



Universidad Politécnica de Cartagena
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

Prácticas de Mejora Vegetal

Cartagena 2015

Jorge Cerezo Martínez



Índice

1. Práctica 1	3
1.1. Materiales	3
1.1.1. Materiales de laboratorio	3
1.1.2. Material vegetal	5
1.2. Siembra	5
1.3. Ciclo	7
2. Práctica 2: Polinizadores.....	9
2.1. Materiales	9
2.2. Métodos.....	9
3. Selección masal en algamas. Comparación selección masal individual sin prueba de descendencia y selección masal individual con prueba de descendencia.	10
4. Práctica 4: Contabilización de pelos en hojas 17/03/2014.....	12
4.1. Materiales	12
4.2. Métodos.....	13
5. Poblaciones con evaluación de descendencia 20/03/2014.....	15
6. Poblaciones sin evaluación de la descendencia 20/03/2014	16
7. Contabilización de pelos en hojas 20/03/2014.....	17
7.1. Materiales.....	17
8. Resultados finales	19
Fenotipado.....	25
9. Referencias	26

1. Práctica 1

1.1. Materiales

1.1.1. Materiales de laboratorio

- Turba



- Fertilizante



- Pipeta Pasteur



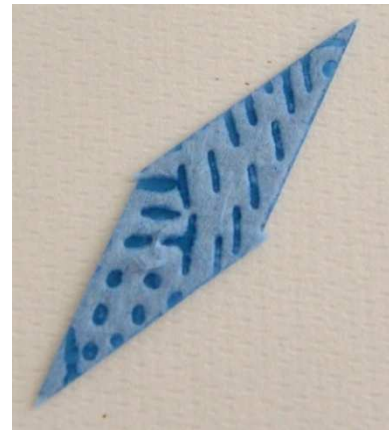
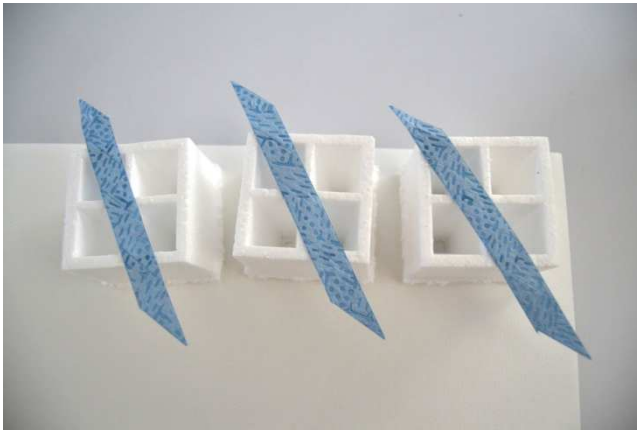
- Pinzas



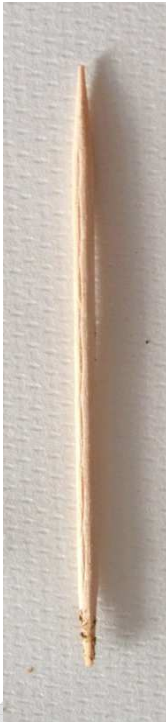
- Cuchara



- Celdas de poliestileno expandido y mechas de microfibra



- Palillo



- Semillas de *Brassica rapa*



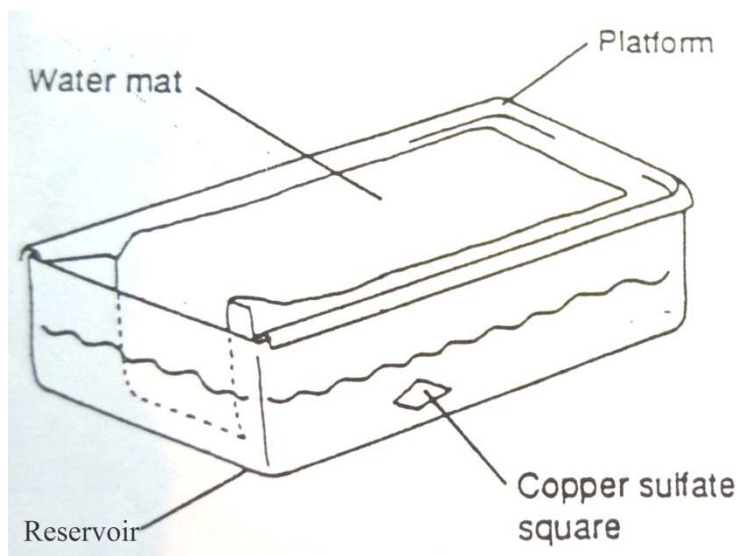
1.1.2. Material vegetal

- Semillas de *Brassica rapa*

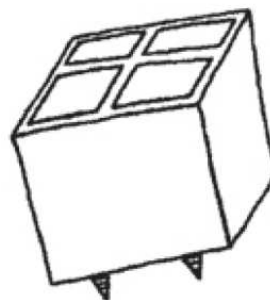
1.2.Siembra

Se realizó la siembra el 03/03/2014

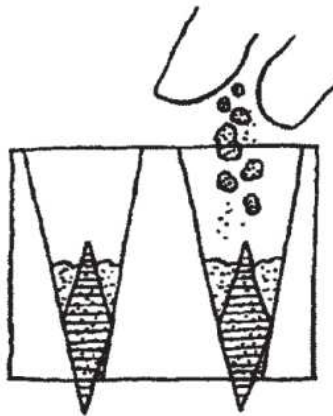
1. Sembrar siempre un lunes o jueves. Esto permite estar tres días consecutivos sin necesidad de añadir agua al recipiente



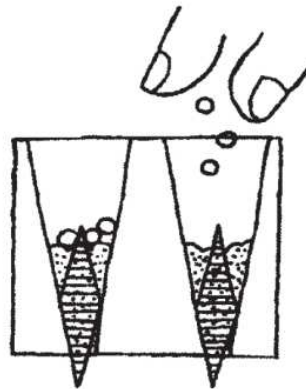
2. Preparar la manta de agua para su uso. Remojar la manta en agua a la que se le ha añadido 2 ó 3 ml de líquido detergente. Escurrir el agua de la manta. Repetir este proceso 2 ó más veces. Después del último aclarado no escurráis el agua y dejad la manta en posición correcta sobre la plataforma del recipiente. Alisar la manta para que no queden bolsa de aire. Rellenar el recipiente con agua. Este sistema de riego se basa en la capilaridad. Una vez la manta está húmeda, sigue absorbiendo agua del recipiente. El agua va de la manta interior de las celdillas por medio de la mecha situada al fondo de cada una. El recipiente contiene agua para 2 ó 3 días.
3. Colocar una tableta de cobre en el interior del recipiente para evitar la contaminación por algas
4. Regar el sustrato hasta que esté ligeramente húmedo
5. Colocar una mecha dentro de cada célula hasta que se extienda 1 cm en el agujero del fondo



