

MEJORAMIENTO DE PLANTAS

EVALUACIÓN DE LOS FACTORES QUE AFECTAN LA INDUCCIÓN Y CALLO Y REGENERACIÓN DE PLANTAS EN TRIGO Y ARROZ.



Edgar O. Franco*
José H. Calderón**

F30

RESUMEN

Se evaluó el efecto de dos medios basales, seis combinaciones hormonales y tres concentraciones de sucrosa en la inducción de callo y regeneración de plantas para las variedades de trigo Patzún, Comalapa y Chocoyo. Para la variedad Patzún se evaluó además el período de tratamiento frío, previo al cultivo de anteras. En la variedad de arroz Precozicta y en los híbridos Colombia x Precozicta y Virginia x Colombia, se evaluó el efecto de la radiación gamma en la inducción de callo y regeneración de plantas.

La mayor respuesta en la inducción de callo y regeneración de plantas en la variedad de trigo Patzún se obtuvo con el medio basal papa IV., suplementado con 2 mg/l de ácido naftalenacético (ANA) o 1.5 mg/l de ANA y 0.5 mg/l de kinetina más 9 o/o de sucrosa. Para la variedad Patzún las anteras que no fueron sometidas a tratamiento frío o fueron tratadas por dos días, produjeron el mayor porcentaje de callo y plantas regeneradas. La mayor respuesta en la inducción de callo y regeneración de plantas para la variedad Comalapa se obtuvo con los medios basales N6 o papa IV, suplementados con 2 mg/l de ANA o 1.5 mg/l de ANA y 0.5 mg/l de kinetina más 9 o/o de sucrosa. La mayor respuesta en la inducción de callo para la variedad Chocoyo se obtuvo con el medio basal N6 suplementado con 1.5 mg/l de ANA y 0.5 mg/l de kinetina más 9 o/o de sucrosa. La radiación gamma afecta en forma negativa la inducción de callo en los híbridos de arroz Precozicta x Colombia y Virginia x Colombia. En la variedad de arroz Precozicta la radiación tiene efecto negativo en la inducción de callo, al incrementar la dosis de radiación, se reduce el porcentaje de inducción de callo.

* Profesor Titular de la Facultad de Agronomía

** Ayudante de Cátedra, Técnico del Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía.

INTRODUCCION

El arroz y el trigo son cereales de importancia en la alimentación de la población guatemalteca. El consumo per cápita de arroz se ha incrementado en los últimos años (10). El trigo es utilizado principalmente para la fabricación de pan y pastas. Ambos cultivos son afectados principalmente por enfermedades, las cuales disminuyen el rendimiento. En el arroz una limitante es la pyricularia y en el trigo, en el altiplano central de Guatemala, la mayor incidencia la manifiestan las royas.

Por la variabilidad existente en los agentes causales de las enfermedades mencionadas, se hace necesario cambiar constantemente las variedades de arroz y trigo. El mejoramiento de estos cereales se realiza por métodos convencionales, los cuales son complementados con los métodos modernos de mejoramiento. En la actualidad la producción de doble haploides en cereales y la inducción de variación somaclonal son investigadas y utilizadas en el mejoramiento. Estos métodos permiten una mayor eficiencia en la inducción de variabilidad y selección de las plantas con características deseadas. Un ejemplo de la eficiencia de estos métodos la constituye el desarrollo de nuevas variedades de arroz en china, en un tiempo corto se ha producido 81 nuevas variedades aplicando el cultivo de anteras (12).

El desarrollo de metodologías modernas para la producción de nuevas variedades requiere conocer los factores que afectan la inducción de callo y la regeneración de plantas. El principal factor a considerar es el genotipo, se ha demostrado que cada genotipo responde en forma diferente en la regeneración de plantas (5, 7). En arroz las variedades que pertenecen al grupo Japónica tienen una mayor respuesta en comparación con las pertenecientes al grupo Indica, a éstas últimas pertenecen las cultivadas en Guatemala.

Los medios basales son factores de importancia para la producción de callo y regeneración de plantas. Para arroz y trigo se han desarrollado los medios N6, papa II y papa IV.

