



66999
COLECCIÓN HISTÓRICA

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. 1992

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 panículas 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 Apropiada 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 índicas susceptibles a temperaturas bajas. Se estudió el efecto de varias temperaturas (8, 30, 35 y 40oC) 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 8oC durante 15 días; Fanny (japónica) respondió muy bien pero la respuesta fué mejor cuando se trató durante 10 días a 8oC (Cuadro 2). Exposiciones cortas a 30, 35 o 40oC 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 25oC reducen la formación de callos aún en Fanny.

Los datos sugieren que la temperatura baja (8oC) 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 frias, 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.

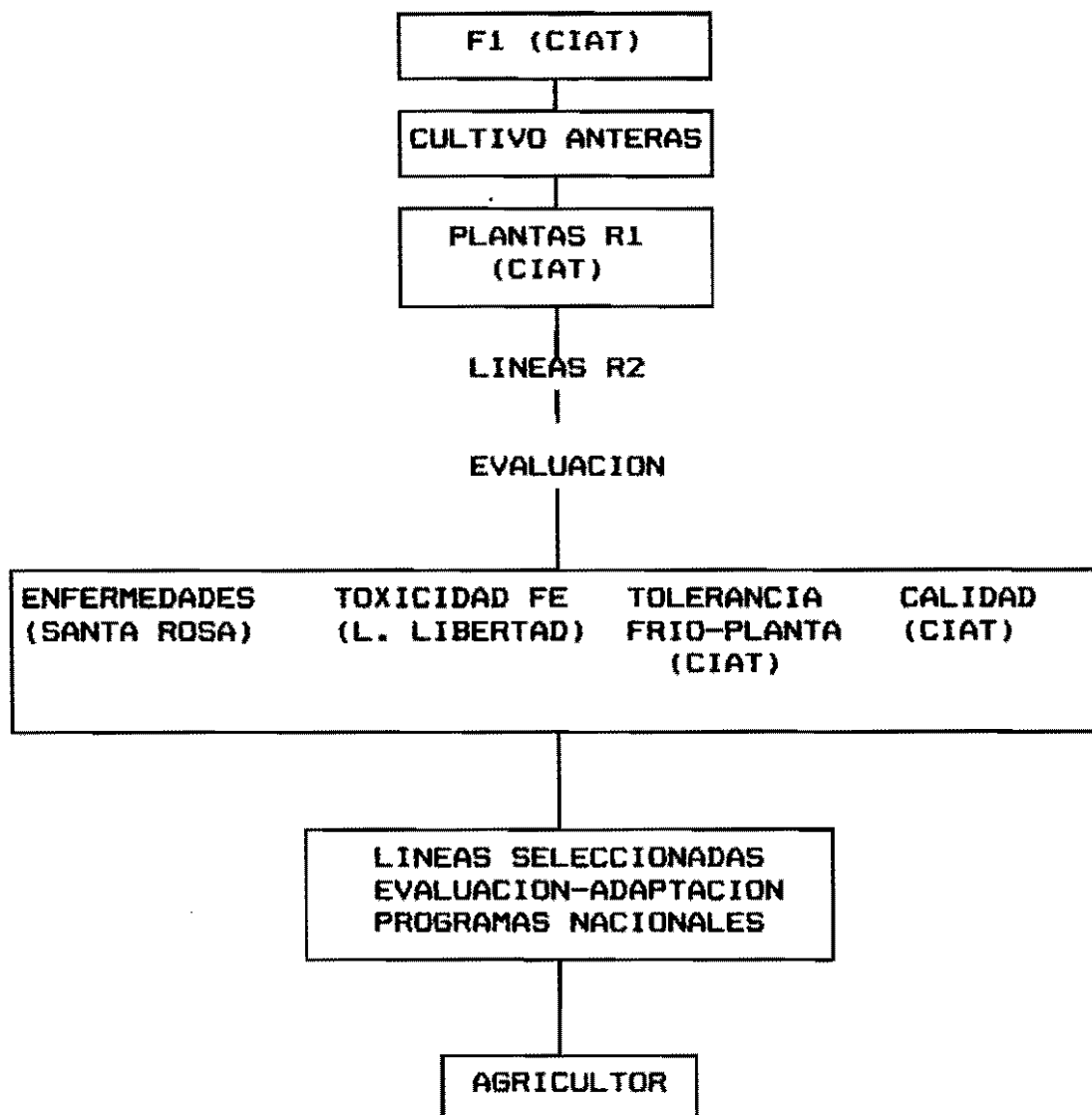
Perspectivas

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 via 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 | | | | | Promedio |
| | 50 días | CICA 8 | CICA 4 | Oryzica 1 | Fanny | |
| 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 |
| TOX 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 |
| TOX 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 estandard.