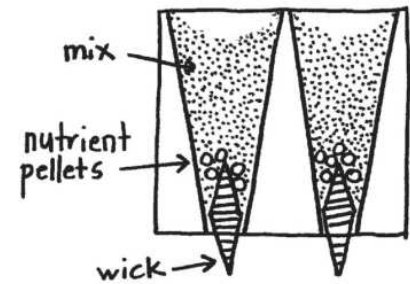
6. Rellenar hasta la mitad las celdillas con el sustrato



7. Añadir tres bolitas de fertilizante en cada celdilla

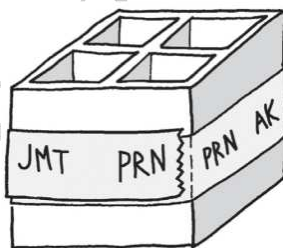
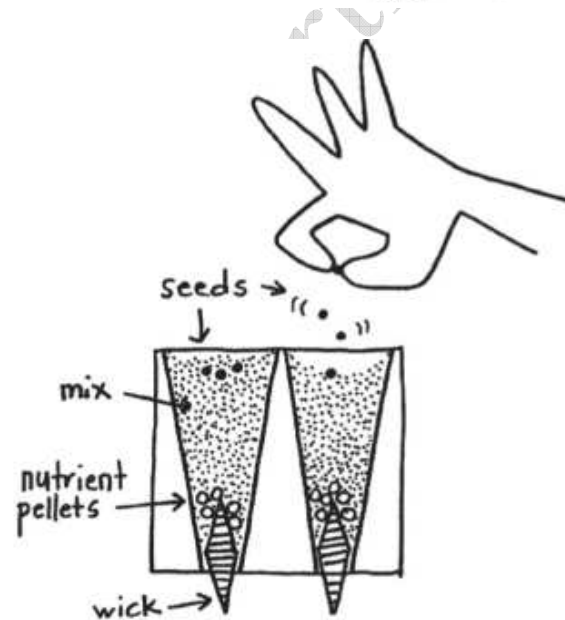


8. Acabar de rellenar de sustrato las celdillas, con el pulgar realizar una depresión de 4 mm sobre el sustrato de cada celdilla.

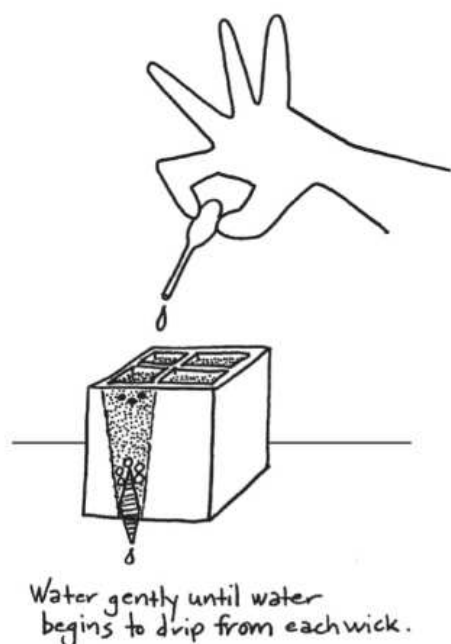


9. Colocar tres semillas dentro de cada depresión

10. Cubrir las semillas con sustrato únicamente para que no se queden al descubierto.



11. Etiquetar cada cuadrado, según convenga, insertando una etiqueta correctamente marcada con rotulador resistente al agua



12. Regar hasta que el agua gotee por el extremo de la mecha. Colocar el cuadrado sobre la manta. El extremo del cuadrado debe estar a 5 u 8 cm del banco de luz.



1.3.Ciclo

Bajo las condiciones de instrucciones de cultivo, las plantas podrían producir flores en 14 días desde la siembra y alcanzar una altura de unos 13 cm. La fertilización ocurre dentro de las 24 horas después de la polinización y las vainas (silicuas) son visibles después de 3 a 5 días de polinizar. Las plantas pueden secarse después de 20 días de la última polinización, y alrededor del día 40 ó 42 las semillas pueden cosecharse y comenzar el ciclo de nuevo.

Día 1 a 3

La radícula (raíz embrionaria) emerge de la semilla el día 1. Esto es fácil de observar si se ponen a geminar las semillas sobre papel de filtro humedecido en una placa Petri. El día 3, las plántulas emergen del suelo. Aparecen 2 cotiledones y el hipocótilo (tallo embrionario) comienza a crecer. Los pigmentos de clorofila o de antocianina (rojos) son ya perceptibles.

Días 4 a 9

Alrededor del día 5 se desarrollan las hojas verdaderas y los cotiledones continúan engrosándose. Alrededor del día 8 las yemas florales aparecen en el extremo de crecimiento de la planta.

Días 10 a 12

El tallo se alarga entre nudos (puntos donde salen las hojas). Las yemas de flores y hojas continúan engrosándose. A medida que el tallo crece, los brotes florales se elevan bien por encima de las hojas.

Día 13 a 17

Los brotes florales se abren observándose la estructura de la flor. Se pueden identificar el pedicelo, receptáculo, sépalos, pétalos estambres (anteras y filamentos), pistilo (estigma, estilo y ovario) y los nectarios. En este momento ya se puede iniciar la polinización. Se puede polinizar durante 3 ó 4 días (por ejemplo polinizar los días 13,15 y 17). El polen es viable durante 4 a 5 días, y los estigmas permanecen receptivos al polen durante 2 ó 3 días después de que se han abierto. El día 17 apretar o arrancar el resto de brotes florales sin abrir y los tallos laterales; continuar realizando esta operación hasta el día 35.

Día 18 a 22

Los pétalos se caen de la flor y las vainas comienzan a ser aparentes. El desarrollo del endospermo y del embrión de la semilla ha comenzado y continuará hasta los días 34 a 36. Los estados de desarrollo del embrión pueden observarse arrancando las vainas de las plantas en diferentes momentos. Abriendo la vaina y sacando y abriendo los óvulos para poder observar el embrión. Los embriones están rodeados por el endospermo, un líquido granular que proporciona nutrientes.

Día 23 a 36

El desarrollo del embrión está completo, y las semillas están formadas con cubierta a partir de los integumentos. Las paredes del ovario y estructura relacionadas se han desarrollado en una gran vaina (silicua), y la vaina comienza a secarse. El día 36, las plántulas se sacan de la fuente de agua y continúa el proceso de maduración. Cuando las semillas están maduras, las vainas se vuelven amarillas, el embrión se deshidrata y la cubierta de la semilla se vuelve marrón.

Días 36 a 40

Las plantas continúan secándose. El día 40, se separan las vainas de las plantas ya secas y se extrae la semilla. El ciclo ya se ha completado.

