plantas albinas y la poca respuesta del germoplasma de riego.

Introducción

La obtención de líneas "haploides dobladas" (el doblamiento del número de cromosomas ocurre espontáneamente durante el cultivo in vitro de las anteras) a través del cultivo de anteras constituye una técnica que puede utilizarse de distintas formas; la utilización más inmediata, y tal vez la más importante, consiste en la obtención de homocigosis en menos de un año. El objetivo principal del Laboratorio de Cultivo de Anteras del Programa de Arroz del CIAT es utilizar dicha técnica como una herramienta adicional que complementa los métodos convencionales de mejoramiento.

Por muchos años se ha venido sosteniendo que el cultivo de anteras de arroz tiene muchísima importancia; sin embargo, un gran vacío existe aún entre la teoría y la práctica. Si bien es cierto que en el Asia se ha obtenido algún éxito a través del uso de material genético del tipo japonico, la técnica aún no ha sido incorporada en programas de mejoramiento de arroz como una práctica rutinaria. Esto se explica, entre otras cosas, porque (a) muy pocos genotipos responden bien al cultivo de anteras y (b) faltan métodos adecuados para generar el alto volumen de material genético que se requiere en un programa de mejoramiento. Por otra parte, en la literatura se mencionan varios casos en los cuales se ha asociado el cultivo de anteras con la presencia de ciertos caracteres negativos en los materiales obtenidos a través de esa técnica.

Los objetivos de este documento son: (a) revisar el desarrollo de una metodología apropiada en el Laboratorio de Cultivo de Anteras del Programa de Arroz y b) discutir su utilización en el desarrollo de germoplasma tolerante a temperaturas bajas por el Programa de Arroz del CIAT.

Desarrollo de una Metodología Apropriada en el Cultivo de Anteras.

Con el fin de desarrollar un método sencillo y rápido que permita producir un volumen grande de material genético se realizaron estudios sobre el almacenamiento de panículas, métodos de siembra de anteras, efectos de la temperatura y medios de cultivo para la inducción de callos y regeneración de plantas.

Almacenamiento de Panículas

Es bien sabido que la inducción de callos es mejor cuando las microsporas se encuentran en el estado unicleado tardío o binucleado temprano; si las anteras que llegan a ese estado se pudieran cosechar y guardar bajo condiciones asépticas, se dispondría de más tiempo para sembrarlas. Se estudiaron varios métodos de almacenamiento de las panículas pero siempre se encontró una contaminación bacterial muy alta; la contaminación fue mínima cuando las panículas cosechadas se procesaron inmediatamente o a más tardar, al día siguiente.

Siembra de Anteras

En el cultivo de anteras este paso es uno de los más laboriosos y demorados. En un principio un técnico entrenado sólo podía sembrar aproximadamente 1.500 anteras/día, cantidad insuficiente para generar un volumen adecuado de líneas haploides (dobladas); por esta razón se evaluaron varios métodos de siembra: (a) siembra directa de las flores cortadas en su parte basal en el medio líquido de inducción; (b) igual al método anterior pero utilizando un agitador para extraer las anteras de

las flores cortadas y (c) extracción de las anteras de las flores cortadas mediante "golpecitos" en el borde de los frascos. Con los métodos a y b se sembró un mayor número de anteras pero la contaminación por bacterias fue muy alta (>50%); el uso de esterilizantes y antibióticos redujo la contaminación a niveles aceptables pero se desconoce si afectan negativamente la capacidad de respuesta de los materiales. El método c, si bien es más lento que los otros, no presentó problemas de contaminación y por consiguiente, es el que se está utilizando. Este sistema permite que un técnico siembre 8.000 anteras/día.

Influencia del Medio de Inducción en la Formación de Callos

Los resultados de trabajos preliminares realizados por la Unidad de Biotecnología del CIAT sugerían la existencia de una interacción entre el medio de cultivo y el genotipo y para comprobar esto se colocaron anteras de cada una de las 24 poblaciones F1 del grupo indica en tres medios. Este grupo ha recibido muy poca atención en esta clase de trabajos ya que todos se han hecho utilizando variedades japónicas. Los medios de inducción utilizados fueron:

- No.1. Extracto de papa + 4 ppm NAA (Acido naftaleno acético)
+ 1 ppm Kinetina.
- No. 2 Extracto de papa + 2 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetina.
- No. 3 N 6 + 4 ppm NAA + 1 ppm Kinetina

Los resultados de este ensayo indican que la interacción medio de cultivo por genotipo no es significativa y que la mayor producción de callos en 22 de las 24 poblaciones usadas se logró cuando se utilizó el medio de cultivo No. 1 (Figura 1). En promedio los tres medios tuvieron en la formación de callos el efecto que se observa en el Cuadro 1.

Influencia de la Temperatura sobre la Inducción de Callos

El porcentaje de inducción de callos es mayor cuando las anteras de las variedades japónicas se someten a temperaturas bajas; este tratamiento puede no ser adecuado en el caso de la variedades indicas susceptibles a temperaturas bajas. Se estudió el efecto de varias temperaturas (8, 30, 35 y 40°C) sobre la inducción de callos en las variedades CICA 8, CICA 4, Oryzica 1 y Fanny; CICA 4 y Oryzica 1 no respondieron, en tanto que la producción de callos en CICA 8 se incrementó cuando las anteras se sometieron a 8°C durante 15 días; Fanny (japónica) respondió muy bien pero la respuesta fué mejor cuando se trató durante 10 días a 8°C (Cuadro 2). Exposiciones cortas a 30, 35 o 40°C afectaron negativamente la formación de callos en todas las variedades.

Por otra parte, la temperatura a la cual se incuba el material también es importante, puesto que temperaturas mayores de 25°C reducen la formación de callos aún en Fanny.

Los datos sugieren que la temperatura baja (8°C) puede estimular la producción de callos en materiales que poseen cierta capacidad androgénica (habilidad para producir callos) pero que no va a convertir un genotipo que no produce callos en uno que sí produce, como es el caso de CICA 4 y Oryzica 1.

Influencia de los Solidificantes en la Regeneración de Plantas.

