

# EFECTO DE LA ADICIÓN DE AMINOACIDOS Y MANITOL EN LA INDUCCION DE EMBRIOGENESIS SOMATICA EN CULTIVOS HAPLOIDES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

Elsa Ventura, Alfredo Amaro, Gabriela Trejo, Antonia De Jesús y Antonio Jiménez .

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. Km 8.5 Carretera Yautepec-Jojutla, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos México. Apartado Postal 24. C.P. 62731. Fax: (01)73941896. e.mail: eventura@redipn.ipn.mx

Palabras clave: *haploide, inducción, embriogénesis*

**Introducción.** El arroz es el cereal de mayor consumo a escala mundial y uno de los alimentos básicos en México. Para satisfacer la demanda actual de este cereal, se requieren cultivares más productivos, resistentes a plagas, a enfermedades y a condiciones climáticas adversas. Frente a este reto, la Biotecnología Vegetal, es una disciplina de gran versatilidad que permite plantear diversas alternativas de solución, entre las que destacan el cultivo de haploides para el mejoramiento de las plantas (1) y la micropropagación por embriogénesis somática, cuya relevancia se centra en su potencial para producir miles de individuos en un tiempo menor al requerido en el campo con uniformidad genética y libres de patógenos (2).

El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de algunos aminoácidos y del tratamiento osmótico producido por la adición de manitol en la inducción de embriogénesis somática en cultivos haploides de arroz.

**Metodología.** Se trabajó con la línea celular haploide del híbrido Koshihikari x Morelos A92. Para inducir embriogénesis somática, se utilizó el medio de cultivo N6 con 2.0 mg/L de 2,4-D, 1.5 g/L de caseína hidrolizada, 3 % p/v de sacarosa y 8 g/L de agar (3). Los tratamientos consistieron en adicionar manitol al 3 % en combinación con cada uno de los siguientes aminoácidos: L-glut, L-gly, L-arg en concentraciones de 3 mM, L-pro 6 mM y L-try 240 µM. Se colocaron aproximadamente 100 mg de callo haploide en cada tratamiento y en los testigos correspondientes bajo condiciones de oscuridad. Los callos inducidos se colocaron posteriormente bajo condiciones de luz en medios de desarrollo, utilizando los medios de cultivo MS, B5 y N6. El medio MS se suplementó como sigue: a) Vit. del medio N6, 4 % de sacarosa, 0.05 mg/L de ANA y 0.5 mg/L de BAP; b) 3 % de sacarosa, 4.0 mg/L de KIN y 1 mg/L de AIA; c) 3 % de sacarosa y 2 mg/L de KIN. El medio B5 se adicionó con 4 % de sacarosa, 0.5/L de AIA y 0.3 mg/L de BAP. Al Medio N6 se le adicionó 3 % de manitol y 2 % de sacarosa. Se evaluó el color, el tipo de agregado, la morfología del callo y la formación de brotes como indicadores de embriogénesis.

**Resultados y Discusión.** Los resultados indicaron que durante la inducción, la adición de aminoácidos en presencia de manitol, permite el mejor crecimiento del callo y cambia el color de blanco a cremoso con un tipo de agregado de 0.5 a 1 mm, de aspecto granuloso. Se observó que los callos inducidos con tratamiento osmótico en comparación con aquellos que no recibieron este tratamiento, respondieron

positivamente en los medios de desarrollo que contenían 4 % de sacarosa o 3 % de manitol lo que sugiere que el tratamiento osmótico es importante para el desarrollo de los callos. Por otro lado, los callos cultivados en el medio MS adicionado con 3 % de sacarosa, KIN y KIN-AIA no prosperaron. Dentro de los tres medios de cultivo que promovieron crecimiento en los callos inducidos, el medio MS adicionado con vitaminas del medio N6, 4 % de sacarosa, 0.05 mg/L de ANA y 0.5 mg/L de BAP fue el que indujo la formación de brotes en callos haploides inducidos con el tratamiento glicina-manitol.



Fig 1 Aspecto de los callos y la formación de brotes en el medio de desarrollo MS con 4 % de sacarosa.

**Conclusiones.** La adición de aminoácidos al medio de cultivo influyó positivamente en el crecimiento del callo y cambió la morfología del mismo sólo en presencia de manitol. Los mejores medios de desarrollo fueron aquellos que contenían 4 % de sacarosa y 3 % de manitol, sobre todo cuando se suplementaron con ANA-BAP.

**Agradecimiento** Se agradece el financiamiento a la Fundación Produce "Morelos" y a la CGPI-IPN, a través de los proyectos: FPM41/A14/2000 y CGPI998005

## Bibliografía

- 1.-Khush, G. (1997). Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Mol. Biol.* 35: 25-34.
- 2.-Gray, D.; Conger B. y Songstad D. 1987. Desiccated Quiescent Somatic Embryos of Orchardgrass for use as Synthetic Seeds. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* Vol. 32 (1): 29-33.
- 3.-Biwas, G. y Zapata, F. 1992. Plant regeneration from Long-Term Cell Suspension Cultures of Indica Rice (*Oryza sativa* L. cv. IR43). *J.Plant Physiol.* Vol. 139. pp. 523-527.