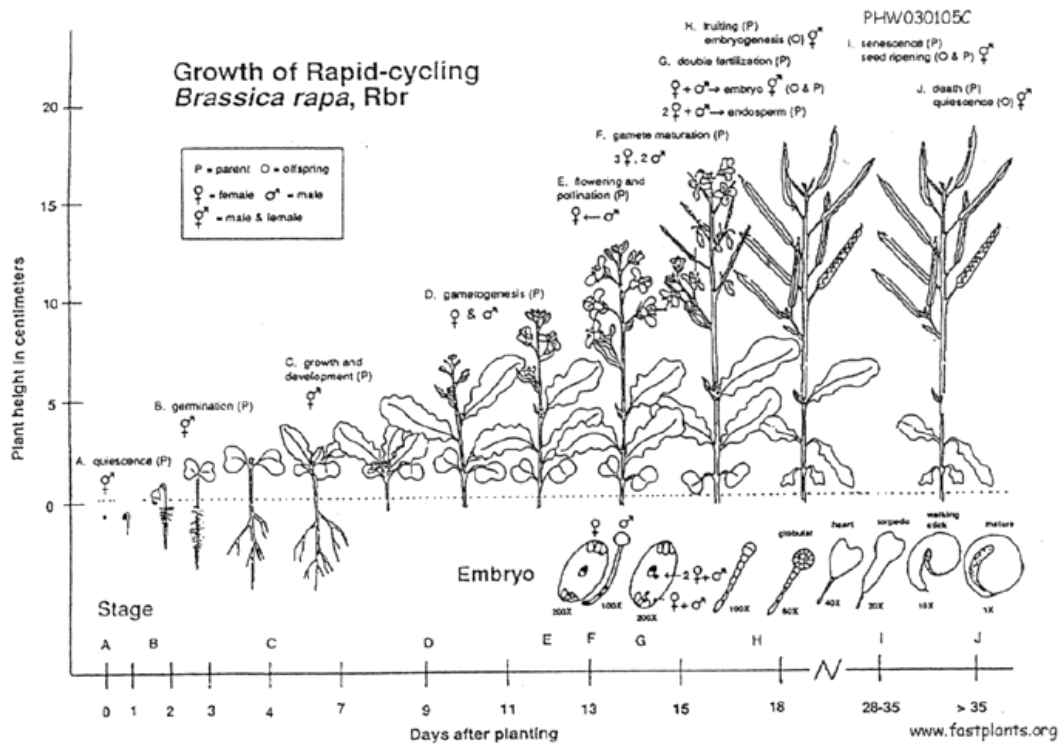


Figura 1. Crecimiento de el ciclo rápido de *Brassica rapa* cultivar, mostrando los estados de crecimiento en los diferentes tiempos desde su siembra al día 28



Figura 2. Orientación de los capullos en el ápice

2. Práctica 2: Polinizadores

2.1. Materiales

- Abejas muertas y secas
- Pegamento
- Palillos

2.2. Métodos

Uno o dos días antes de la polinización hay que preparar los palillos con las abejas porque algunos pegamentos son tóxicos para el polen.

La realización del palillo consiste en pegar el tórax de la abeja, sin alas ni patas, a un extremo del palillo y dejar secar.

Para la polinización se rota el tórax de la abeja que está.

Los palillos polinizadores se restriegan enérgicamente por cada uno de los órganos florales, empapando en polen y restregando sobre el estigma del gineceo



3. Selección masal en alógamas. Comparación selección masal individual sin prueba de descendencia y selección masal individual con prueba de descendencia.

La selección masal individual consiste en la selección de los individuos que muestren el fenotipo buscado, la mezcla de cuyas semillas constituirá la semilla de siembra de la generación siguiente. El proceso se repite hasta conseguir una nueva población adecuada a nuestras necesidades. Si se hace sin prueba de descendencia, tal y como se ha descrito, el único criterio de selección es el fenotipo del individuo. Si se hace con prueba de descendencia, antes de mezclar la semilla de los individuos seleccionados por su fenotipo, parte de la semilla de cada uno de ellos se utiliza para hacer una evaluación de su descendencia, y el resto se guarda en reserva. Una vez evaluadas las descendencias de la planta inicialmente seleccionadas, sólo mezclaremos las semillas guardadas en reserva correspondientes a las descendencias que hayan mostrado un comportamiento superior.

Para comparar a nivel práctico estas dos modalidades de selección, las simularemos mediante dos experimentos, donde la selección se ejecutará en sendas poblaciones. En ambas poblaciones los caracteres conjuntamente sometidos a selección con la pigmentación antocianínica en órganos vegetativos y la cantidad de clorofila en los mismos. Pueden aparecer 4 fenotipos: Con pigmentos y con clorofila (PC), sin pigmentos y con clorofila (SC), con pigmentos y cloróticos (PS), y sin pigmentos y cloróticos (SS). Queremos obtener una población donde se incremente la frecuencia de individuos SC. Asumimos, aunque no es verdad, que las características sometidas a selección se expresan en post-antesis.

Experimento A. Simulación selección individual sin prueba de descendencia

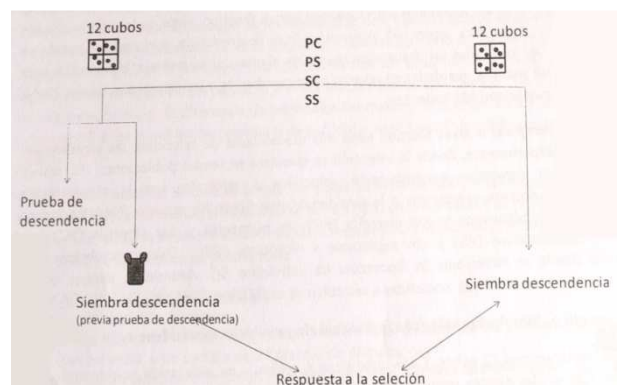
Siembra: Sembraremos 32 cubos. Cada uno tiene 4 celdas, y en cada celda sembraremos dos semillas. Cuando las plantas germinen dejaremos una sola planta por celda, estableciendo así una población de 64 individuos. A las 2 semanas se registrará la frecuencia de individuos PC, PS, SC y SS. Cuando las plantas florezcan haremos cruzamientos al azar entre ellas. Eliminaremos (en post-antesis) a todos los individuos PC, PS y SS. Cuando maduren los frutos, cosecharemos la semilla de los individuos SC y la mezclaremos. La generación filial se establecerá sembrando una muestra (no más de 64 semillas) de la mezcla. En la población filial registraremos la frecuencia del fenotipo favorecido por la selección, esto es, SC.

Experimento B. Simulación selección individual con prueba de descendencia

Siembra: Sembraremos 32 cubos. Cada cubo tiene 4 celdas, y en cada celda sembraremos dos semillas. Cuando las plantas germinen dejaremos una sola planta por celda, estableciendo así una población de 64 individuos. A las 3 ó 4 semanas se registrará la frecuencia de individuos PC, PS, SC y SS. Cuando las plantas florezcan haremos cruzamientos al azar entre ellas. Eliminaremos (en post-antesis) a todos los individuos PC, PS y SS. Cuando maduren los frutos, cosecharemos la semilla de los individuos SC, pero esta vez no se mezclarán las semillas cosechadas, sino que con la semilla de cada planta se establecerán dos lotes. Uno de ellos se guardará en reserva. Con el otro se establecerá una prueba de evaluación de la descendencia. Esta se realizará sembrando sobre papel de filtro humedecido, en placa Petri, la semilla a probar. Una semana después, fenotiparemos este lote de las descendencias. Entonces mezclaremos solamente la semilla guardada en reserva de aquellos lotes hermanos de los que en la prueba de descendencia han dado mejor resultado.

