

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Forestales



PROPAGACIÓN DE MATERIAL ADULTO DE NOGAL (*JUGLANS REGIA L.*) VIA
CULTIVO IN VITRO

POR

FABIOLA NATACHA AVILÉS MALDONADO

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS FORESTALES

CONCEPCIÓN-CHILE

2009

RESUMEN

Los programas de mejoramiento genético requieren de sistemas de propagación eficientes que permitan la masificación de las plantas mejoradas. A esta necesidad se suma el hecho de que la selección de la mayoría de las características fenotípicas de los individuos se realiza en estado adulto, lo que conlleva a la necesidad de revigorar el material seleccionado para propagación. Dentro de las vías de cultivo de tejidos más utilizada en leñosas, se encuentra el cultivo de callos para obtener morfogénesis vía indirecta, lo que permite la revigorización del material a propagar. Sin embargo, en nogal (*Juglans regia* L.) no existen reportes de reconversión de plantas a través de esta vía.

Debido a la problemática antes mencionada, este estudio pretende asentar las bases de la morfogénesis a partir de material adulto de *Juglans regia* L. Para ello, se estableció como objetivo general evaluar diferentes vías de cultivo *in vitro* de material adulto de nogal como técnicas de propagación vegetativas de plantas provenientes de invernadero.

Para ello, en una primera etapa, se evaluó el efecto del medio de cultivo en la respuesta morfogénica de los cultivos de callo provenientes de material adulto de nogal. Para ello, se compararon los medios de cultivo Broadleaves Tree (BTM), Murashige y Skoog (MS), Driver Kuniyuki Walnut (DKW) y Woody Plant (WPM). Se utilizaron segmentos foliares los que, previa esterilización superficial, fueron dispuestos en cada medio de cultivo suplementado con 21,4 μM de ácido naftalén acético (ANA) y 8,8 μM de 6-bencilaminopurina (BAP). Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la inducción de callogénesis entre los medios evaluados; pero el porcentaje de callos nodulares fue significativamente mayor en los medios BTM (75%) y WPM (63%). Sólo en el medio BTM, la histología mostró presencia de zonas meristemáticas en el interior del macizo, sin que se observara expresión externa de dichas formaciones. Estos resultados indican que el medio de cultivo influye en las características morfogénicas del callo resultante, siendo los callos inducidos en el medio BTM los de mayor potencial morfogénico, al observarse meristemoides en sus primeros estadios de organización.

En una segunda etapa se evaluó el efecto de la concentración de ANA en tres niveles (5,3; 21 y 53 μ M). También fueron comparados dos tipos de tejidos, recolectados a 15 días de la brotación contra tejidos que tenían 40 días desde la fecha de brotación. Finalmente para obtener maduración del tejido, se evaluó ácido abscísico (ABA) en tres concentraciones (11,35; 18,9 y 37 μ M). Los resultados indicaron que sólo el tratamiento de 53 μ M de ANA produce callo morfogénico, presentándose tanto respuestas organogénicas como embriogénicas en el mismo macizo. La edad del material evidenció diferencias significativas en sus respuestas, presentando mayor tasa de callos morfogénicos en tejidos de 15 días desde la brotación (75%) respecto de callos provenientes de tejidos de 40 días desde la brotación (26%). Finalmente, la concentración de ABA no arrojó diferencias respecto de los estados de desarrollo observados en las tres concentraciones evaluadas; sin embargo, se observó una detención de la proliferación embriogénica en la concentración de 37 μ M de ABA.

Finalmente, con el objeto de analizar la estabilidad génica en futuros programas de masificación de plantas basados en morfogénesis vía indirecta, se analizó la fidelidad clonal con respecto al material parental de callos provenientes de material adulto de nogal mediante la técnica de RAPDs.

Para ello, se utilizaron hojas provenientes de material adulto de nogal cv Chandler, a las que se indujo callogénesis utilizando 21,4 μ M de ácido naftalénacético (ANA) y 8,8 μ M 6-bencilaminopurina (BAP), en medio BTM. Luego de 60 días, se extrajo ADN mediante el método del CTAB tanto a los callos producidos como a la planta madre. El ADN de ambas fuentes fue amplificado por PCR utilizando 6 partidores distintos. No hubo diferencias entre el patrón de fragmentos de la planta madre y las líneas callogénicas analizadas. Estos resultados permitieron concluir que hasta el momento no existe evidencia de alteraciones en la estabilidad génica de callos originados de hojas adultas de *Juglans regia* L.

De acuerdo a los resultados globales se permite concluir que es posible inducir las primeras etapas de respuestas morfogénicas a partir de material adulto de nogal *Juglans regia* L. cv Chandler, por lo que la vía indirecta de regeneración de plantas sería potencialmente factible de establecer a futuro.