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 <u>a/</u> | Líneas F4 | Rdmta <u>a/</u> |
|--------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| 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 | | |
| CT 6742-12-1-CA-7 | 4990 a | LSD = 1395 | |
| 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 (kgha) | | |
|----------------|--------------------------------|----------------------------------|----------|----------|
| | | <hr/> | | |
| | | Mas Rendidor | Promedio | Promedio |
| Colombia 1 | 6 | 5825 | 5240 | 5429 |
| IAC 165 | 5 | 6118 | 5710 | 5877 |
| TOX 1011-4-1 | 4 | 6068** | 5312 | 4714 |
| TOX 1871-38 | 12 | 4583** | 3918** | 3166 |
| TOX 1785-19-18 | 10 | 6897 | 6173 | 6272 |
| TOX 1010-49 | 30 | 6492** | 5894 | 5331 |
| CICA 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)

MSE = 601.92

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

| No. | 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 |
| CT6741 | Diamante/Lemont//Q 65101 | 11000 | 4436 | 40.3 | 602 | 311 | 291 | 7.0 | 2.8 | 211 | 67.8 | 4.8 | 1.9 |
| CT6742 | Q 64117/Lemont// Q 65101 | 2900 | 1944 | 67.0 | 284 | 108 | 176 | 5.5 | 3.7 | 69 | 63.9 | 3.5 | 2.4 |
| CT6743 | Q 65101/Lemont// Q 65101 | 3000 | 491 | 16.3 | 94 | 53 | 41 | 10.7 | 1.7 | 28 | 52.8 | 3.7 | 0.9 |
| CT6744 | Q 66304/Lemont// Q 65101 | 3700 | 2001 | 54.1 | 218 | 96 | 122 | 4.7 | 2.6 | 79 | 82.3 | 3.9 | 2.1 |
| CT6745 | Q 67103/Lemont// Q 65101 | 1700 | 464 | 27.3 | 77 | 43 | 34 | 9.2 | 2.5 | 22 | 51.2 | 4.7 | 1.3 |
| CT6746 | Diamante/Lemont//Diamante | 3100 | 1641 | 52.9 | 348 | 245 | 103 | 14.9 | 7.9 | 169 | 69.0 | 10.3 | 5.5 |
| CT6747 | Q 64117/Lemont//Diamante | 2900 | 753 | 26.0 | 115 | 67 | 48 | 8.9 | 2.3 | 50 | 74.6 | 6.6 | 1.7 |
| CT6748 | Q 65101/Lemont//Diamante | 2500 | 1109 | 44.3 | 236 | 179 | 57 | 16.1 | 7.2 | 145 | 81.0 | 13.1 | 5.8 |
| CT6749 | Q 66304/Lemont//Diamante | 7100 | 1046 | 14.7 | 183 | 123 | 60 | 11.7 | 1.7 | 116 | 94.3 | 11.1 | 1.6 |
| CT6750 | Q 67103/Lemont//Diamante | 1200 | 496 | 41.3 | 87 | 56 | 31 | 11.3 | 4.7 | 52 | 92.9 | 10.5 | 4.3 |
| Total | | 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-5 | 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 | | Progenitores |
|-----|-----------|----------------------|---------------------------|
| | CINIA | Pedigree | |
| 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-B-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 Esterilidad (1-9) (%) | Tipo de Planta ^{a/} Grano | Selec. Cuba (cruces) |
|-----------------------|----------------------------|---|--|----------------------------|
| *CT 6741-15-CA-18 | 89 | 1 | B corto | ** |
| CT 6742-10-CA-25 | 77 | 1 | M B | |
| *CT 6743-9-4-6-M-3-M | 77 | 3 | B B | ** |
| CT 6744-2-1-1-M-M-M | 80 | 3 | B B | |
| CT 6744-2-11-3-M-1-M | 76 | 3 | I B | ** |
| CT 6744-2-11-3-M-2-M | 80 | 3 | B I | ** |
| CT 6744-2-9-1-M-1-M | 77 | 1 | I B | ** |
| CT 6744-2-9-1-M-3-M | 76 | 1 | B B | ** |
| CT 6744-2-9-4-M-2-M | 79 | 1 | M I | |
| CT 6744-2-9-4-M-3-M | 77 | 1 | B B | ** |
| CT 6744-2-9-4-M-4-M | 76 | 1 | M I | |
| CT 6746-F2-1-5-M-3-M | 75 | 3 | B B | |
| CT 6746-F2-1-7-3-M-M | 80 | 3 | B B | |
| CT 6747-8-CA-17 | 68 | 1 | Enana M | |
| *CT 6749-21-4-2-M-1-M | 80 | 3 | B I | |
| *CT 6749-21-4-4-M-3-M | 70 | 1 | M - | |
| *CT 6749-21-4-5-M-1-M | 70 | 1 | I B | ** |
| *CT 6749-21-4-5-M-2-M | 70 | 1 | M I | |
| *CT 6749-41-3-6-1-3-M | 81 | 1 | M M | |
| *CT 6749-43-3-7-M-5 | 78 | 1 | 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