El ambiente, tanto físico como químico que rodea la etapa de regeneración de plantas, juega un papel muy importante. Por otra parte, el efecto residual del medio de inducción parece tener más influencia sobre la regeneración de plantas que el mismo medio de regeneración; los callos que permanecen expuestos al medio de inducción por mucho tiempo raras veces producen plantas. Por consiguiente, los callos deben sacarse del medio inductivo lo más

pronto posible, pero no antes de alcanzar un tamaño adecuado; si se transfieren muy pequeños se mueren. Por lo tanto, medios que aseguren la sobrevivencia de esos callos son muy importantes. Se han evaluado varios medios de regeneración, pero ninguno ha sido mejor que el medio sólido Murashige-Skoog (MS) el cual contiene 1 ppm NAA y 4 ppm Kinetina.

Se estudiaron varios solidificantes y se determinó su influencia sobre la mortalidad de los callos y el porcentaje de regeneración de plantas (Cuadros 3 y 4). En general el agar comercial mostró cierta tendencia para producir mayor mortalidad de los callos, mientras que los agares más puros (Agarosa y Gel-rite) y el algodón ocasionaron menor mortalidad de callos y además, incrementaron el porcentaje de regeneración de plantas. No obstante, en el caso del algodón se tuvo mayor dificultad en la remoción de las plántulas regeneradas.

Para las cinco variedades utilizadas no se observaron diferencias muy marcadas entre los cuatro medios utilizados (Cuadro 3) con respecto a la mortalidad de callos, pero la regeneración de plantas verdes en la variedad Col. 1 x M312A es 0 en agar comercial, algodón y gel-rite y solo alcanza 2.5% en agarosa (Cuadro 4).

Efecto del Cultivo de Anteras sobre el Rendimiento

La literatura cita varios casos en los cuales, los materiales genéticos obtenidos mediante el cultivo de tejidos presentan ciertas características negativas cuando se les compara con los cultivares que les dieron origen; en el caso del tabaco el cultivo de tejidos se traduce en una reducción del vigor y crecimiento; en arroz se reportó un incremento en la expresión del centro blanco en líneas obtenidas a través del cultivo de anteras; mientras que en cebada no se encontró ningún efecto negativo.

Diez y nueve líneas R2 obtenidas a través del cultivo de anteras tomadas de plantas F2 y F3 provenientes de siete cruzamientos se utilizaron para producir 59 líneas (R2 de R2) (es decir líneas procedentes de cultivos de anteras sucesivos) con el fin de determinar como influye el cultivo de anteras sobre el rendimiento. La evaluación se hizo en CIAT bajo condiciones de fangueo y trasplante utilizando un diseño de bloques al azar con tres repeticiones; las parcelas tuvieron seis surcos de 5 m de largo y se siguieron las prácticas normales de cultivo en lo referente a la fertilización y control de malezas e insectos.

El análisis estadístico indicó que no hubo diferencias significativas entre padres (Líneas R2) e hijos (Líneas R2 de R2) (Cuadro 5).

En otro ensayo se comparó el rendimiento de 11 líneas F3, 37 líneas F4 y 42 líneas haploides dobladas; las líneas F3 dieron origen a las 37 líneas F4 a través del sistema de pedigree y a los 42 haploides doblados mediante el cultivo de anteras. Todo el material provino de los mismos siete cruzamientos. El ensayo de rendimiento se realizó en condiciones similares al anterior. El análisis estadístico y datos de rendimiento se presentan en los cuadros 6 y 7, respectivamente. Hubo diferencias significativas en rendimiento entre líneas y cruzamientos, pero no entre generaciones (F3, F4 y R2); sin embargo, hubo diferencias significativas entre líneas hermanas pertenecientes al mismo cruzamiento y a la misma generación. En el Cuadro 8 se presentan diferencias significativas entre líneas haploides dobladas derivadas de la línea F3 CT 6741-1-1 y entre líneas F4 hermanas provenientes de la línea F3 CT 6742-12-1. Además, también hubo diferencias significativas entre líneas haploides dobladas derivadas de la misma línea F3 CT 6746-4-1. Esto sugiere que la variabilidad genética para rendimiento se mantuvo a través de ambos sistemas (convencional y cultivo de anteras).

En otro ensayo se estudió el rendimiento de 111 gametoclonos provenientes de nueve cultivares; se encontró que el rendimiento promedio de los padres no fué significativamente diferente del rendimiento promedio de los gametoclonos al nivel del 5% (Cuadro 9).

Los resultados de estos ensayos sugieren que en arroz el cultivo de anteras no tiene un efecto negativo sobre el rendimiento de los materiales genéticos obtenidos a través de esta técnica.

Utilización de la Metodología Desarrollada en la Obtención de Germoplasma Tolerante a Temperaturas Bajas

El Programa de Arroz del CIAT ha hecho varios intentos para combinar la tolerancia al frío de las variedades japónicas con el potencial de rendimiento y calidad de grano de las indicas. El alto porcentaje de esterilidad presente en estos cruzamientos ha impedido lograr avances en este campo. Se efectuaron cruzamientos triples entre el material chileno de tipo japónica (Diamante, Q 65101, Q 64117 y Q 66304) con alta capacidad androgénica y tolerantes al frío pero de mala calidad y la variedad Lemont (susceptible al frío pero de excelente calidad) de tipo indica con el fin de desarrollar germoplasma apropiado para las condiciones de Chile, tolerante a temperaturas bajas, precoz, de grano largo, delgado, translúcido y buena calidad de cocina. Este trabajo se hizo en estrecha colaboración con el Programa de Arroz del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) de Chile.

Los cruzamientos se manejaron tanto por el cultivo de anteras como por el método del pedigrí (Figura 2) lo cual permitió realizar ciertas comparaciones entre los materiales genéticos obtenidos a partir de ambos procedimientos y evaluar la potencialidad de la técnica de cultivo de anteras antes descrita. En general, los cruzamientos se trabajaron fácilmente a través de