Esta mezcla constituirá la generación filial resultante de la selección en la población original. En la población filial registraremos la frecuencia del fenotipo favorecido por la selección, esto es, SC.

Se trata de comprobar, si tanto en el Experimento A como en el B ha habido respuesta a la selección, y si ésta ha sido superior en el experimento B.



Selección masal en algamas. Comparación selección masal individual sin prueba de descendencia y selección masal individual con prueba de descendencia

- Objetivo de la práctica
- Materiales y métodos

Material vegetal estudiado: especie y sistema reproductivo manejo del material vegetal; siembra, cuidados, polinización, carácter estudiado; descripción, medición, momento de medición, selección; modalidad y relación con la polinización.

- Resultados

Fenotipo observados en la generación parental y su frecuencia

Fenotipo de las plantas seleccionadas

Fenotipo observado en la progenie y su frecuencia

Efecto de selección

- Discusión

Comparación de los resultados observados en los dos experimentos realizados

Respuesta a la selección

En los temas 4 y 8 se estudia la relación entre respuesta a la selección, diferencial de selección y heredabilidad:

$$R = K \cdot h^2 \cdot DS$$

Siendo K un coeficiente que depende de la modalidad de selección que se esté practicando. Concretamente para la variante más simple de selección masal (individual: se seleccionan individuos sólo en base al fenotipo de los mismos) K vale 1 si la selección se hace en preantesis, y $1/2$ si se hace en post-antesis. R es la respuesta a la selección, esto es, la diferencia de las medias del carácter en la población filial (la establecida con la semilla cosechada en las plantas seleccionadas de la población parental) y la población parental o de partida. DS es el diferencial de selección, es decir, la diferencia de las medias del carácter en el grupo de los individuos seleccionados (en la población parental o de partida) y en el total de la población parental o de partida.

Objetivo de la práctica. Se trata de comprobar, para un carácter dado, si las respuestas a la selección observadas cuando la selección se lleva a cabo en pre-antesis o en post-antesis deben de ser el doble de la obtenida en post-antesis.

Simulación selección pre-antesis

Selección de masculinos y femeninos

Carácter a seleccionar: Número de pelos en primera hoja verdadera a los 15 días de la siembra. Población parental o de partida de 32 plantas de *Brassica rapa*.

Selección contra el número de pelos, seleccionando las 8 plantas con menos pelos. A continuación se eliminarán el resto de las plantas, esto es, las no seleccionadas, antes de que se produzca la antesis floral.

Cuando se produzca la floración se cruzarán aleatoriamente las plantas seleccionadas. Los cruzamientos se hacen con pinceles contruidos con abejas.

Cuando los frutos maduren, se dejarán secar las plantas y una vez secas se les extraerá la semilla. Con la semilla recolectada se establece una nueva población (podemos llamarla filial) y en ella volveremos a medir la vellosidad de la primera hoja verdadera de cada planta.

Simulación selección post-antesis

Selección sólo femeninas

Todo igual que en la selección en preantesis, con la única diferencia de que las plantas no seleccionadas no son eliminadas antes de la floración y participan con su polen en la polinización de las 8 plantas seleccionadas, las cuales también aportan su polen. Sólo se recolecta la semilla de las 8 seleccionadas.

4. Práctica 4: Contabilización de pelos en hojas 17/03/2014

4.1. Materiales

- Tijeras



- Palillos para entutorado



- Microscopio



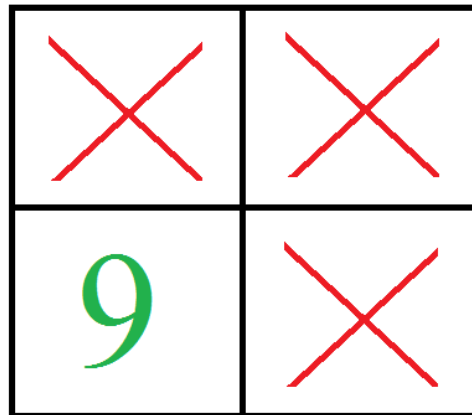
- Contraste negro



4.2. Métodos

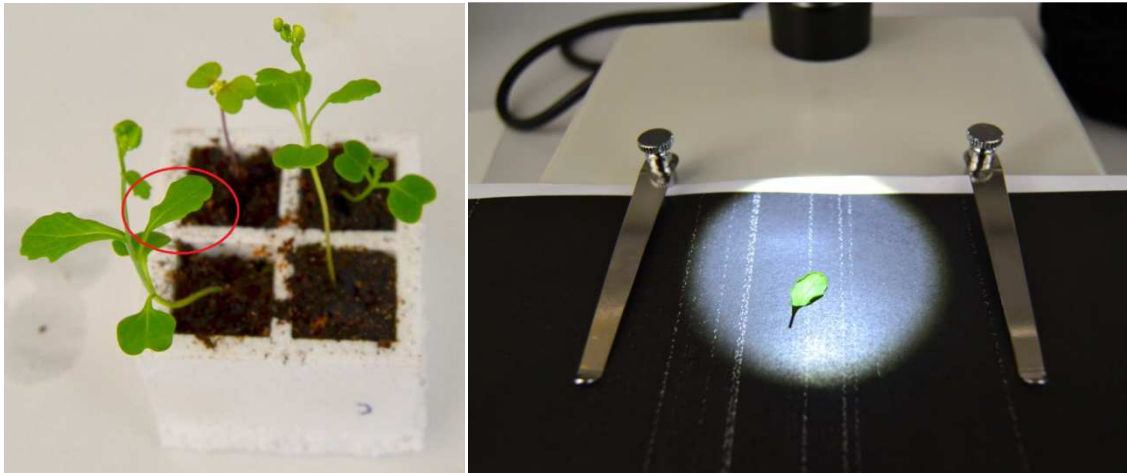
A día 17/03/2014, medimos el carácter de la primera hoja verdadera (pedúnculo y bordes del foliolo incluidos) a los 14 días de la siembra (contamos los pelos en las hojas), entutoramos posteriormente las plántulas y apuntamos el número de pelos en cada alveolo con su plántula.

