



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

Gestión del monte: servicios ambientales y bioeconomía

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura



PROPAGACIÓN DE CASTAÑO A GRAN ESCALA USANDO MICROPROPAGACIÓN FOTOAUTOTRÓFICA

Beatriz Cuenca Valera

uquero Ramos, L.², Ocaña Bueno, L.² y Vidal González, N.³

¹ TRAGSA. Vivero de Maceda. bcuenca@tragsa.es

² TRAGSA. Subdirección de Soporte Técnico e Innovación

⁵ Dpto. Fisiología Vegetal. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (CSIC)



Plasencia, 30 de junio de 2017





ANTECEDENTES

- Propagación vegetativa de los MFR de castaño tolerantes a la tinta
- Micropropagación tradicional cara y poco eficiente
- Recientes protocolos de cultivo usando sistemas de inmersión temporal (Cuenca et al., 2015)
- Propagación fotoautotrófica (PAM): eliminación del azúcar exógeno para promover la actividad fotosintética y conseguir una mejor aclimatación.



Micropropagación clásica



Inmersión líquida transitoria (TIS)



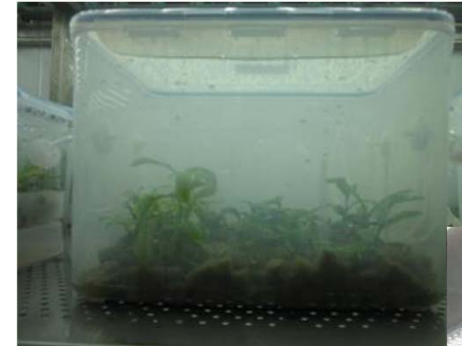
Cultivo fotoautotrófico (PAM)

OBJETIVO

Propagar clones de castaño resistentes a la tinta bajo condiciones fotoautotróficas (cultivo PAM) tanto en la etapa de multiplicación como en el etapa de enraizamiento.

FASE DE PROLIFERACIÓN: metodología

- Brotes en inmersión continua en biorreactores 10 l con 1 l MS 1/2N, con 0,05 mg/l BA y soporte de cubos de lana de roca.
- Conexión prototipo PAM (Cuenca et al., 2015): LEDs blancos y fotoperiodo 16/8 h 25°/20°C



Condiciones fotomixotróficas	Condiciones fotoautotróficas (PAM)
niveles ambientales de CO ₂ (≈400 ppm)	niveles altos de CO ₂ (≈2000 ppm)
baja intensidad lumínica (PPF ≈ 50 μmol/m.s)	alta intensidad lumínica (PPF ≈ 150 μmol/m.s)

- Ensayo de 4 genotipos (C042, C053, P042 y P043) evaluando:

- Tipo de explanto
- Tamaño del explanto
- Concentración de sacarosa
- Intensidad de luz
- Niveles de CO₂

- La evaluación se hizo cuantificando:

- Nº brotes /explanto (NB)
- Coeficiente de multiplicación (CM)
- Longitud del brote más largo (LB)
- Nº de brotes enraizables/explanto (BE)
- Niveles de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, y b y carotenoides)

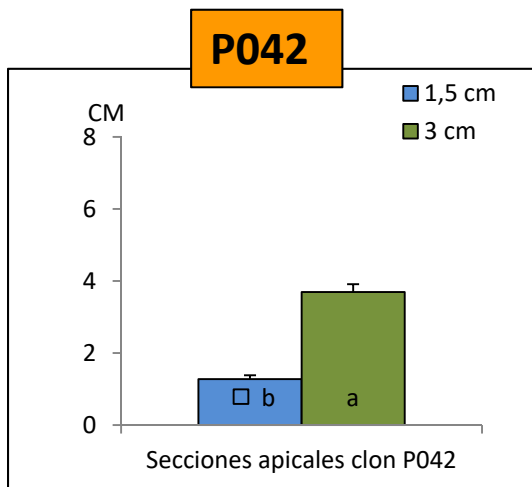


Secciones
apicales y/o
medias

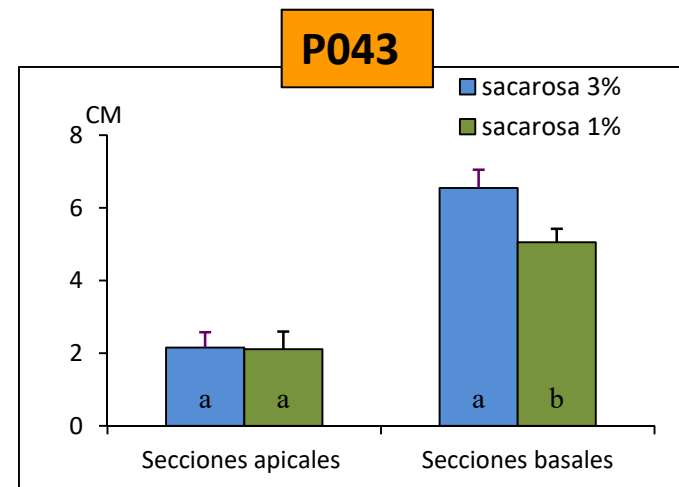
Callos
basales

FASE DE PROLIFERACIÓN: resultados I

- Tamaño de explantos:

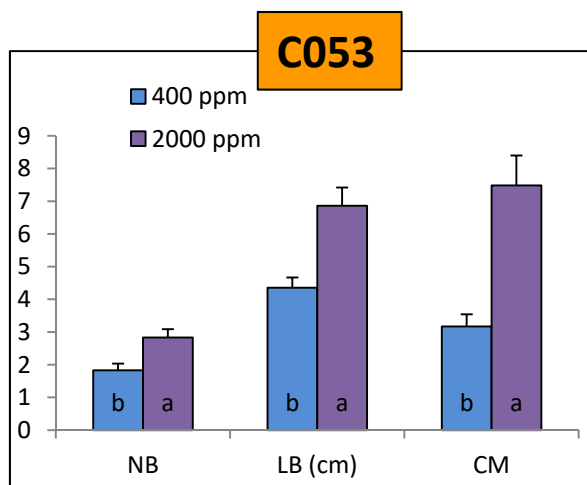


- Tipo de explantos y concentración de sacarosa:

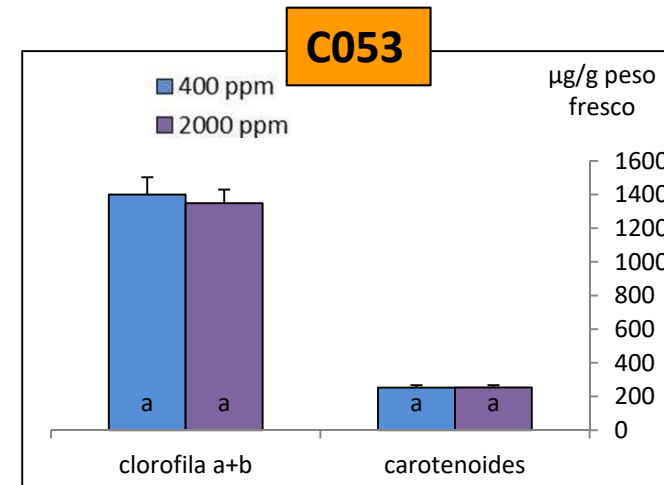


En condiciones fotomixotróficas, explantos apicales más grandes proliferan mejor, pero aún mejor lo hacen los callos basales, especialmente en sacarosa 3%.

- Concentración de CO₂:

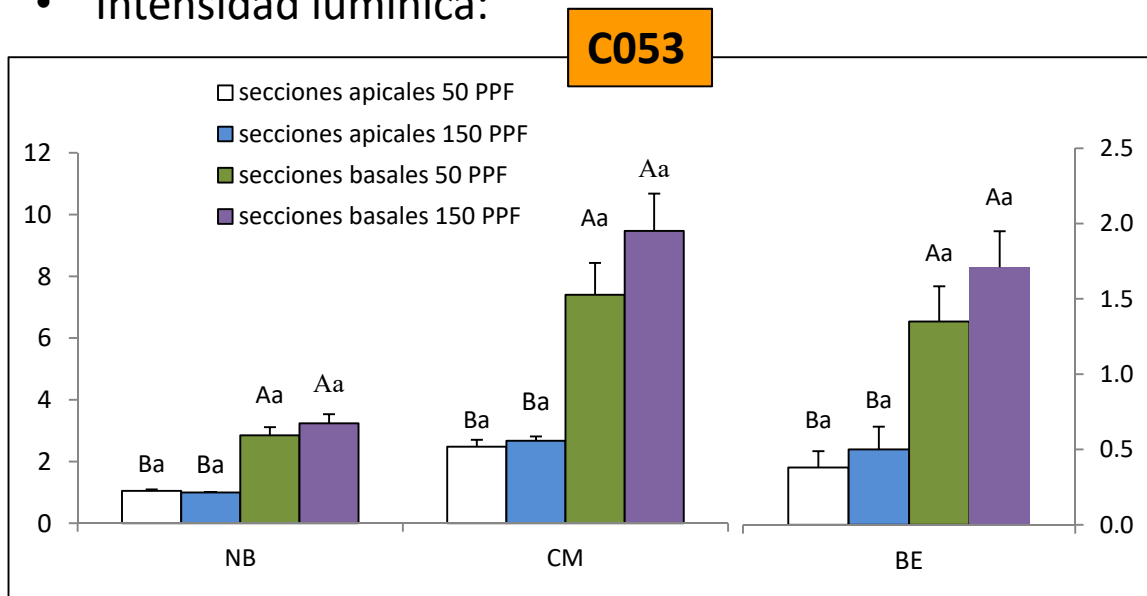


En condiciones fotoautotróficas, una concentración de CO₂ más alta produce más brotes y más largos, pero no afecta a los pigmentos fotosintéticos.