La combinación hormonal, que suplementa los medios basales, es de importancia debido a que regula los procesos morfogénicos. El efecto de la concentración de sucrosa en cultivo de anteras de arroz y trigo ha sido reportada (4). Se han evaluado varios factores que condicionan la antera previo a su cultivo, entre ellos el penamiento frío el cual ha incrementado la inducción de callo y regeneración de plantas verdes (8, 9). Para arroz ha sido reportado el efecto de la radiación gamma en el incremento de plantas verdes regeneradas por cultivo de anteras (3, 11).

En este artículo se reporta la evaluación de los factores que afectan la inducción de callo y regeneración de plantas en las variedades de trigo Patzún, Comalapa y Chocoyo, así como el efecto de la radiación gamma en la variedad de arroz Precozicta y los híbridos Precozicta x Colombia y Virginia x Colombia. Los estudios son parte del proyecto 'Mejoramiento del Arroz y Trigo por Medio del Cul-

tivo de Anteras y Mutaciones Inducidas", que se desarrolla en la Facultad de Agronomía, con el apoyo del Organismo Internacional de Energía Atómica.

METODOLOGIA

Estudios en Trigo

Evaluación de los factores que afectan la inducción de callo y regeneración de plantas.

En las variedades de trigo Patzún, Comalapa y Chocoyo, se evaluó el efecto de los factores que afectan la inducción de callo y regeneración de plantas. Los medios basales evaluados fueron N6 y papa IV. Las combinaciones hormonales evaluadas fueron las siguientes: 2 mg/l de 2,4-D, 2 mg/l de ácido naftalenacético (ANA), 1.5 mg/l de 2,4-D y 0.5 mg/l de kinetina, 1.5 mg/l de ANA y 0.5 mg/l de kinetina, 2 mg/l de 2,4-D y 1.0 mg/l de kinetina, 2 mg/l de ANA y 1.0 mg/l de kinetina. Las concentraciones de sucrosa evaluadas fueron: 3 o/o, 6 o/o y 9 o/o. Para la variedad Patzún se evaluó además el efecto de la exposición de las anteras, previo su cultivo, a 6°C por 0, 2, 4, 6, 8 y 10 días.

Material Vegetal

El material de trigo utilizado los constituyeron las variedades de trigo Patzún, Comalapa y Chocoyo, las cuales fueron obtenidas del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA).

Obtención de anteras

Las variedades de trigo fueron sembradas en el Centro Experimental Docente de Agronomía. Cada ocho días por dos meses se sembraron cuatro surcos de cinco metros de largo de cada variedad. Durante el surgimiento de la espiga se determinó el estado uninucleado de las anteras. Espigas con anteras en estado uninucleado fueron colectadas y colocadas a 6°C durante siete días, previo a su cultivo. Las anteras de la variedad Patzún utilizadas en el estudio de la exposición al tratamiento frío, se mantuvieron a 6°C por 0, 2, 4, 6, 8 y 10 días, según tratamiento.

Esterilización y siembra de anteras

Las espigas, provenientes del tratamiento frío, fueron esterilizadas por diez minutos utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 o/o, luego lavadas tres veces con agua estéril. Las espigas estériles fueron colocadas en cajas de petrí estériles y las anteras fueron removidas utilizando una pinza de punta fina. Posteriormente las anteras fueron transferidas a los diferentes medios de inducción de callo.

Condiciones de Incubación

Las anteras en los medios de inducción de callo fueron incubadas a temperatura constante de 28°C en la obscuridad. Después de 35 días se determinó el número de callos inducidos y los mismos fueron trasladados a tubos de ensayo que contenían el medio basal Murashige y Skoog (MS) con 3 o/o de sucrosa, sin reguladores del crecimiento. Los tubos de ensayo conteniendo los callos fueron incubados bajo luz continua a una temperatura de 23 ± 3°C. Tres semanas después de la transferencia se determinó el número de plantas regeneradas.

