



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
INGENIERIA EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA: Evaluación morfológica e histológica de las etapas de formación de la embriogénesis somática en las variedades Duke 7 y Puebla de aguacate (*Persea Americana Mill*).

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

DIANA CAROLINA VINUEZA ESPINOSA

SEPTIEMBRE 2013

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar morfológica e histológicamente las etapas de formación de la embriogénesis somática de dos variedades de aguacate, Duke 7 y Puebla, tolerantes a problemas radiculares causados por *Phytophthora* y *Fusarium* con el fin de obtener un protocolo de regeneración de los embriones somáticos a plantas completas a partir de tres explantes: tejido foliar, tejido nucelar y embriones cigóticos inmaduros. Para lo cual se desinfectó brotes y frutos inmaduros de las dos variedades para inducir la brotación de hojas in vitro (explante tejido foliar) y obtener los explantes tejido nucelar y embriones cigóticos inmaduros respectivamente. Los resultados mostraron que en la etapa I: Inducción de cultivos embriogénicos, el medio de cultivo m_{IC1} , MS suplementados con 0.1 m.g. L^{-1} picloram mostró mayor número de callos embriogénicos. En la etapa II: Mantenimiento de callos embriogénicos, el medio de cultivo m_{mce1} , semisólido, formó mayor número de embriones somáticos en diferentes estadios de desarrollo. En la etapa III: Desarrollo-maduración, el medio de cultivo m_{DES1} , MS suplementado con 4 m.g.L^{-1} Tiamina + 20 m.l.L^{-1} Agua de coco, mostró mayor número de embriones somáticos w-o y finalmente los embriones somáticos desarrollados completamente en la etapa III pasaron a la etapa IV: Germinación de embriones somáticos, dando como resultados que el medio de cultivo m_{GES1} , MS suplementado con $4.44 \mu\text{M BA} + 2.89 \mu\text{M AG}_3$, mostró mayor número de embriones somáticos germinados. El explante que indujo una respuesta exitosa de regeneración de plantas somáticas fue embriones cigóticos inmaduros de las dos variedades con alta frecuencia de células embriogénicas, el explante tejido foliar de las dos variedades solamente indujo embriones somáticos hasta la fase globular con una intermedia frecuencia de células embriogénicas y alta frecuencia de células no embriogénicas. Por el contrario el explante tejido nucelar de las dos variedades no mostró respuesta de formación de embriones somáticos ya que desde la etapa de inducción no se observó formación de callos embriogénicos, el tejido presentaba una alta frecuencia de células no embriogénicas.

Palabras claves: Embriogénesis somática, embriones somáticos, tejido nucelar, tejido foliar, embriones cigóticos inmaduros, callos embriogénico, células embriogénicas, células no embriogénicas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate morphological and histological formation stages of somatic embryogenesis of two varieties of avocado, Duke 7 and Puebla which are tolerant to root problems caused by *Phytophthora* and *Fusarium*. In order to obtain a protocol for regenerating somatic embryos to complete plants from three explants: leaf tissue, nucellar tissue and immature zygotic embryos. In order to do experiment, the buds and immature fruits of two varieties were disinfected in order to induce sprouting in vitro leaves (leaf tissue explant) and obtain nucellar tissue explants and immature zygotic embryos respectively. The results showed that in:

Stage I: Induction of embryogenic cultures, the culture medium M_{IC1} , MS supplemented with 0.1 mg L^{-1} picloram showed greater number of embryogenic callus. Stage II: Maintenance of embryogenic callus, culture medium M_{mce1} , semisolid formed larger number of somatic embryos at various stages of development. Stage III: development/ maturation, growth medium mDES1, MS supplemented with 4 mg L^{-1} thiamine mL^{-1} + 20 Coconut water showed a greater number of somatic embryos *w-o* and finally, fully developed somatic embryos at stage III passed through stage IV: Germination of somatic embryos, giving as results in mGES1 culture medium, MS medium supplemented with 4.44 uM 2.89 uM BA + AG3 that showed greater number of germinated somatic embryos.

The explant that successfully induced a somatic plant regeneration was immature zygotic embryos of the two varieties, with high frequency of embryogenic cells, the leaf tissue explant, both varieties, induced somatic embryos only to the intermediate phase with a frequency globular embryogenic cell and high frequency of non embryogenic cells. On the other hand, nucellar tissue explant of the two varieties showed no response to somatic embryo formation because since the induction stage was not observed formation of embryogenic callus, the tissue showed a higher frequency of non embryogenic cells.

Keywords: somatic embryogenesis, somatic embryos, nucellar tissue, leaf tissue, immature zygotic embryos, embryogenic callus, embryogenic cells, non embryogenic cells