la técnica del cultivo de anteras gracias a su alta capacidad androgénica; el porcentaje de inducción de callos fue del 37% y aproximadamente el 9% de los callos produjeron plantas obteniéndose 941 líneas haploides dobladas (Cuadro 10). Algunos cruzamientos (CT 6741, CT 6746 y CT 6749) fueron superiores a los otros en términos del número de líneas homocigotas obtenidas y potencial de las mismas. Los cruzamientos fueron muy estériles y sólo se obtuvieron 234 familias F2 en el método del pedigrí. Tanto el material proveniente del cultivo de anteras como el generado a partir del método convencional del pedigrí fueron seleccionados por tipo de planta, precocidad y calidad de grano en CIAT-Palmira. Se identificaron 190 líneas R3 y 270 líneas F5 que presentaban las características deseadas: porte bajo, buen tipo de planta, precocidad, grano largo, delgado y translúcido, temperatura de gelatinización intermedia y contenido de amilosa entre 21 y 25%. La diferencia principal entre los dos procedimientos (anteras y convencional) fue el tiempo empleado en cada uno. Las líneas R2 se produjeron en nueve meses mientras que las líneas F5 requirieron cuatro generaciones (16-18 meses). Luego de las evaluaciones por tolerancia a temperaturas bajas en los estados de germinación, plántula y floración, vigor y potencial de rendimiento realizadas por el Programa de Arroz del INIA en el Centro Experimental Quilamapu, en Chillán, Chile se identificaron 55 líneas como promisorias (Cuadro 11). Semilla de este material se envió al IRRI para su inclusión en el IRCTN (Vivero Internacional de Tolerancia al Frío) y a varios programas nacionales de arroz (Brasil, Cuba, México, Perú) y al IRAT para evaluaciones en distintas condiciones.

Se realizó un ensayo bajo condiciones de campo en el Centro Experimental Quimalupu para determinar la tolerancia al frío de 59 líneas en la etapa reproductiva. En el Cuadro 12 se presentan aquellas líneas que son similares a los testigos tolerantes al frío (Oro, Diamante, Quella y Perla) en la etapa reproductiva; la esterilidad de la panícula en los testigos tolerantes fluctuó entre 17 y 33%, mientras que en los testigos

susceptibles fué del 75 al 91%. La prueba se considera buena ya que las temperaturas observadas en el área de Chillán, Chile en esa misma época causó esterilidad en campos comerciales. Tanto líneas derivadas mediante el cultivo de anteras como por el sistema de pedigree mostraron tolerancia al frío.

El programa de arroz del IIA (Instituto de Investigación del Arroz de Cuba) realizó una evaluación de 291 líneas por su tolerancia a temperaturas bajas en los estados de plántula y reproductivo; en el Cuadro 13 se presentan las líneas seleccionadas como tolerantes en ambos estados; la mayoría de las líneas seleccionadas pertenecen a los cruzamientos CT 6744 (Q 66304/Lemont//Q 65101) y CT 6749 (Q 66304/Lemont//Diamante); los testigos comerciales Amistad 82 y J-104 fueron muy afectados por el frío. Dado que la producción de arroz en Cuba es afectada por ciertos factores limitantes distintos a los presentes en Chile, Uruguay y el Sur de Brasil, las líneas seleccionadas se están utilizando como progenitores con el fin de desarrollar germoplasma mas adecuado a sus necesidades especialmente para el ciclo de invierno (Octubre-Marzo) en el cual se presentan temperaturas frías, vientos fuertes y baja luminosidad.

Por otra parte, también se realizaron ensayos de campo para determinar el potencial de rendimiento de líneas haploides dobladas en varios sitios en Chile; los datos se presentan en el Cuadro 14. El análisis estadístico indicó diferencias significativas en rendimiento entre cultivares; la línea CT 6743-47-6-CA-4 rindió significativamente más que Oro (la variedad comercial más popular en Chile) pero rindió igual que Diamante y Perla, mientras que la línea CT 6743-F2-CA-20 rindió lo mismo que Oro y Diamante. Esto sugiere que líneas derivadas a través del cultivo de anteras pueden rendir igual o mejor que las variedades comerciales bajo las condiciones de Chile. No obstante, este grupo de líneas tuvo una altura más baja y fué más afectado por la competencia de malezas que Oro y Diamante en campos de agricultores. Tal vez con un manejo agronómico adecuado (buena

nivelación, buen manejo del agua y control de malezas) este material puede rendir igual o mejor que las variedades tradicionales sembradas en Chile.