ESTUDIOS EN ARROZ

Tratamiento de radiación

En arroz se evaluó el efecto de la radiación gamma en la inducción de callo y regeneración de plantas. Las semillas de arroz de la variedad precozicta y los híbridos Precozicta x Colombia y Precozicta x Virginia se equilibraron al 13 o/o de humedad. A la variedad Precozicta se le aplicaron 0, 5, 10 y 15 kilorads y a los híbridos 0, 10, 20 y 25 kilorads. Posteriormente la semilla irradiada fue sembrada en el Centro de Agricultura Tropical Bulbuxyá; por un mes, cada ocho días se sembraron cuatro surcos de cada material irradiado

Obtención, esterilización y siembra de anteras

Se observó el desarrollo de las plantas de arroz y previo a la emergencia de la panícula se determinó el estado uninucleado de las anteras. Panículas que contenían anteras en estado uninucleado fueron colectadas y colocadas a 6°C por siete días, previo a su cultivo. La esterilización y siembra de anteras fue similar a la indicada para trigo. Los medios basales utilizados fueron N₆ y B₅, utilizándose 2 mg/l de 2,4-D o 2 mg/l de ANA en los medios de inducción de callo.

Condiciones de Incubación

Las condiciones de incubación para la inducción de callo y regeneración de plantas, así como el medio de cultivo para la regeneración de plantas fueron similares a las indicadas para los estudios en trigo.

Diseño Experimental

Para la evaluación de los diferentes factores que afectan la inducción de callo y regeneración de plantas en trigo, se utilizó un diseño completamente al azar con estructura factorial. Se hicieron experimentos diferentes para cada variedad, los factores que se evaluaron para cada variedad fueron medios basales, combinaciones hormonales y/o concentraciones de sucrosa. Se utilizaron siete repeticiones, la unidad experimental estuvo constituida por un frasco de vidrio de 120 ml. de capacidad, al cual se le agregaron 15 ml. de medio de cultivo y se cultivaron en el mismo 60 anteras. Para el estudio del efecto del tratamiento frío en la induc-

ción de callo y regeneración de plantas en la variedad Patzún se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 15 repeticiones. En la evaluación del efecto de la radiación gamma y combinaciones hormonales en la variedad de arroz Precozicta se utilizó un diseño experimental estrictamente al azar con arreglo factorial, con siete repeticiones. Para la evaluación del efecto de la radiación gamma en híbridos de arroz se utilizó un diseño completamente al azar con siete repeticiones. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza, prueba de medias y contrastes ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudios en Trigo

En la variedad de trigo Patzún los medios basales N6 y Papa IV suplementados con 2 mg/l de 2,4-D o 2 mg/l de ANA mostraron el mayor porcentaje en la inducción de callo. El análisis estadístico no refleja diferencias significativas en el efecto de los medios basales y combinaciones hormonales. La concentración de sucrosa mostró efecto en la inducción de callo y regeneración de plantas, la máxima producción de callo se obtuvo en el medio basal Papa IV, suplementado con 2 mg/l de ANA o 1.5 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de kinetina y 9 o/o de sucrosa. El incremento de la concentración de sucrosa incrementó el porcentaje de inducción de callo y el número de plantas regeneradas. El efecto de la concentración de sucrosa en la inducción de callo en trigo ha sido reportado anteriormente (4) y coincide con los resultados obtenidos. El tratamiento frío a 6°C, previo al cultivo de las anteras, afectó en forma significativa la regeneración de plantas, no así la inducción de callo. Las anteras que no fueron sometidas a tratamiento o únicamente fueron puestas dos días en dicho tratamiento produjeron el mayor número de plantas regeneradas. Los cuadros 1, 2 y 3 muestran el efecto de los medios basales, concentraciones hormonales y tratamiento frío en la inducción de callo y regeneración de plantas de la variedad de trigo Patzún.

En la variedad de trigo Comalapa se incrementó el porcentaje de inducción de callo y regeneración de plantas cuando se incrementó la concentración de sucrosa de 3 o/o a 9 o/o. Los mejores resultados se obtuvieron con el medio basal Papa IV, suplementado con 2 mg/l de ANA o 1.5 mg/l de ANA más 0.5 mg/l de kinetina. La diferencia en la inducción de callo entre los medios de inducción con diferentes concentraciones de sucrosa es significativa, la concentración que induce el mayor número es 9 o/o. El cuadro 4 muestra el efecto de medios basales y concentraciones de sucrosa en la inducción de callo y regeneración de plantas en la variedad de trigo Comalapa.