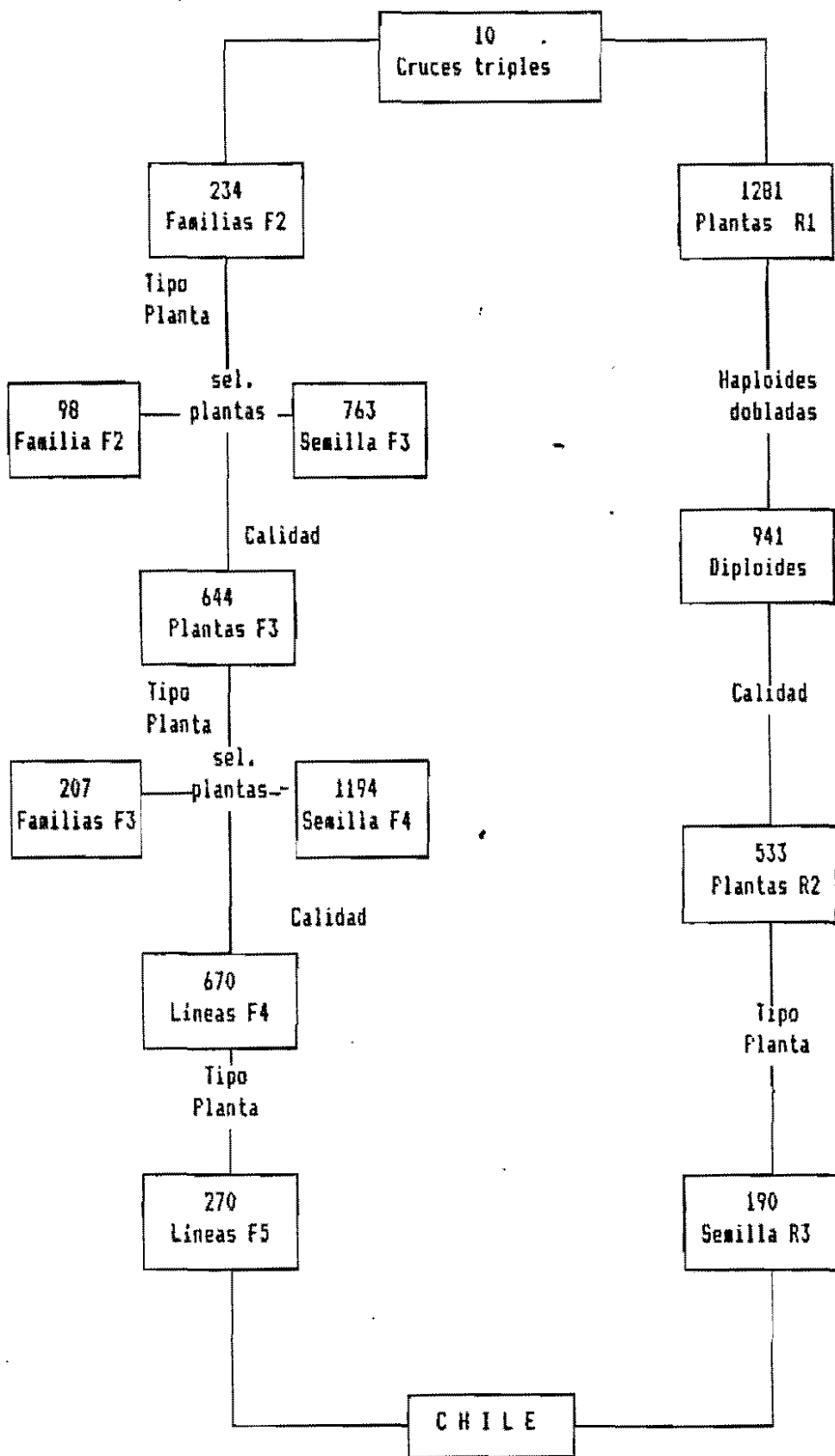


Figura 2. Flujo de material genético enviado a Chile, manejado via cultivo de anteras y mediante el método convencional del pedigrí.