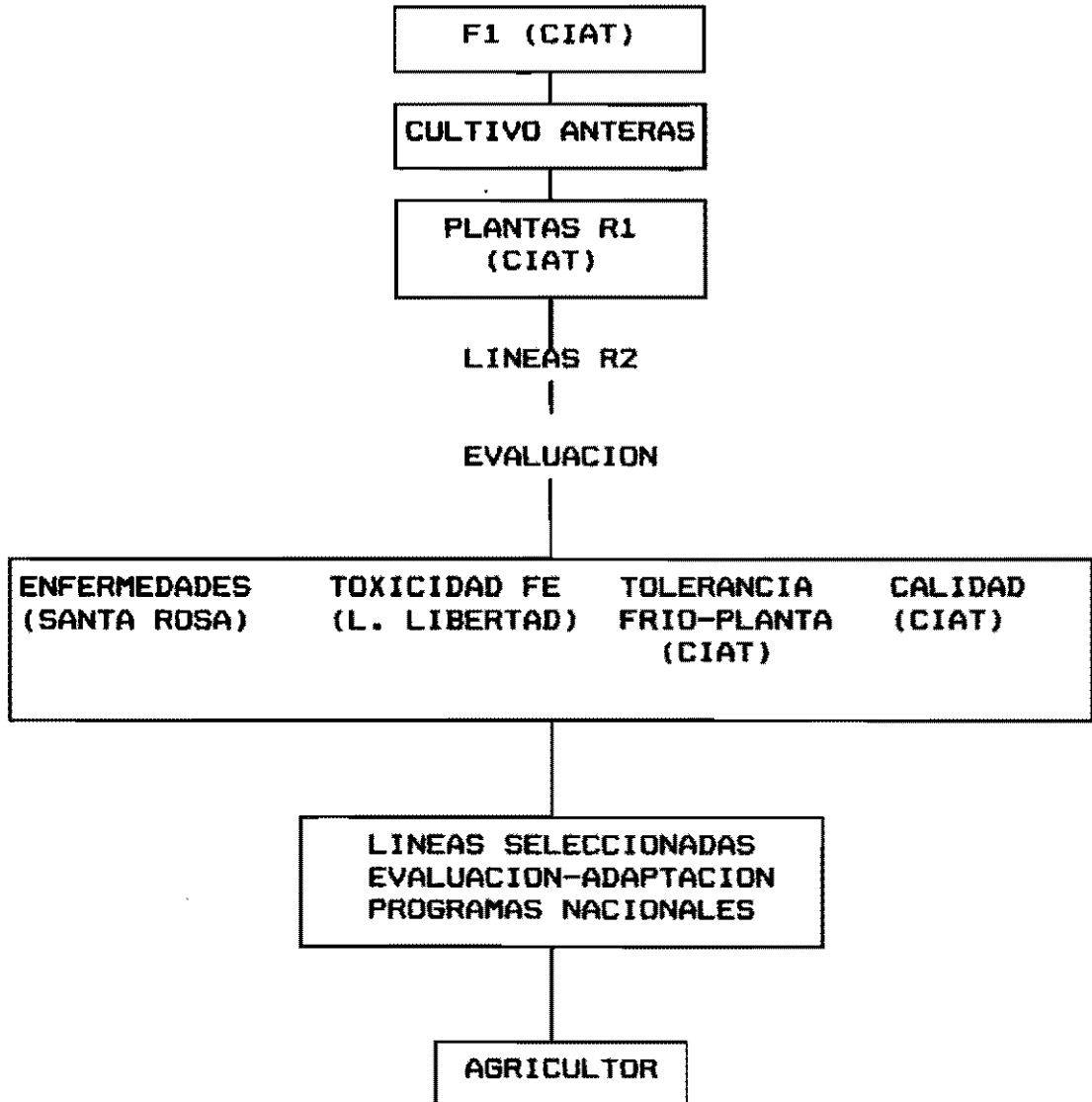
Perspectivas

El Programa de Arroz del CIAT tiene la responsabilidad regional de asistir a los programas nacionales en el mejoramiento de la producción arroceras; sin embargo, en el caso del arroz riego sembrado en la zona subtropical y templadas su acción se ha visto afectada por la localización tropical del CIAT. Por muchos años se ha tratado de producir germoplasma adecuado a las necesidades de Argentina, Chile, Sur del Brazil, Paraguay y Uruguay con resultados poco satisfactorios; entre los defectos más comunmente observados en los materiales provenientes del CIAT se cuentan el ciclo largo y la susceptibilidad a las bajas temperaturas. No obstante, los datos presentados indican la existencia de germoplasma mejorado tolerante a temperaturas bajas, de buena calidad de grano y ciclo temprano; este material utilizado convenientemente en cruzamientos con otros materiales de buena adaptación local puede servir de base para la obtención de germoplasma más apropiado a las condiciones de la región. Los datos también indican que el cultivo de anteras es un instrumento valioso para acelerar la obtención de dicho germoplasma. En coordinación con los programas de arroz de Chile, Cuba y del IRGA se están programando y procesando vía cultivo de anteras cruzamientos que presentan las combinaciones siguientes:

1. Material chileno/líneas enanas sabana//material chileno
2. Material chileno/líneas IRGA//líneas enanas sabana
3. Material chileno/líneas enanas sabana//líneas IRGA
4. Material chileno/material cubano//material chileno

Se trata de aprovechar la buena respuesta al cultivo de anteras del material chileno y de las líneas enanas de sabana; además, el material de sabana aporta tolerancia a piricularia y a

la toxicidad de hierro y precocidad; la tolerancia al frío y buena calidad es aportada por el material chileno. Por último, los materiales del IRGA y de Cuba contribuyen con potencial de rendimiento y adaptación a las condiciones locales. El flujo de materiales es el siguiente:



Cuadro 1. Formación de callos en tres medios de inducción

Medio de inducción	Formación de a/ callos
Extracto de papa + 4 ppm NAA + 1 ppm Kinetina	3.01 + .08 b/
Extracto de papa + 2 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetina	2.56 + .11
N6 + 4 ppm NAA + 1 ppm Kinetina	1.79 + .10

a/ Escala 1 - 5 : 1 = sin callos; 2 < 10; 3 = 11-25; 4 = 26-50; y 5 = > 50 callos/100 anteras.

b/ Promedios de 24 poblaciones F1 con un total de 162 observaciones seguidas por el error estandar.

Cuadro 2. Formación de callos de las anteras de cuatro variedades (3 indicas y 1 japónica) tratadas con distintas temperaturas.

Tratamiento (°C)		No. de callos/100 anteras				
Pre-incubación	Incubación					
	50 días	CICA 8	CICA 4	Oryzica 1	Fanny	Promedio
Ninguna	25	8.0	3.3	0.6	338	87.5
Ninguna	30	0	0	0	11	2.6
Ninguna	35	0	0	0	8	1.9
8 - 5 días	25	10.8	0.7	0.4	415	106.7
8 - 10 días	25	12.2	0.3	2.0	504	129.6
8 - 15 días	25	27.5	0	0	300	81.9
30 - 5 días	25	0	0.8	0	1	0.5
30 - 10 días	25	0	0	0.4	4	1.1
30 - 15 días	25	0	0.2	0	1	0.3
35 - 1 días	25	2.2	1.6	2.2	83	22.3
35 - 2 días	25	13.8	0.3	0.6	20	8.7
35 - 4 días	25	1.0	6.0	0.4	62	17.3
40-1/4 día	25	6.8	0	0	131	34.5
40-1/2 día	25	10.0	1.8	0	83	23.6
40- 1 día	25	2.6	0.2	0	98	25.2
LSD (0.05)		5.5	1.4	1.0	103	14.9

Cuadro 3. Mortalidad de callos de cinco variedades sobre cuatro medios solidificantes.

Variedad	Mortalidad de callos (%)			
	Agar comercial	Algodón	Agarosa	Gel-Rite
TDX 1010-49-1	70 ± 8.6	58 ± 3.9	51 ± 4.6	59 ± 3.8
IAC 165	65 ± 6.3	54 ± 2.5	41 ± 4.3	55 ± 6.2
TDX 1011-4-1	63 ± 10.0	66 ± 9.8	53 ± 6.4	54 ± 9.5
Colombia 1	68 ± 4.8	38 ± 7.0	63 ± 5.6	48 ± 12
Col.1XM312A	97 ± 3.3	40 ± 5.8	58 ± 8.6	50 ± 11
Promedios ^{a/}	70 ± 7.7	55 ± 4.8	51 ± 5.1	56 ± 6.1

^{a/} Promedios de 64 replicaciones con 10 callos por replicación, seguido por el error estándar.

Cuadro 4. Regeneración de plantas verdes de cinco variedades sobre cuatro medios solidificantes.