En la variedad de trigo Chocoyo no se observaron diferencias significativas en la inducción de callo en los medios basales, combinaciones hormonales y concentraciones de sucrosa evaluadas. La mejor respuesta en la inducción de callo se obtuvo con el medio basal N6, suplementado con 1.5 mg/l de ANA 0.5 mg/l de kinetina y 9 o/o de sucrosa. No fue posible obtener plantas regeneradas en esta variedad. Los cuadros 5 y 6 muestran el efecto de medios basales, combinaciones

hormonales y concentraciones de sucrosa en la inducción de callo en la variedad Chocoyo.

En las tres variedades de trigo evaluadas el incremento del 3 o/o al 9 o/o en la concentración de sucrosa incrementó la inducción de callo, esto fue más evidente en las variedades Patzún y Comalapa, no así en Chocoyo. El medio basal Papa IV tuvo mejor respuesta en las variedades Patzún y Comalapa, no así en la variedad Chocoyo. Lo anterior confirma lo reportado sobre la diferencia en requerimientos de los diferentes genotipos en una misma especie (5, 7). La respuesta de la variedad de trigo Patzún a los pretratamientos fríos no está acorde a lo reportado por otros autores (8, 9), quienes indican que períodos de siete días de exposición producen los mejores resultados.

CUADRO 1
EFECTO DE DOS MEDIOS BASALES Y SEIS COMBINACIONES
HORMONALES EN LA INDUCCION DE CALLO DE LA VARIEDAD
DE TRIGO PATZUN. GUATEMALA, 1990

Medio Basal	Combinación Hormonal			Producción de callo (o/o)
	2,4-D	ANA (mg/l)	Kinetina	
N ₆	2.0	0.0	0.0	1.9
N ₆	0.0	2.0	0.0	1.9
N ₆	1.5	0.0	0.5	0.7
N ₆	0.0	1.5	0.5	1.4
N ₆	2.0	0.0	1.0	0.7
N ₆	0.0	2.0	1.0	0.7
Papa IV	2.0	0.0	0.0	1.4
Papa IV	0.0	2.0	0.0	1.2
Papa IV	1.5	0.0	0.5	0.2
Papa IV	0.0	1.5	0.5	0.5
Papa IV	2.0	0.0	1.0	0.0
Papa IV	0.0	2.0	1.0	0.2

CUADRO 2
EFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUCROSA EN LA INDUCCION DE
CALLO Y REGENERACION DE PLANTAS DE LA VARIEDAD PATZUN.
GUATEMALA, 1990*

Medio Basal	Combinación Hormonal			Concentración de sucrosa (o/o)	Producción de callo (o/o)	Regeneración de plantas (o/o)
	2,4-D	ANA (mg/l)	Kinetina			
N ₆	2.0	0.0	0.0	3	0.5	0.0
N ₆	0.0	2.0	0.0	6	0.5	0.0
N ₆	2.0	0.0	0.0	6	1.4	0.0
N ₆	1.5	0.0	0.5	6	0.5	0.0
N ₆	2.0	0.0	0.0	9	1.9	0.0
N ₆	1.5	0.0	0.5	9	1.2	20.0
Papa IV	0.0	1.5	0.5	3	0.5	0.0
Papa IV	1.5	0.0	0.5	3	0.2	0.0
Papa IV	0.0	2.0	0.0	6	5.5	43.5
Papa IV	0.0	1.5	0.5	6	5.0	47.6
Papa IV	2.0	0.0	0.0	6	0.4	100.0
Papa IV	1.5	0.0	0.5	6	1.2	0.0
Papa IV	0.0	2.0	0.0	9	7.1	36.7
Papa IV	0.0	1.5	0.5	9	7.6	31.3
Papa IV	2.0	0.0	0.0	9	1.7	100.0
Papa IV	1.5	0.0	0.5	9	0.4	50.0

* En el cuadro se muestran las combinaciones hormonales que forman callo.

CUADRO 3
EFFECTO DEL PERIODO DE TRATAMIENTO FRIO EN LA INDUCCION
DE CALLO Y REGENERACION DE PLANTAS EN LA VARIEDAD DE
TRIGO PATZUN, GUATEMALA, 1990

Días de Exposición (1)	Producción de callo (o/o)	Regeneración de plantas (o/o)
0	1.7	33.3
2	1.8	31.2
4	0.8	0.0
6	0.9	1.3
8	1.1	0.1
10	0.6	0.0

(1) Días de tratamiento frío a 6°C previo al cultivo de anteras.