En nuestro caso el alveolo resultó como aquí se refiere:



Sólo en uno de los alveolos del cubo se dieron las condiciones para contabilizar el experimento, siendo el número de pelos en dicha hoja de 9

Se cortó la hoja seleccionada que aparece en la imagen y posteriormente se procedió a su contabilización



Jorge Cerezo Martínez

5. Poblaciones con evaluación de descendencia 20/03/2014

Vuelta a fenotipar, asignamos una simbología para los distintos caracteres, a saber:

Con pigmentación
y verde oscuro



Con pigmentación y verde claro

Con pigmentación
y verde pálido



Sin pigmentación
verde oscuro



Con pigmentación y verde oscuro

Sin pigmentación
verde pálido

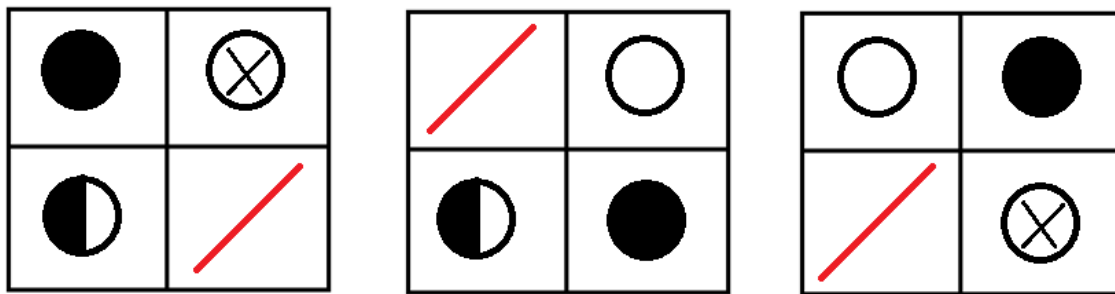


Sin pigmentación y verde claro



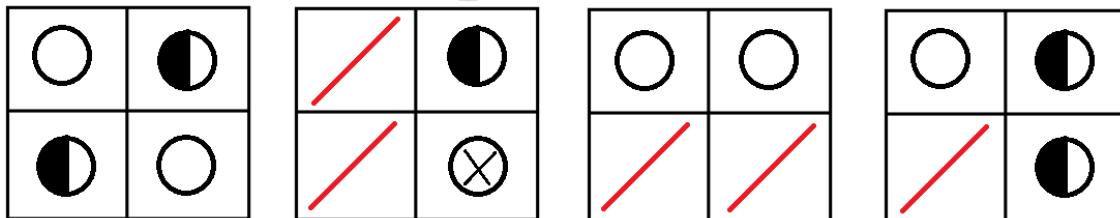
Sin pigmentación y verde oscuro

Procedimos a la recogida de datos



Simbología	Descripción	Resultado				Total	Porcentaje
		3	4	0	3		
	Con pigmentación y verde oscuro	3	4	0	3	10	20,41%
	Con pigmentación y verde pálido	2	0	2	3	7	14,29%
	Sin pigmentación verde oscuro	2	5	5	4	16	32,65%
	Sin pigmentación verde pálido	2	5	6	3	16	32,65%

6. Poblaciones sin evaluación de la descendencia 20/03/2014



Simbología	Descripción	Resultado				Total	Porcentaje
		0	2	2	3		
	Con pigmentación y verde oscuro	0	2	2	2	6	12,5%
	Con pigmentación y verde pálido	1	4	2	3	9	18,75%
	Sin pigmentación verde oscuro	5	5	3	4	17	35,42%
	Sin pigmentación verde pálido	4	5	5	2	16	33,33%

7. Contabilización de pelos en hojas 20/03/2014

El procedimiento fue igual al realizado el 17/03/2014, recogiendo la siguiente contabilidad 26, 1, 11, 8, 7 y quedando por contabilizar 2 que aún se encontraban en la fase del desarrollo de los cotiledones.

También se procedió al entutorado de las plantas que había experimentado un fuerte desarrollo, se

retiraron los tutores pequeños de todos los ejemplares.

- Palillos largos

7.1. Materiales

- Argollas de silicona



Ejemplo de entutorado



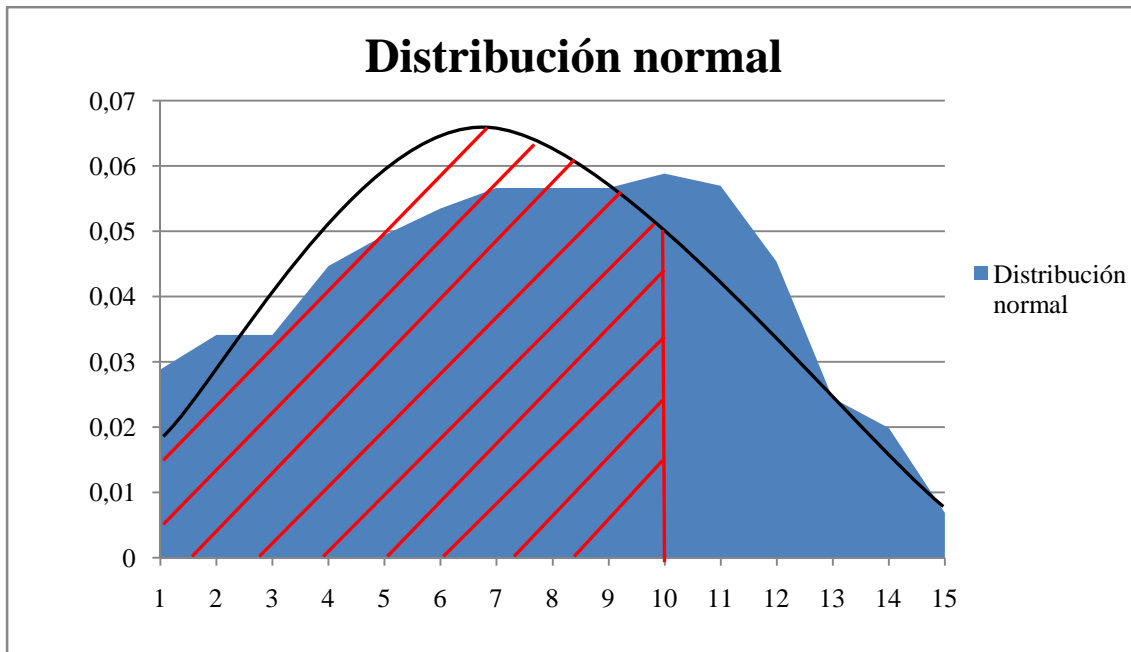
It's product of Georgius Millán Academic all rights reserved ©©

8. Resultados finales

- **Simulación selección pre-antesis:** Siembra de población de 32 plantas: 03/03/2014. Construcción de pinceles: 10/03/2014. Fenotipado en los días 17-24/03/2014.

Recuento, carácter varía de 2 a 24, con un número de individuos de 15

2,3,3,5,6,7,8,8,8,11,12,15,19,20,24



El resto de plantas, debido a su escaso desarrollo, no se tendrán en cuenta. Selección de las plantas con más de 10 pelos, marcado y eliminación de las no seleccionadas el 26/03/2014. Inicio de las interpolinizaciones el 26/03/2014.

Se aplica una presión de selección del 40% eligiendo 6 individuos de los 15.