Variedad	Regeneración de plantas (%)			
	Agar comercial	Algodón	Agarosa	Gel-Rite
TOX 1010-49-1	4.6 ± 1.4	6.6 ± 1.3	7.4 ± 2.2	4.9 ± 1.6
IAC 165	1.0 ± 0.9	2.0 ± 1.3	3.0 ± 3.5	5.0 ± 2.2
TOX 1011-4-1	4.3 ± 2.9	5.0 ± 3.3	11.4 ± 3.4	5.7 ± 3.7
Colombia 1	0	12.5 ± 1.3	10.0 ± 5.1	13.3 ± 5.6
Col.1XM312A	0	0	2.5 ± 2.0	0
Promedios ^{a/}	3.3 ± 1.3	5.8 ± 1.5	7.2 ± 2.5	5.5 ± 2.2

a/ Promedios de 64 replicaciones con 10 callos por replicación, seguido por el error estandar.

Cuadro 5. Rendimiento de las líneas R2 de R2 provenientes de líneas R2 derivadas a través del cultivo de anteras.

Cruce No.	No. líneas Padres	No. líneas R2 de R2	Rendimiento (t/ha)	
			Padres	R2 de R2
CT 6741	3	7	5.3	5.3
CT 6742	1	5	4.7	4.8
CT 6744	2	3	4.8	4.8
CT 6745	1	1	3.9	3.8
CT 6746	7	16	5.0	4.9
CT 6747	2	23	5.4	5.3
CT 6749	3	4	4.9	4.8
Total/Promedio	19	59	4.9	5.0
C.V. 5.8				

MSE = 437.6

LSD = (0.05) = 700.3

Cuadro 6. Análisis de varianza para la comparación entre las líneas haploides dobladas y las generaciones F3 y F4

Fuente variación	D.F.	Valor F	Probabilidad
Repeticiones	2	2.05	.1310
Líneas	93	2.97	.0001**
Padres vs cruces	1	37.95	.0001**
Entre padres	3	4.73	.0033**
Entre líneas	89	2.51	.0001**
Entre cruces	6	11.42	.0001**
Entre Generaciones (F3, F4, R2)	2	2.39	.0949NS
Cruce X Generación	12	1.49	.1311NS
Entre líneas hermanas	69	1.92	.0003**
(Error)	186		

MSE = 620.19

** = Altamente significativa al nivel 0,01

Cuadro 7. Comparación del rendimiento de 37 líneas F4 y 11 líneas F3 con el rendimiento de 42 líneas haploides dobladas.

Generación	No. de líneas	Rendimiento (kg/ha)	
		Rango	promedio
F3	11	6476 - 5214	5815
F4	37	6966 - 4660	5866
R2	42	7068 - 3634	5692

MSE = 620.2 C.V. = 10.8%

Cuadro 8. Rendimiento (kg/ha) de líneas haploides dobladas y líneas F4 provenientes de algunos cruzamientos.

Haploides dobladas	Rdmta ^{a/}	Líneas F4	Rdmta ^{a/}
CT 6741-1-1-CA-3	5965 a	CT 6741-1-1-2	5883 a
CT 6741-1-1-CA-7	5708 a	CT 6741-1-1-3	5835 a
CT 6741-1-1-CA-2	5180 ab	CT 6741-1-1-6	5613 a
CT 6741-1-1-CA-4	5096 ab	CT 6741-1-1-4	5459 a
CT 6741-1-1-CA-8	5069 ab	CT 6741-1-1-1	5245 a
CT 6741-1-1-CA-5	4931 ab	CT 6741-1-1-5	4660 a
CT 6741-1-1-CA-6	4699 ab	LSD = 1458	
CT 6741-1-1-CA-1	3635 b		
LSD = 1552			
CT 6742-12-1-CA-5	6233 a	CT 6742-12-1-1	6565 a
CT 6742-12-1-CA-4	6172 a	CT 6742-12-1-5	6449 ab
CT 6742-12-1-CA-6	5883 a	CT 6742-12-1-2	5942 ab
CT 6742-12-1-CA-2	5549 a	CT 6742-12-1-3	5631 ab
CT 6742-12-1-CA-3	5346 a	CT 6742-12-1-4	5151 b
CT 6742-12-1-CA-1	5335 a	LSD = 1395	
CT 6742-12-1-CA-7	4990 a		
LSD = 1509			

a/ Promedios seguidos por la misma letra no son diferentes al nivel de 0,05%

Cuadro 9. Rendimiento (kg/ha) de haploides dobladas provenientes de diferentes cultivares.

Cultivar	Haploides dobladas (No.)	Rdto haploide doblados (kg/ha)		
		<hr/>		
		Mas Rendidor	Promedio	Promedio
Colombia 1	6	5825	5240	5429
CAC 165	5	6118	5710	5877
COX 1011-4-1	4	6068**	5312	4714
COX 1871-38	12	4583**	3918**	3166
COX 1785-19-18	10	6897	6173	6272
COX 1010-49	30	6492**	5894	5331
ERICA 8	13	8058	7186	7527
Oryzica 1	5	7772	7456	8151

LSD = Para comparaciones entre cultivares y sus correspondientes haploides doblados = 963.3

** = Diferente al nivel del 0,05 del promedio del cultivar (LSD = 711)

ISE = 601.92

Cuadro 10. Producción de líneas homocigotas a partir de 10 cruzamientos manejados por cultivo de anteras.

Progenitores	Anteras sembradas (No.)	Producción callos (No.)	Producción (%)	Plantas regeneradas (No.)			Plantas verdes (%)			Regeneración haploides doblados (%)			
				Total	Verdes	Albinas	Callos	Anteras	Haploides doblados (No.)	Plantas			
										verdes	Callos	Anteras	
41	Diamante/Lemont//Q 65101	11000	4436	40.3	602	311	291	7.0	2.8	211	67.8	4.8	1.9
42	Q 64117/Lemont// Q 65101	2900	1944	67.0	284	108	176	5.5	3.7	69	63.9	3.5	2.4
43	Q 65101/Lemont// Q 65101	3000	491	16.3	94	53	41	10.7	1.7	28	52.8	5.7	0.9
44	Q 66304/Lemont// Q 65101	3700	2001	54.1	218	96	122	4.7	2.6	79	82.3	3.9	2.1
45	Q 67103/Lemont// Q 65101	1700	464	27.3	77	43	34	9.2	2.5	22	51.2	4.7	1.3
46	Diamante/Lemont//Diamante	3100	1641	52.9	348	245	103	14.9	7.9	169	69.0	10.3	5.5
47	Q 64117/Lemont//Diamante	2900	753	26.0	115	67	48	8.9	2.3	50	74.6	6.6	1.7
48	Q 65101/Lemont//Diamante	2500	1109	44.3	236	179	57	16.1	7.2	145	81.0	13.1	5.8
49	Q 66304/Lemont//Diamante	7100	1046	14.7	183	123	60	11.7	1.7	116	94.3	11.1	1.6
50	Q 67103/Lemont//Diamante	1200	496	41.3	87	56	31	11.3	4.7	52	92.9	10.5	4.3
1		39.100	14.381	36.8	2244	1.281	963	8.9	3.3	941	73.5	6.5	2.4

Cuadro 11. Líneas tolerantes al frío nominadas al Vivero Internacional de Tolerancia al Frío por el Programa de Arroz del INIA-Chile.