CUADRO 4
EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUCROSA EN LA INDUCCION
DE CALLO Y REGENERACION DE PLANTAS EN LA VARIEDAD DE
TRIGO DE COMALAPA, GUATEMALA, 1990

Medio Basal	Combinación Hormonal		Concentración de Sucrosa (o/o)	Producción de callo (o/o)	Regeneración de plantas (o/o)
	ANA (mg/l)	Kinetina			
N ₆	2.0	0.0	3	0.0	0.0
N ₆	1.5	0.5	3	0.2	100.0
N ₆	2.0	0.0	6	1.2	0.0
N ₆	1.5	0.5	6	0.5	50.0
N ₆	2.0	0.0	9	2.6	9.1
N ₆	1.5	0.5	9	1.7	100.0
Papa IV	2.0	0.0	3	0.0	0.0
Papa IV	1.5	0.5	3	0.5	0.0
Papa IV	2.0	0.0	6	0.0	0.0
Papa IV	1.5	0.5	6	1.0	0.0
Papa IV	2.0	0.0	9	1.4	66.7
Papa IV	1.5	0.5	9	4.5	23.5

CUADRO 5
 EFECTO DE DOS MEDIOS BASALES Y SEIS COMBINACIONES
 HORMONALES EN LA INDUCCION DE CALLO DE LA VARIEDAD
 CHOCOYO. GUATEMALA, 1990

Medio Basal	Combinación Hormonal			Producción de callo (o/o)
	2,4-D	ANA (mg/l)	Kinetina	
N6	2.0	0.0	0.0	3.3
N6	0.0	2.0	0.0	1.0
N6	1.5	0.0	0.5	3.1
N6	0.0	1.5	0.5	1.2
N6	2.0	0.0	1.0	1.2
N6	0.0	2.0	1.0	2.6
Papa IV	2.0	0.0	0.0	0.0
Papa IV	0.0	2.0	0.0	1.4
Papa IV	1.5	0.0	0.5	0.2
Papa IV	0.0	1.5	0.5	0.0
Papa IV	2.0	0.0	1.0	0.2
Papa IV	0.0	2.0	1.0	0.0

CUADRO 6
EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUCROSA EN INDUCCION DE
CALLO EN CULTIVO DE ANTERAS DE LA VARIEDAD CHOCOYO
GUATEMALA, 1990

Medio Basal(1)	Combinación Hormonal			Concentración de sucrosa (o/o)	Producción de callo (o/o)
	2,4-D	ANA (mg/l)	Kinetina		
N ₆	0.0	1.5	0.5	3	0.23
N ₆	1.5	0.0	0.5	3	2.62
N ₆	0.0	1.5	0.5	6	2.57
N ₆	1.5	0.0	0.5	6	2.85
N ₆	0.0	1.5	0.5	9	6.90
N ₆	1.5	0.0	0.5	9	0.70
Papa IV	0.0	1.5	0.5	9	0.95
Papa IV	1.5	0.0	0.5	9	0.23

(1) anteras cultivadas en el medio basal Papa IV suplementado con 1.5 mg/l de 2,4-D y 0.5 mg/l de kinetina ó 1.5 mg/l de ANA y 0.5 mg/l de kinetina, con 3 o/o ó 6 o/o de sucrosa, no formaron callo.

Estudios en arroz

La radiación gamma afecta en forma negativa la inducción de callo en híbridos de arroz. El incremento de la dosis de radiación gamma aplicada a híbridos de arroz redujo el porcentaje de inducción de callo, los resultados más altos en inducción de callo se obtuvieron cuando no se aplicó radiación y los valores más bajos cuando se aplicó 25 kilorads, que fue la dosis más alta aplicada. No se obtuvo regeneración de plantas en los híbridos evaluados. El cuadro 7 muestra el efecto de la radiación gamma en dos híbridos de arroz.

En la variedad de arroz precozicta el incremento de la radiación gamma tiene efecto negativo en la inducción de callo, dosis mayores de 10 kilorads disminuyen el porcentaje de inducción de callo. El cuadro 8 muestra el efecto de la radiación gamma en la inducción de callo de la variedad de arroz precozicta.

En los estudios de arroz no fue posible obtener la regeneración de plantas, esto se debe a que los híbridos y la variedad evaluados pertenecen al grupo Indica. Para el arroz perteneciente a este grupo se ha reportado dificultad en la producción de callo y regeneración de plantas (11).