Ahora, procedemos a los cálculos

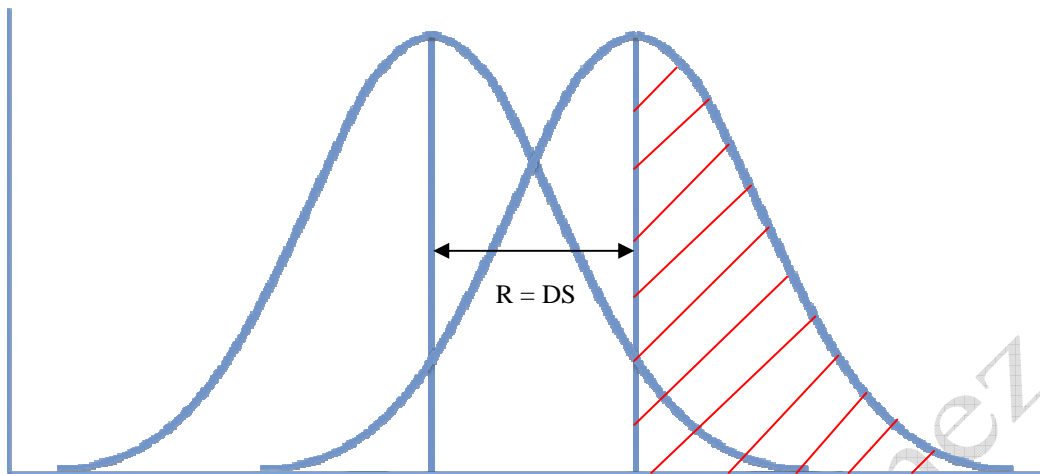
- Media del carácter: $151/15 \cong 10,07$ pelos por individuo
- Media del carácter en los individuos seleccionados: $101/6 \cong 16,83$ pelos por individuo

Encontramos la respuesta a la selección, expresada por:

$$R = K \cdot h^2 \cdot DS \rightarrow R = 1 \cdot 1 \cdot (16,83 - 10,07) \rightarrow R = 6,76$$

Donde:

- K: Constante, en preantesis su valor 1, en post-antesis su valor es 0,5
- h^2 : Heredabilidad del carácter es 1
- DS: la diferencia de relación

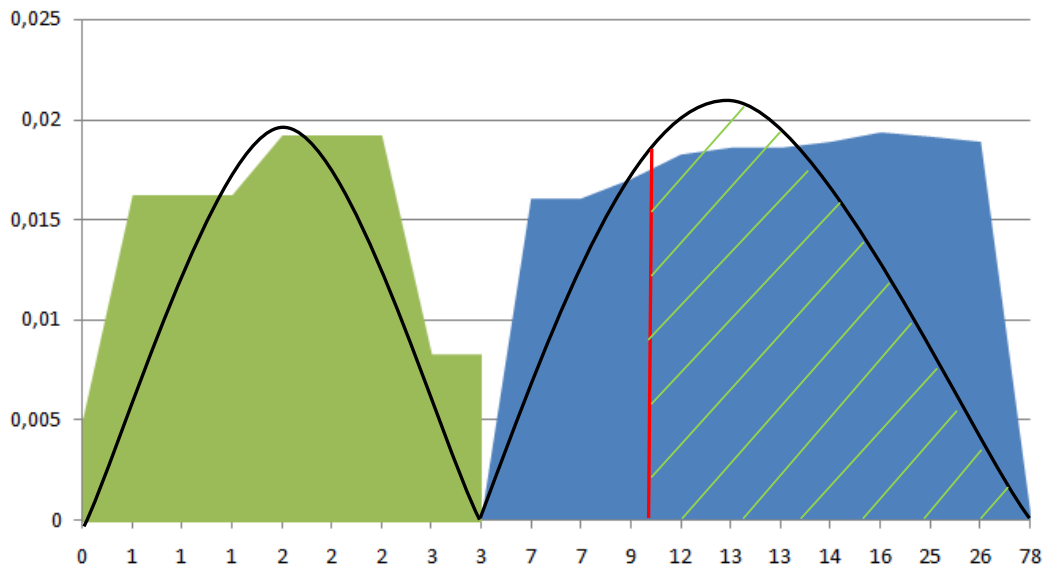


- **Simulación selección post-antesis:** Siembra de población de 32 plantas: 03/03/2014. Construcción de pinceles: 10/03/2014. Fenotipado en los días 17-24/03/2014.

Recuento, carácter varía de 2 a 24, con un número de individuos de 15

0,1,1,1,2,2,2,3,3,7,7,9,12,13,13,14,16,25,26,78

Distribución normal



Se aprecian claramente dos campanas de Gauss con dos tipos claramente diferenciados, una con un fenotipo de poco pelo, y una con un fenotipo de mucho pelo.

El resto de plantas, debido a su escaso desarrollo, no se tendrán en cuenta. Selección de las plantas con más de 10 pelos, marcado y eliminación de las no seleccionadas el 26/03/2014. Inicio de las interpolinizaciones el 26/03/2014.

Se aplica una presión de selección del 40% eligiendo 8 individuos de los 20.

Ahora, procedemos a los cálculos

- Media del carácter: $235/20 \cong 11,75$ pelos por individuo
- Media del carácter en los individuos seleccionados: $220/8 \cong 27,5$ pelos por individuo

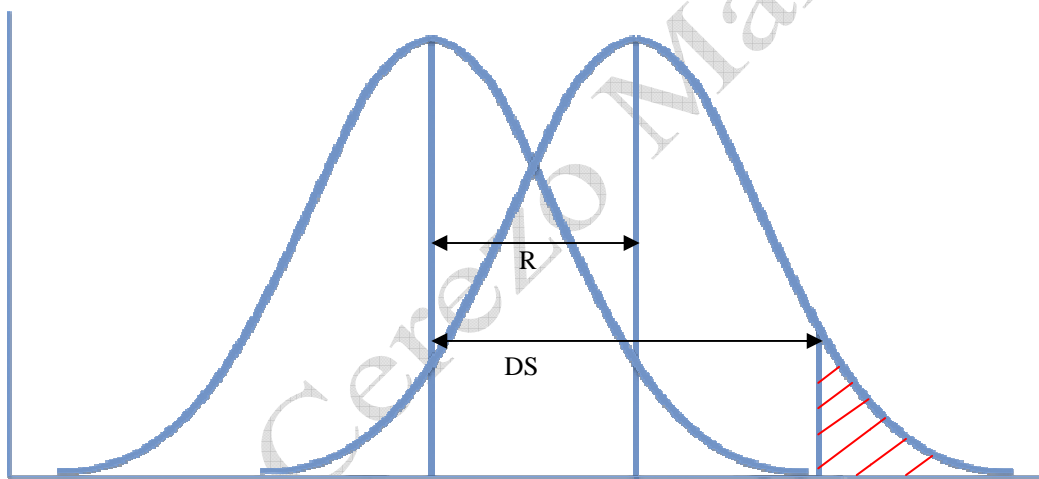
Descendencia

Fenotipado de le progenie 12 de Mayo: 1, 5, 7, 10, 10, 11, 15, 17, 17, 18, 18, 21, 22, 23, 26, 31, 34, 37, 48, 49, 54, 54, 64, 68, 113, 136, 156

- Media del carácter: $1187/31 \cong 38,3$ pelos por individuo

Encontramos la respuesta a la selección, expresada por:

$$R = MP - DS \rightarrow 38,3 - 15,75 \rightarrow 22,55$$



Discusión





El experimento trata de comprobar, para un carácter dado, si las respuestas a la selección observadas cuando la selección se lleva a cabo en pre-antesis o en post-antesis son acordes a lo indicado anteriormente. Si es así la respuesta a la selección en pre-antesis deber de ser el doble de la obtenida en post-antesis. En la fórmula para calcular la eficacia de la selección masal en la que influya la heredabilidad (h^2), se demostramos que K usar en cada caso.