No.	Origen		Progenitores
	INIA	Pedigree	
1	CINIA 6	CT 6741-15-CA-18	Diamante/Lemont//Q 65101
2	CINIA 13	CT 6741-CA-14	Diamante/Lemont//Q 65101
3	CINIA 14	CT 6741 F2-CA-22	Diamante/Lemont//Q 65101
4	CINIA 18	CT 6742-10-10-1-M-M-M	Q 64117/Lemont//Q 65101
5	CINIA 40	CT 6742-22-5-4-M-3-M	Q 64117/Lemont//Q 65101
6	CINIA 42	CT 6742 F2-CA-8	Q 64117/Lemont//Q 65101
7	CINIA 47	CT 6743-33-3-2-M-1-M	Q 65101/Lemont//Q 65101
8	CINIA 74	CT 6743-5-8-3-M-2-M	Q 65101/Lemont//Q 65101
9	CINIA 76	CT 6743-9-4-2-M-M-M	Q 65101/Lemont//Q 65101
10	CINIA 79	CT 6743-9-4-6-M-3-M	Q 65101/Lemont//Q 65101
11	CINIA 86	CT 6744-18-6-3-M-2-M	Q 66304/Lemont//Q 65101
12	CINIA 108	CT 6744 F2-CA-10	Q 66304/Lemont//Q 65101
13	CINIA 115	CT 6744 F2-CA-51	Q 66304/Lemont//Q 65101
14	CINIA 129	CT 6746-11-2-2-M-1-M	Diamante/Lemont//Diamante
15	CINIA 151	CT 6746-12-CA--32	Diamante/Lemont//Diamante
16	CINIA 154	CT 6746-2-4-8-M-3-M	Diamante/Lemont//Diamante
17	CINIA 155	CT 6746-20-7-1-M-1-M	Diamante/Lemont//Diamante
18	CINIA 156	CT 6746-10-7-1-M-2-M	Diamante/Lemont//Diamante
19	CINIA 160	CT 6746-5-CA-3	Diamante/Lemont//Diamante
20	CINIA 163	CT 6746 F2-CA-15	Diamante/Lemont//Diamante
21	CINIA 174	CT 6747-15-6-2-M-3-M	Q 64117/Lemont//Diamante
22	CINIA 176	CT 6747-CA-1	Q 64117/Lemont//Diamante
23	CINIA 179	CT 6747 F2-CA-8	Q 64117/Lemont//Diamante
24	CINIA 180	CT 6748-8-CA-12	Q 65501/Lemont//Diamante
25	CINIA 181	CT 6748-8-CA-17	Q 65501/Lemont//Diamante
26	CINIA 184	CT 6748 F2-CA-47	Q 65501/Lemont//Diamante

No.	Origen INIA	Pedigree	Progenitores
27	CINIA 185	CT 6748 F2-CA-80	Q 65501/Lemont//Diamante
28	CINIA 186	CT 6749-21-4-1-M-2-M	Q 66304/Lemont//Diamante
29	CINIA 188	CT 6749-21-4-3-M-1-M	Q 66304/Lemont//Diamante
30	CINIA 189	CT 6749-21-4-3-M-4-M	Q 66304/Lemont//Diamante
31	CINIA 190	CT 6749-21-4-3-M-5-M	Q 66304/Lemont//Diamante
32	CINIA 192	CT 6749-21-4-5-M-1-M	Q 66304/Lemont//Diamante
33	CINIA 193	CT 6749-21-4-5-M-2-M	Q 66304/Lemont//Diamante
34	CINIA 195	CT 6749-21-4-7-M-1-M	Q 66304/Lemont//Diamante
35	CINIA 197	CT 6749-21-4-7-M-3-M	Q 66304/Lemont//Diamante
36	CINIA 204	CT 6749-36-7-4-M-M-M	Q 66304/Lemont//Diamante
37	CINIA 210	CT 6749-36-CA-14	Q 66304/Lemont//Diamante
38	CINIA 211	CT 6749-36-CA-18	Q 66304/Lemont//Diamante
39	CINIA 230	CT 6750-13-1-2-M-2-M	Q 67103/Lemont//Diamante
40	CINIA 231	CT 6750-9-1-1-3-M-M	Q 67103/Lemont//Diamante
41	CINIA 233	CT 6750-9-2-1-1-M-M	Q 67103/Lemont//Diamante
42	CINIA 234	CT 6750-9-2-1-M-3-M	Q 67103/Lemont//Diamante
43	CINIA 238	CT 6750-9-2-4-2-M-M	Q 67103/Lemont//Diamante
44	CINIA 248	CT 6741-6-CH-4	Diamante/Lemont//Q 65101
45	CINIA 249	CT 6743-5-B-3	Q 65101/Lemont//Q 65101
46	CINIA 250	CT 6743-9-4-6	Q 65101/Lemont//Q 65101
47	CINIA 251	CT 6747-10-6-1-M-M	Q 64117/Lemont//Diamante
48	CINIA 252	CT 6744 F2-CA-8	Q 66304/Lemont//Q 65101
49	CINIA 254	CT 6742-22-16-4-M-M	Q 64117/Lemont//Q 65101
50	CINIA 255	CT 6744-2-11-1-M-M	Q 66304/Lemont//Q 65101
51	CINIA 256	CT 6745-2-1-5-M-M	Q 67103/Lemont//Q 65101
52	CINIA 257	CT 6746-4-6-5-M-M	Diamante/Lemont//Diamante
53	CINIA 258	CT 6747-8-2-2-M-M	Q 64117/Lemont//Diamante
54	CINIA 261	CT 6749-36-7-2-M-M	Q 66304/Lemont//Diamante
55	CINIA 262	CT 6749-47-4-7-M-M	Q 66304/Lemont//Diamante

Cuadro 12. Líneas mejoradas tolerantes a temperaturas bajas en el estado de floración. Estación Experimental Quilamapu. Chillán, Chile. 1988.

