

**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
Escuela de Ingeniería Agronómica**

**INDUCCIÓN DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS EN CINCO
VARIEDADES DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.) A PARTIR DE
TEJIDO NUCELAR Y FOLIAR. CUTUGLAGUA, PICHINCHA.**

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

DIANA GUADALUPE ILES CUASQUI

QUITO – ECUADOR

2012

INIAP - Estación Experimental Santa Catalina

7. RESUMEN

La obtención de una cantidad suficiente de portainjertos de aguacate (*Persea americana* Mill.) aptos para su cultivo es afectada por una gran limitante, como es la existencia de variabilidad genética en la semilla debido a la polinización cruzada que es generada por el comportamiento floral de esta especie.

También es un cultivo sensible a la salinidad y susceptible a la pudrición de raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*, ocasionando estos serios problemas en las plantaciones.

La selección de patrones resistentes o tolerantes (como Duke 7 y Mexícola) a los inconvenientes antes mencionados, ha mejorado la producción y sanidad de los cultivos de aguacate, por lo que se ha aceptado el uso de portainjertos con estas características en todo el mundo.

El logro de una técnica biotecnológica para la producción de portainjertos promisorios de aguacate abastecería los requerimientos de estos para la agricultura nacional. Por lo tanto, se realizó la inducción de callos en tejido vegetal de aguacate como un paso importante e inicial del proceso de embriogénesis somática.

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Departamento Nacional de Biotecnología de la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP.

Se trabajó con dos tipos de explantes (nucelar y foliar) de cinco variedades de aguacate: Duke 7, Mexícola, Verde Liso, Puebla y Nacional, los cuales fueron sometidos a cinco medios de inducción para la obtención de callos embriogénicos, esto se hizo bajo condiciones de cuarto de cultivo con una temperatura promedio de 25 ° C y humedad relativa del 80 %. Se aplicó un DCA con arreglo factorial 2 x 5x 5 con cuatro observaciones.

Se evaluaron cinco variables: porcentaje de oxidación, porcentaje de formación de callos, número de callos embriogénicos, color del callo y consistencia del callo. El porcentaje de oxidación se registró a la cuarta semana de inducción. Se obtuvieron menores porcentajes de oxidación con los explantes nucleares de la variedad Mexícola cultivados en el medio de cultivo 2 (MS, Picloram 0.1 mg/l, Tiamina 0.4 mg/l, Myo- Inositol 100 mg/l, Carbón activado 0.1 %, Sucrosa 30 g/l, Agar 8 g/l); también se encontró que los explantes foliares de las variedades Mexícola y Duke 7 cultivados en el medio de cultivo 4 (MS

75%, BAP 2 mg/l, IBA 0.5 mg/l, Sacarosa 30 g/l y Agar 8 g/l), generaron bajos porcentajes de oxidación.

De la evaluación para la variable porcentaje de formación de callos, se registró como mejores variedades para la proliferación de callos a Mexícola, Puebla y Duke 7, las dos primeras con tejido nucelar en el medio de cultivo 2 y la tercera con tejido foliar en el medio de cultivo 4.

Se establecieron cultivos embriogénicos en las cinco variedades evaluadas. Pero al igual que en las anteriores variables, se identificaron como mejores variedades para formar mayor número de masas embriogénicas a Mexícola y Puebla con tejido nucelar en el medio de cultivo 2 y a Duke 7 con tejido foliar cultivada en el medio de cultivo 4.

Para la variable color del callo, se determinó que la coloración de los callos nucleares con buenas características embriogénicas era el amarillo verdoso, la misma que fue declinando desde la quinta semana de inducción a colores amarillo oscuro y marrón, indicando que las transferencias de estos callos a nuevos medios de cultivo deben realizarse cada cuatro semanas.

La coloración de los callos foliares fue en su mayoría blanco y crema, estos casi no cambiaron hasta el final de la evaluación, observándose una prolongada proliferación de callos hasta ese momento.

Por último la consistencia de los callos, fue frágil en callos provenientes de nucelas, observándose gran cantidad de masas proembriogénicas. En tejido foliar se obtuvo una formación de callos generalmente compactos. Esto sirvió para determinar como se deben realizar los siguientes subcultivos, ya sea en medios sólidos o en medios líquidos.

8. SUMMARY

Obtaining a sufficient number of rootstocks of avocado (*Persea americana* Mill) suitable for cultivation is affected by a major constraint, as is the existence of genetic variability in the seed due to cross-pollination that is generated by the floral behavior this species. It is also a crop sensitive to salinity and susceptible to root rot caused by *Phytophthora cinnamomi*, causing these serious problems in the plantations.

The selection of resistant or tolerant patterns (as Duke 7 and Mexícola) to the aforementioned drawbacks, improved production and health of the avocado crop, so it has accepted the use of rootstocks with these characteristics throughout the world. Achieving a biotechnological technique for producing promising avocado rootstocks would supply the requirements of these for national agriculture.

Therefore, we performed the induction of callus tissue of avocado as an important step and start the process of somatic embryogenesis.

The research was carried out at the Tissue Culture Laboratory of the National Department of Biotechnology, Santa Catalina Experimental Station of the National Autonomous Institute for Agricultural Research, INIAP.

We worked with two types of explants (nucellar and leaf) of five avocado varieties: Duke 7, Mexícola, Verde Liso, Puebla and Nacional, which were subjected to five culture media for induction of embryogenic callus, this was done under culture room conditions with an average temperature of 25 ° C and relative humidity of 80%. DCA was applied in a factorial arrangement 2 x 5x 5 with four points.

Five variables were evaluated: percentage of oxidation, percentage of callus formation, number of embryogenic, callus color and consistency of callus. The rate of oxidation occurred at the fourth week of induction. Lower percentages were obtained from nucellar explants oxidation Mexícola variety grown in the culture medium 2 (MS, Picloram 0.1 mg / l, Thiamin 0.4 mg / l, Myo-Inositol 100 mg / l, activated carbon 0.1%, sucrose 30 g / l, Agar 8 g / l) also found that leaf explants Mexícola varieties and Duke 7 grown in the culture medium 4 (MS 75%, BAP 2 mg / l, IBA 0.5 mg / l, sucrose 30 g / l and agar 8 g / l) generated low oxidation rates.

The evaluation for the variable percentage of callus formation was recorded as best varieties for the proliferation of callus Mexícola, Puebla and Duke 7, the first two with nucellar tissue in the culture medium 2 and the third in the leaf tissue 4 medium.

Embryogenic cultures were established in the five varieties. But as in the above variables were identified as best as many varieties to form embryogenic mass and Puebla, Mexícola nucellar tissue in the culture medium 2 and Duke 7 with leaf tissue grown in the culture medium 4.

For the variable color of the callus, it was determined that the color of the callus embryogenic nucellar with good characteristics was greenish yellow, the same that was in decline since the fifth week of induction yellow and brown, indicating that the transfer of these calli new culture media should be performed every four weeks. The color of the leaf callus was mostly white and cream, they almost did not change until the end of the assessment, showing a prolonged callus proliferation at the time.

Finally, the consistency of corns, calluses was fragile from nucellus, showing large numbers proembryogenics mass. Leaf tissue was obtained in a generally compact callus formation. This served to determine how they should perform the following subcultures, whether in solid or in liquid media.