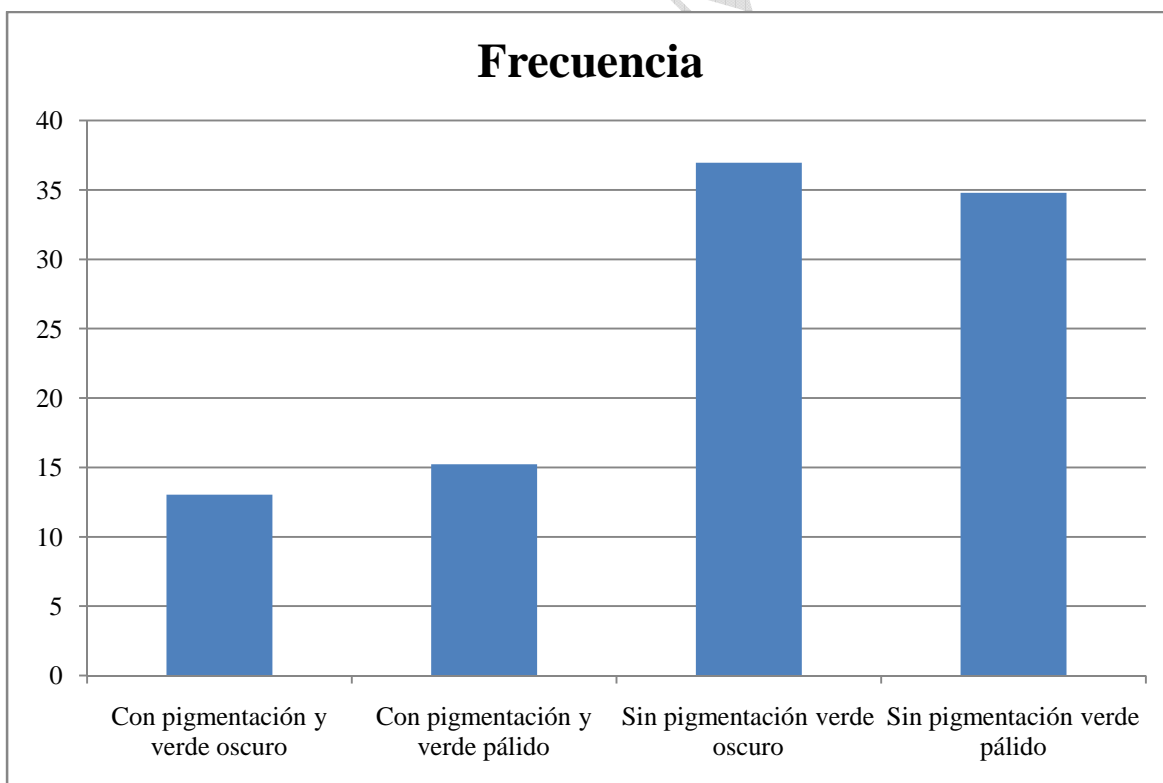
Siendo K un coeficiente que depende de la modalidad de selección que se esté practicando. Concretamente para la variante más simple de selección masal (individual: se seleccionan individuos sólo en base al fenotipo de los mismos) K vale 1 si la selección se hace en pre-antesis, y $\frac{1}{2}$ si se hace en post-antesis.

Como podemos observar por los resultados obtenidos esto es así ya que la respuesta obtenida en pre-antesis es de 6,9 y en post-antesis es de 3,9, es decir prácticamente el doble.





Por lo tanto podemos decir que el experimento ha resultado exitoso.

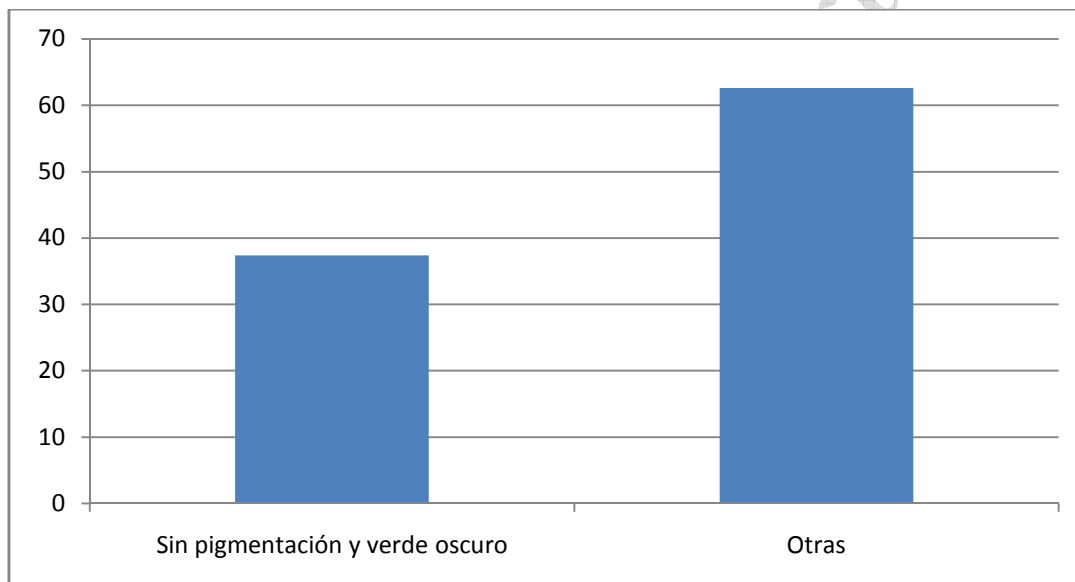
- **Selección masal simple:** Siembra de población de 64 plantas el 03/03/2014, construcción de pinceles el 10/03/2014, fenotipado el 12/03/2014, inicio cruzamientos el 24/03/2014.