Línea No.	Pedigree	Esterilidad (%) ^{1/}	Peso 100 gramos	Altura (cms)
5	Bluebelle (testigo)	90.7 a	1.75	84
6	Lemont (testigo)	74.9 a	19.2	58
4	Perla (testigo)	32.6 b	3.12	101
49	CT 6749-36-3-4-M-1-M	30.8 b	2.65	76
12	CT 6742-10-CA-8	30.6 b	2.95	83
32	CT 6743 F2-CA-4	30.0 b	2.58	78
50	CT 6749-36-3-4-M-2-M	24.5 b	2.58	78
30	CT 6743-44-8-CA-4	25.3 b	2.19	88
7	CT 6741-9-CA-26	23.9 b	2.38	74
2	Diamante (testigo)	21.6 b	3.14	98
33	CT 6743-F2-CA-7	21.0 b	2.50	68
10	CT 6742-10-10-4-6-5-M	19.5 b	2.82	84
34	CT 6743-F2-CA-9	19.2 b	2.32	68
45	CT 6747-F2-CA-16	18.9 b	3.41	79
44	CT 6747-F2-CA-10	18.2 b	2.80	82
3	Quella (testigo)	17.3 b	2.62	104
1	Oro (testigo)	17.1 b	3.01	100

^{1/} Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes al nivel del 5%.

Cuadro 13. Material genético seleccionado por el Instituto de Investigación del Arroz como tolerante al frío en los estados de plántula y floración en Cuba. Marzo/89.

	50% Floración (días)	Evaluac. plántula (1-9)	Esterilidad (%)	Tipo de Planta ^{a/}	Grano	Selec. Cuba (cruces)
*CT 6741-15-CA-18	89	1	30	B	corto	**
CT 6742-10-CA-25	77	1	41	M	B	
*CT 6743-9-4-6-M-3-M	77	3	30	B	B	**
CT 6744-2-1-1-M-M-M	80	3	48	B	B	
CT 6744-2-11-3-M-1-M	76	3	28	I	B	**
CT 6744-2-11-3-M-2-M	80	3	28	B	I	**
CT 6744-2-9-1-M-1-M	77	1	26	I	B	**
CT 6744-2-9-1-M-3-M	76	1	28	B	B	**
CT 6744-2-9-4-M-2-M	79	1	37	M	I	
CT 6744-2-9-4-M-3-M	77	1	29	B	B	**
CT 6744-2-9-4-M-4-M	76	1	25	M	I	
CT 6746-F2-1-5-M-3-M	75	3	39	B	B	
CT 6746-F2-1-7-3-M-M	80	3	67	B	B	
CT 6747-8-CA-17	68	1	28	Enana	M	
*CT 6749-21-4-2-M-1-M	80	3	53	B	I	
*CT 6749-21-4-4-M-3-M	70	1	34	M	-	
*CT 6749-21-4-5-M-1-M	70	1	24	I	B	**
*CT 6749-21-4-5-M-2-M	70	1	31	M	I	
*CT 6749-41-3-6-1-3-M	81	1	27	M	M	
*CT 6749-43-3-7-M-5	78	1	26	M	I	

Nota : La floración de los testigos susceptibles al frío (Amistad 82 y J-104) no coincidió con estos materiales.

a/ B = Buena, I = Intermedia, M = Mala

* Seleccionadas en Chile

Cuadro 14. Potencial de rendimiento (kg/ha) de líneas haploides dobladas obtenidas a través del cultivo de anteras en tres localidades en Chile. 1988.

Pedigree	Localidades			Mean
	Niquen	Parral	Talca	
1. CT 6743-47-6-CA-4	9995	9753	8104	9432 a
2. Perla	9051	9932	7914	9097 ab
3. Diamante	8762	9369	7179	8594 abc
4. Oro	8787	9182	6459	8353 bcd
5. CT 6743-F2-CA-20	8429	7865	8373	8203 bcd
6. Quella	8719	8218	5364	7692 cd
7. CT 6746-5-CA-6	7989	7614	6210	7404 de
8. CT 6743-44-8-CA-1	7100	6968	7726	7207 de
9. CT 6742-12-1-CA-2	6742	7220	4270	6303 ef
10. CT 6742-12-1-CA-3	6550	6451	4851	6088 f

1/ Promedios seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel del 5%.