La radiación gamma no tuvo efecto en la regeneración de plantas, como ha sido reportado en otros estudios (3, 6). por otro lado a medida que se incrementaron las dosis de radiación se redujo la inducción de callo.

CUADRO 7
EFECTO DE LA RADIACION GAMMA EN LA PRODUCCION DE CALLO
EN CULTIVO DE ANTERAS DE LOS HIBRIDOS DE ARROZ PRECOZICTA
X COLOMBIA Y VIRGINIA x COLOMBIA. GUATEMALA 1990

Híbrido	Dosis de Radiación (kilorads)	Producción de callo (o/o)
Precozicta x Colombia	00	17
Precozicta x Colombia	10	14
Precozicta x Colombia	20	11
Precozicta x Colombia	25	03
Virginia x Colombia	00	11
Virginia x Colombia	10	04
Virginia x Colombia	20	04
Virginia x Colombia	25	02

CUADRO 8
EFECTO DE LA RADIACION GAMMA EN LA PRODUCCION DE CALLO
EN CULTIVO DE ANTERAS DE LA VARIEDAD DE ARROZ PRECOZICTA.
GUATEMALA, 1990

Medio Basal y Combinación Hormonal	Dosis de Radiación (Kilorads)	produccion de callo (o/o)
N ₆ + 2 mg/l ANA	00	57
N ₆ + 2 mg/l ANA	05	67
N ₆ + 2 mg/l ANA	10	17
N ₆ + 2 mg/l ANA	15	00
N ₆ + 2 mg/l ANA	20	27
B ₅ + 2 mg/l ANA	00	21
B ₅ + 2 mg/l ANA	05	08
B ₅ + 2 mg/l ANA	10	04
B ₅ + 2 mg/l ANA	15	00
B ₅ + 2 mg/l ANA	20	06

BIBLIOGRAFIA

1. ABE, T.; FUTUSUHARA, T. 1986. Genotypic variability for callus formation and plant regeneration in rice (*Oriza sativa* L.). *Theor. Appl. Genetic*. EE.UU. 72:3-10.
2. ANDERSEN, S.B.; DUE, I.K.; OLESEN, A. 1987. The response of anther culture in a genetically wide material of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding* EE.UU. 99:181-186.
3. DAO-CHUAN, Y.; QI-JIAN, W. QIU-CHENG, Y.; LU, W. 1984. Effects of gamma radiation on anther culture of rice. *International Symposium on Genetic Manipulation in Crops*. Beijin, China, 2 P.
4. HAN, H. 1986. Wheat: improvement through anther culture. *In vitro Biotechnology in agriculture and forestry 2*. Ed. by Y.P.S. Bajaj. New York, Springer-Verlag. p. 55-86.
5. HENRY, Y.; DE BUYSER, J.; GUENEGOU, T., ORY, C. 1984. Wheat microspore embryogenesis during in vitro anther culture. *Theor. Appl. Genet.* 67:439-442.
6. INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (PHILIPPINES). S. F. Rice tissue culture manual, Philippines. . 168 p.
7. KONZAK, C.F.; XHOU, H. 1988. Anther culture methods for halploid production in wheat. Information paper No.8802-18. Washington State University. 29 p.
8. LAZARD, M. D.; SCHAEFFER, G. W.; BAENZIGER, P.S. 1985. The physical environment in relation to high frecuency callus and plantlet development in anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) cu. *Chris. Journal Plant Physiology* EE.UU. 121:103-109.
9. MARSOLAIS' A.A.; SEGUIN-SWARTZ, G.; KASHA, K. J. 1984. The influence of anther cold pretreatment and donor plant genotypes on in vitro androgenesis in wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 3:69-79.
10. PAZOS, W.R. 1984. Arroz. Resumen del informe presentado a la Junta Directiva del ICTA. Guatemala. 15 p.
11. RAINA, S. K. 1989. Tissue Culture in rice improvement. Status and potential. *Advances in agronomy*. 42:339-397.
12. REDDY, U.S.; LEELAVATHI, S.; SEN, S. K. 1985. Influence of genotype and culture medium on microspore callus induction and green plant regeneration in anthers of *Oriza sativa*. *Physiologia Plantarum* (Holland) 63: 309-314.