Simbología	Descripción	Total	Porcentaje
	Con pigmentación y verde oscuro	6	12,50
	Con pigmentación y verde pálido	8	18,75
	Sin pigmentación verde oscuro	17	35,42
	Sin pigmentación verde pálido	16	33,33
		47	100%







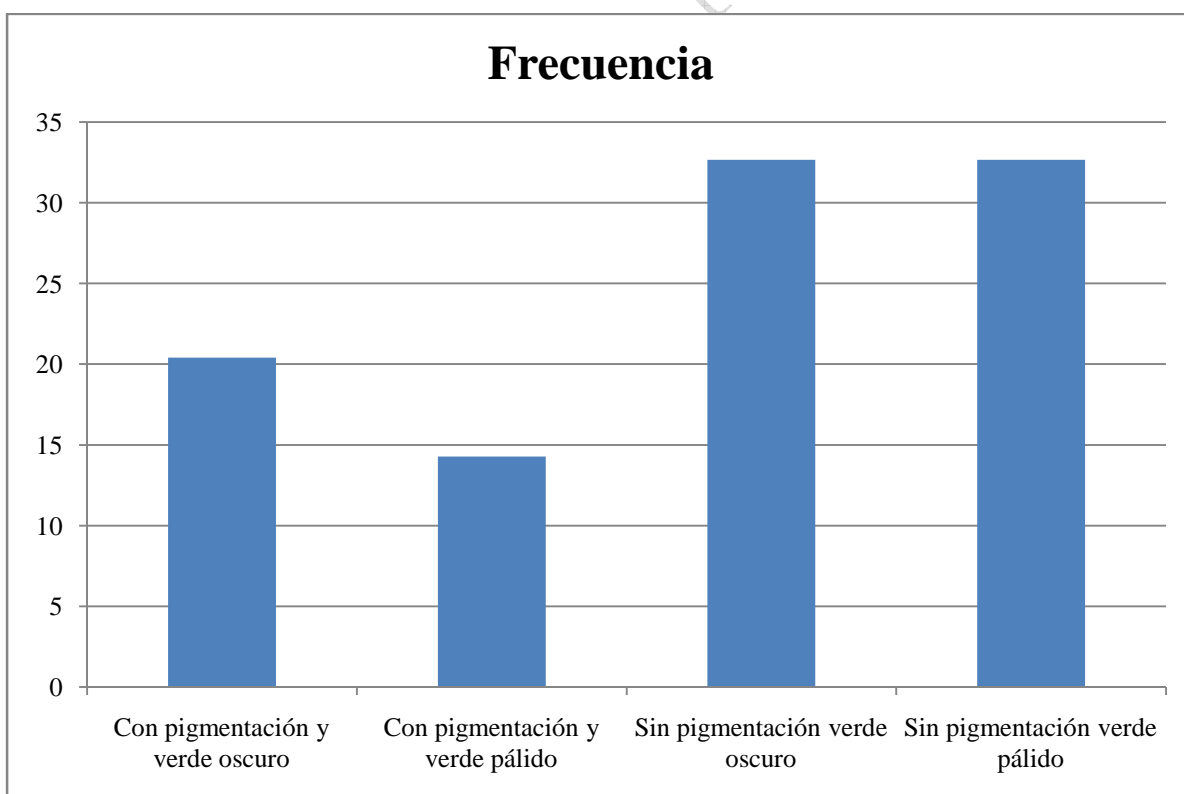
Fenotipado

Simbología	Descripción	Total	Porcentaje
	Sin pigmentación verde oscuro	25	29,8
  	Demás	59	70,2
		84	100%







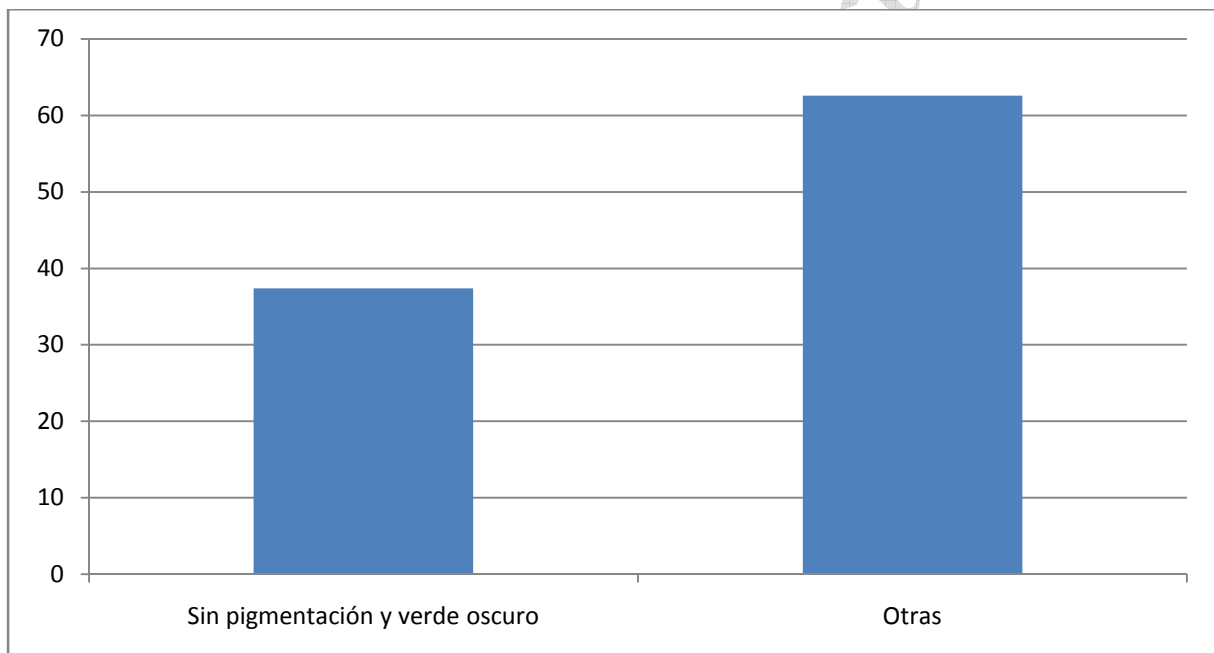
- Selección masal con prueba de descendencia:** Siembra de población de 64 plantas el 03/03/2014, construcción de pinces el 10/03/2014, fenotipado el 12/03/2014, inicio cruzamientos el 24/03/2014.

Simbología	Descripción	Total	Porcentaje
	Con pigmentación y verde oscuro	10	20
	Con pigmentación y verde pálido	8	16
	Sin pigmentación verde oscuro	16	32
	Sin pigmentación verde pálido	16	32
		49	100%



Fenotipado

Simbología	Descripción	Total	Porcentaje
	Sin pigmentación verde oscuro	43	37,4
  	Demás	72	62,6
		115	100%



Planta 1: 45,0 %, Planta 2: 55,5 %, Planta 3: 20,0 %, Planta 4:52,6%, Planta5: 73,3%, Planta 6: 66,7%, Planta 7: 78,5%, Planta 8: 25,0%

Formamos un lote de siembra a partir de la mezcla de las semillas en reserva de las plantas 2, 4, 5, 6, 7 el 5 de mayo

Fenotipado

El 12 de mayo volvimos a fenotipar a la F1 siendo su resultado:

	S.M.simple	S.M.pruebasdescendencia
Sin pigmento y verde oscuro	25	43
Resto	59	72

9. Referencias

- http://www.fastplants.org/how_to_grow/growing_lighting/quad_growing_system.php
- http://www.fastplants.org/pdf/growing_instructions.pdf
- http://www.fastplants.org/pdf/grow/quad_protocol.pdf
- http://www.fastplants.org/_images/resources/pauls_sandbox/uploads/61.file.pdf