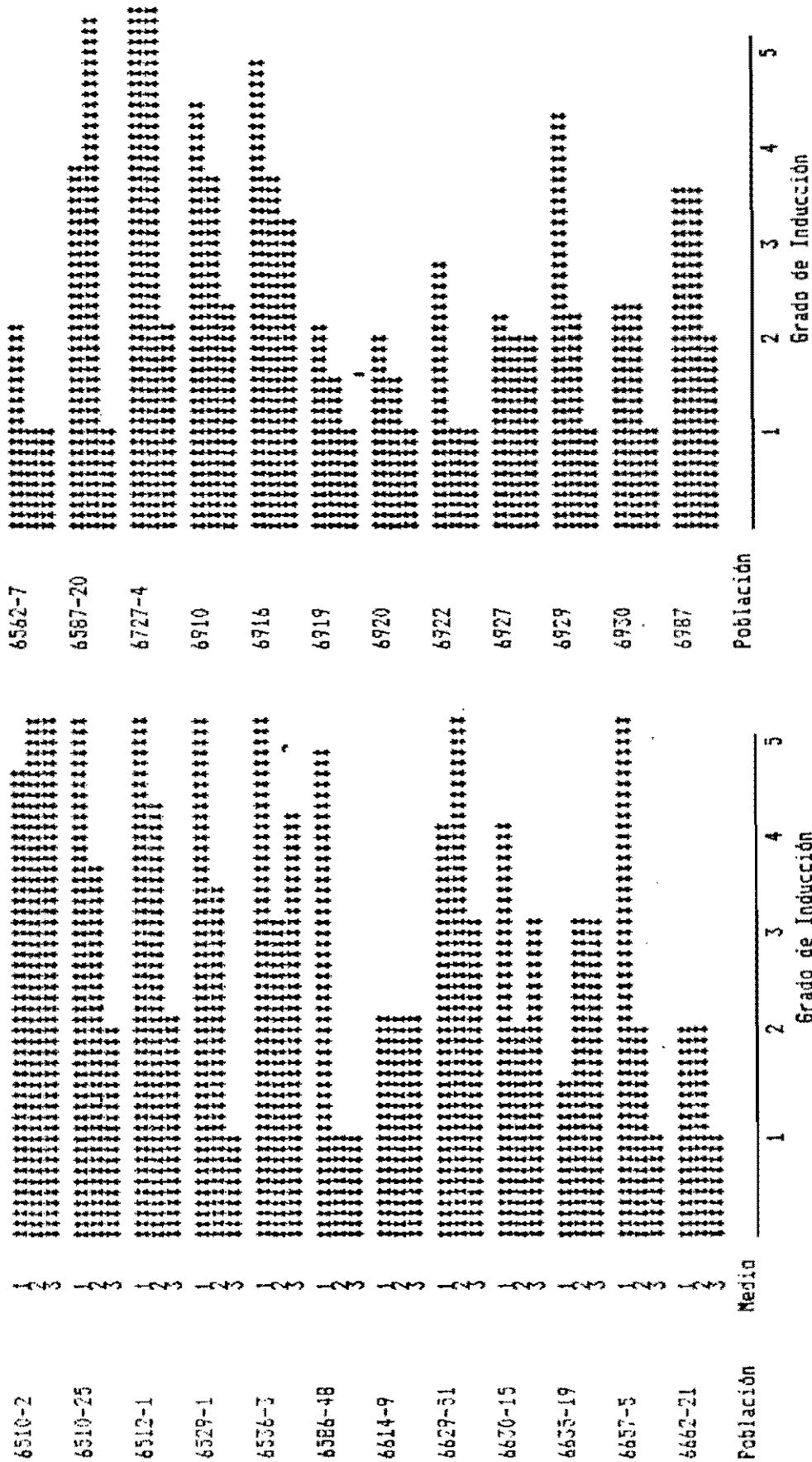


Figura 1. Evaluación de 24 poblaciones F1 por su producción de callos en tres medios de inducción. Escala 1-5 en donde 1 = no callo; 2 = < 10; 3 = 11-25; 4 = 26-50 y 5 > 50 callos/100 anteras.

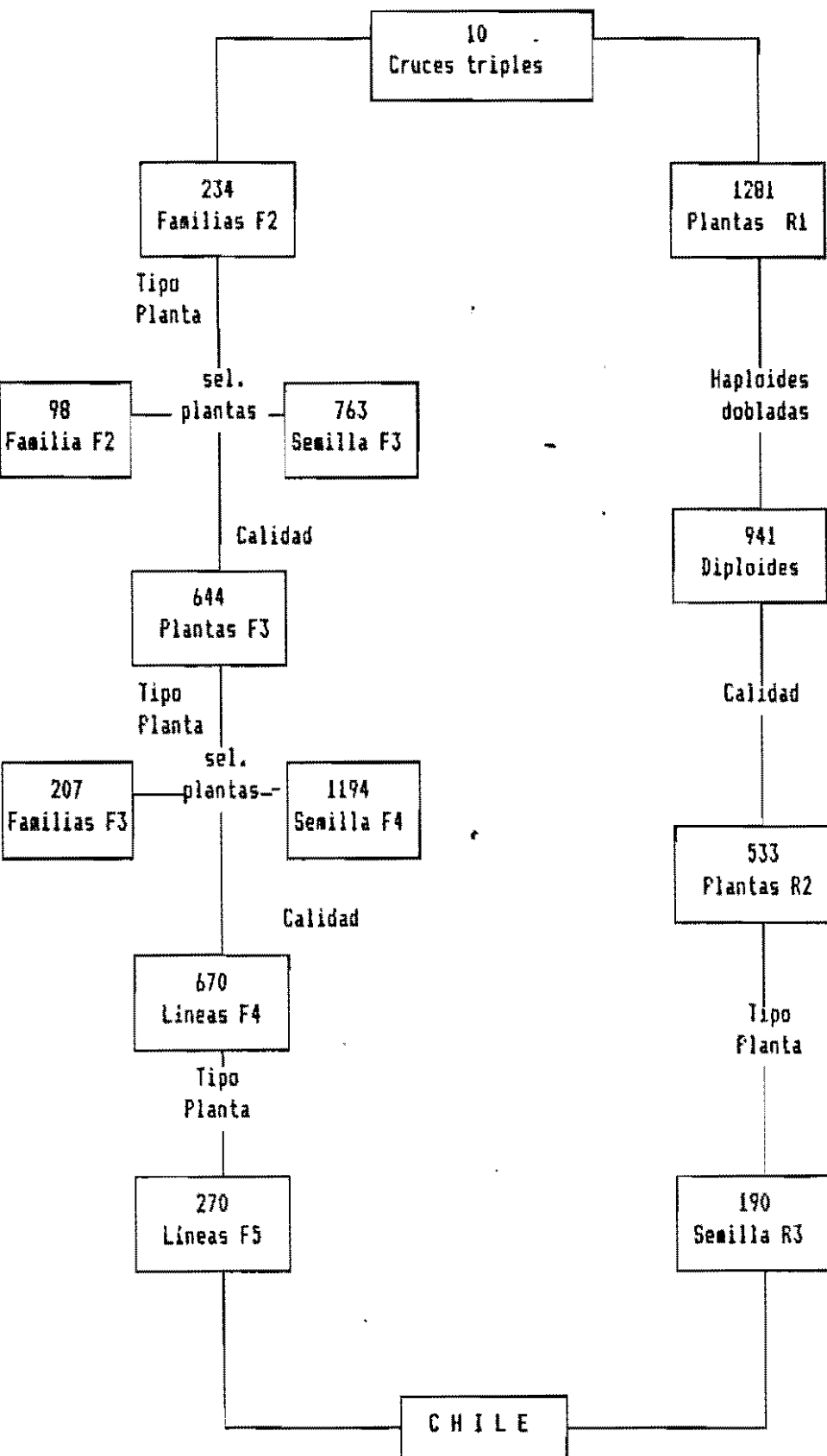


Figura 2. Flujo de material genético enviado a Chile, manejado via cultivo de anteras y mediante el método convencional del pedigree.