

RESUMEN

El alcornoque es un árbol de la familia de las fagaceas del género *Quercus*, en el cual pertenecen varias especies entre ellas *Q. suber*, es una especie que se la considera recalcitrante tanto por la conservación de sus semillas como su capacidad morfogénica. Debido a su valor económico y ecológico se la considera de gran interés en el ámbito forestal, a causa de la difícil propagación vegetativa por medios convencionales se desarrollan metodologías in vitro para obtener un mayor número de ejemplares de esta especie y así evitar su extinción en esta zona.

El objetivo de esta investigación es desarrollar un protocolo para la obtención de plantas de alcornoque mediante la regeneración in vitro por segmentos nodales. Para desarrollar una metodología de propagación in vitro se tomaron estacas provenientes de plantas adultas de alcornoque de la avenida Las Américas a la altura del rectorado de la U.A.J.M.S. de la ciudad de Tarija. Para el establecimiento in vitro los explantes fueron sometidos a dos tipos de desinfección, en el cual se avaluó y se comparó los porcentajes de contaminación, se considera apto para la especie alcornoque el (P2) protocolo estándar del laboratorio (protocolo de desinfección para la papa). La contaminación se redujo considerablemente con la adición de ácido cítrico a una concentración de 75mg/L.

En cuanto al medio de cultivo se evaluaron dos medios el Murashing y Skog (MS) y Woody Plant Medium (WPM), a pesar de los bajos porcentajes de regeneración de los explantes el más óptimo fue el medio MS para todos los ensayos, obteniendo un porcentaje de 22,22% de regeneración.

Al adicionar las hormonas BAP a 0,5mg/L y la 2ip a 2mg/L no se logró la regeneración, en lo cual el principal problema de esta investigación fue la necrosis y fenolización en todos los ensayos.

INTRODUCCIÓN

El cultivo *in vitro* de tejido vegetal también permite la propagación de árboles y para especies de mayor demanda mundial ahora proporciona una ventaja económica importante a la industria forestal. En la silvicultura maderable, la aplicación de técnicas de micropropagación ha constituido una alternativa muy útil al aumentar el número de plantas producidas para el establecimiento de plantaciones. (ITTO, 2001).

La embriogénesis somática y la organogénesis son dos procesos morfogénicos muy frecuentes en el cultivo *in vitro* de especies vegetales. La embriogénesis somática es el proceso por el cual se obtiene una estructura similar a un embrión cigótico sin que medie la fertilización de las gametas, mientras que por organogénesis pueden obtenerse tallos, raíces o flores. Estos órganos son inducidos a partir de una célula o de un grupo de células que, según las condiciones de cultivo, tienen la propiedad de mantenerse en activa división. Esta totipotencialidad celular fue enunciada por Haberlandt en 1902, quien propuso la teoría de que todas las células vegetales tienen la capacidad de regenerar plantas completas. Haberlandt no llegó a demostrar su hipótesis debido a que no pudo lograr la división celular. Los medios de cultivo que empleaba no incluían reguladores del crecimiento debido a que esos compuestos eran aún desconocidos. Los avances en el cultivo de tejidos vegetales fueron muy lentos en sus inicios. En 1934, White pudo mantener, en forma ilimitada, el crecimiento de raíces en medios líquidos a partir de ápices de tomate. Al mismo tiempo se identificó el ácido indol acético (AIA), que posibilitó el mantenimiento indefinido de callos de zanahoria y tabaco *in vitro*. Posteriormente se descubrió el efecto de la leche de coco como estimulante de la formación de callo sobre el cultivo de embriones de *Datura stramonium*. En 1948 Skoog y Tsui, trabajando con cultivos de callo de tabaco, demostraron la existencia de una regulación química en la parte aérea y en la raíz. Trabajos posteriores en callos de la misma especie, con el agregado de cinetina, la primera citocinina descubierta, permitieron demostrar que la diferenciación de brotes, raíces o de ambos, era regulada por el balance de auxinas/citocininas. (ArgenBio. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II).

La micropropagación permite reducir los largos periodos de maduración de plantas, la baja viabilidad de semillas y la dificultad que presentan algunos individuos de propagarse por métodos tradicionales. Con esta técnica se pueden utilizar varias vías para la obtención de

plántulas, entre ellas el cultivo de meristemos, embriogénesis somática, aislamiento de protoplastos, entre otras.

HIPÓTESIS DEL TRABAJO

Es posible obtener plantas de alcornoque por cultivo in vitro, a través de meristemos nodales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un protocolo para la obtención de plantas de alcornoque (*Quercus suber L.*), mediante la regeneración in vitro de segmentos nodales en la primera fase de establecimiento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Establecer la producción de yemas mediante la inducción de la brotación de las estacas
- ❖ Determinar el medio óptimo para el establecimiento in vitro en la fase de iniciación, mediante la evaluación de dos medios de cultivo.
- ❖ Seleccionar un método de desinfección óptimo para brotes, mediante la evaluación de protocolos con la finalidad de establecer explantes libres de microorganismos in vitro.