GERMINACIÓN IN VITRO DE SEMILLAS INMADURAS DE MIROBOLÁN (*Prunus cerasifera* Ehrh.)

A. Arbeloa
E. García
Mª Elena Daorden
P. Andreu
J.A. Marín.
Pomología.
Estación Experimental de Aula Dei
Apartado 202, 50080 Zaragoza.
e-mail: arbeloa@eead.csic.es

Introducción

El cultivo in vitro de embriones como técnica de apoyo a la mejora genética de especies frutales se ha mostrado muy eficaz en determinados casos en que las semillas producidas en cruzamientos dirigidos no son viables (Ramming, 1990). Por otra parte, el cultivo de embriones permite la obtención de planta in vitro en el mismo año, lo que puede suponer una aceleración de los procesos de mejora, permitiendo la multiplicación rápida de las nuevas plantas obtenidas.

Dentro del grupo de los ciruelos, los mirobolanes presentan unas buenas características como patrones por su rusticidad, buena compatibilidad de injerto con muchas variedades de ciruelo europeo o japonés, buena producción y por la facilidad de propagación vegetativa de muchos de sus clones (Felipe, 1989). Esto ha hecho que sean muy utilizados y que hayan sido seleccionados varios clones por su especial buen comportamiento. Dada su relativa facilidad de hibridación con otras especies, están siendo utilizados para obtener híbridos interespecíficos que permitan ampliar el rango de utilización de la especie (Felipe, 1989).

En este trabajo se exponen los resultados preliminares de la puesta a punto de la técnica de cultivo de embriones inmaduros de mirobolán, presentando los resultados de la germinación in vitro de semillas inmaduras.

Material y métodos

En la primavera de 1998 se recogieron semillas de mirobolán procedentes de una polinización libre de árboles de la colección de la Estación Experimental de Aula Dei, recogidas en un estado anterior a la maduración, 15 semanas después de plena floración. Tras el aislamiento aséptico de los embriones en la cabina de flujo laminar, fueron colocados en tubos de ensayo con medio MS modificado, sin

reguladores de crecimiento, pero con tiamina (1.19 µM) y sacarosa (87.6 mM), y solidificado con Difco Bacto agar (0.7 %). Los embriones fueron preparados en tres formas: con los cotiledones enteros (C), con los cotiledones cortados por la mitad (C/2) y sin cotiledones (E) (16 semillas de cada tipo), sin dañar en ningún caso el eje embrionario, para estudiar el posible efecto de los cotiledones en la germinación de las semillas. Tras un periodo de almacenamiento en frío (4°C) en oscuridad de 30-45 días, se trasladaron a una cámara de cultivo a 22 °C, con un fotoperiodo de 16 horas de luz proporcionada por tubos fluorescentes (cool white) a una intensidad luminosa de 35 µmol m^{-2} s^{-1}. Las plantas en crecimiento fueron subcultivadas pasándolas al mismo medio de cultivo, con ácido indolbutílico (0.5 µM) y benzilaminopurina (5µM) como reguladores de crecimiento, pero eliminando los cotiledones y las raíces. Tras un periodo de cultivo de 6 meses se evaluó el crecimiento de las nuevas plantas.

Resultados y Discusión

La germinación no sucedió de forma sincronizada ya que, en un mismo tiempo, se podían observar distintos grados de desarrollo y crecimiento. Esto aconsejó ampliar el periodo de almacenamiento en frío en aquellas semillas que no mostraban crecimiento del epicótilo. La aparición de contaminaciones fue prácticamente nula, solo 3 semillas presentaron contaminaciones a lo largo del proceso. De los cultivos pasados a la cámara de cultivo, un determinado número de ellas crecieron formando una roseta de hojas sin elongación del eje caulinar, lo que se relacionó con los síntomas producidos por la falta de frío, que se proporcionó hasta su crecimiento normal. Sin embargo, muchas de ellas desarrollaron un tallo con nudos normales que crecieron satisfactoriamente y que fueron subcultivados sucesivamente para su multiplicación y posterior enraizamiento y aclimatación a tierra. La siguiente tabla muestra los porcentajes de germinación y desarrollo de la planta a los seis meses de crecimiento:

Tipo de explanto	% germinación
C (cotiledones enteros)	81
C/2 (cotiledones cortados)	69
E (sin cotiledones)	75

De los diferentes tipos de explanto utilizados es preferible la utilización del embrión completo (con los cotiledones enteros) ya que, además de tener el porcentaje más alto, también requiere menos manipulación de la semilla. Los elevados porcentajes de crecimiento y desarrollo de nuevas plantas indica la eficacia de la técnica empleada para el cultivo in vitro de semillas inmaduras, y su

posible utilización con semillas procedentes de cruzamientos interespecíficos dirigidos. Esto tendrá ventajas indudables al poder obtener plantas de cruzamientos poco compatibles y en un corto espacio de tiempo.

Felipe, A.J. 1989. Patrones para frutales de pepita y hueso. Ediciones Técnicas Europeas. Barcelona. 181 páginas.

Ramming, D.W. 1990. The use of embryo culture in fruit breeding. HortScience 25: 393-398.