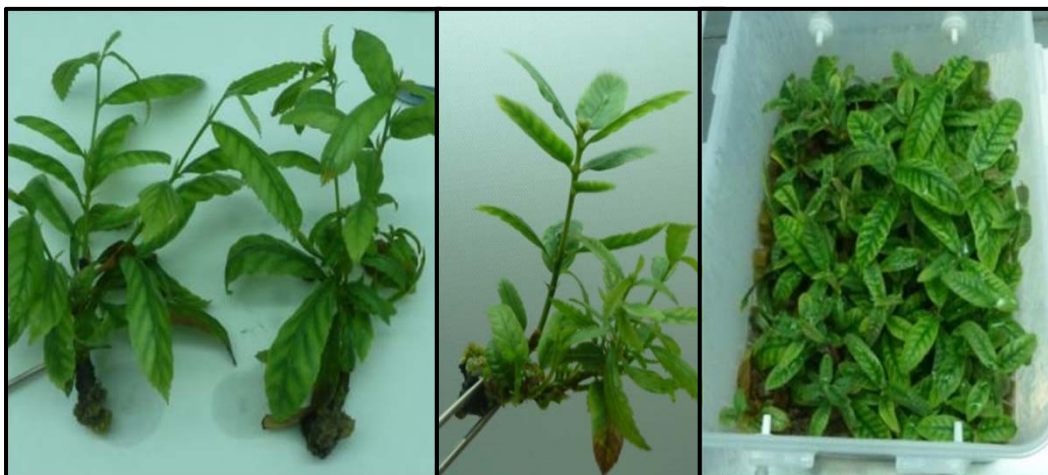
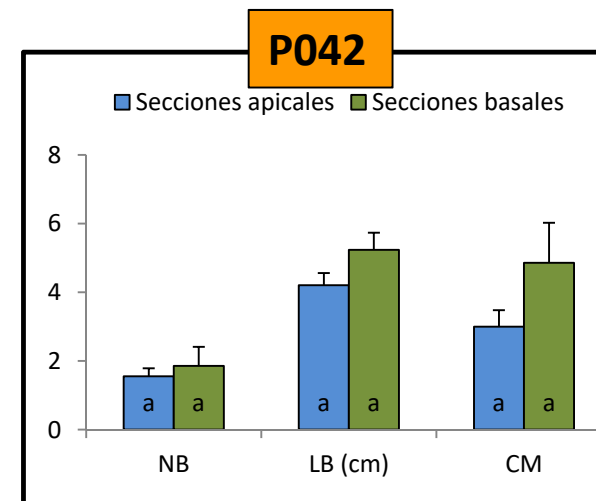
FASE DE PROLIFERACIÓN: resultados II

- Intensidad lumínica:



Los callos basales crecen mejor con mayor intensidad luminosa pero sin efecto significativo.

El tipo de explanto, tuvo influencia significativa en todas las variables ($p < 0,001$)



P043

C053

C042

Los brotes de castaño proliferan en condiciones fotoautotróficas sin sacarosa. CM medios de 3 y 5 para secciones apicales y basales respectivamente

FASE DE ENRAIZAMIENTO: metodología



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL



- Brotes enraizables en biorreactores 16 l + 2,5l de 1/3 GD sin PGRs ni sacarosa, tras inmersión basal 1g/l AIB 2 min .

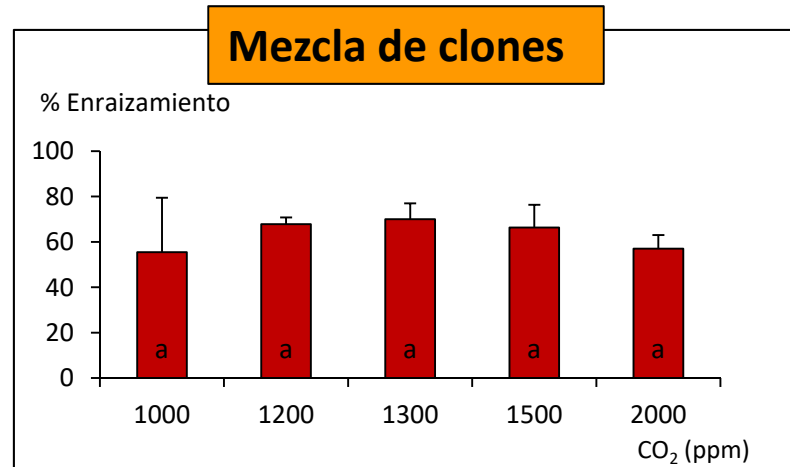


- Conexión al prototipo PAM (Cuenca et al., 2015): LEDs blancos y fotoperiodo 16/8 h 25°/20°C
- Ensayo con 15 genotipos en los que se evaluaron:
 - Forma y tamaño de los bloques de lana de roca empleados como sustrato (Kiemplugs y Blocks AO de Grodan®)
 - Niveles de CO₂ (400 a 2000 ppm)



FASE DE ENRAIZAMIENTO: resultados I

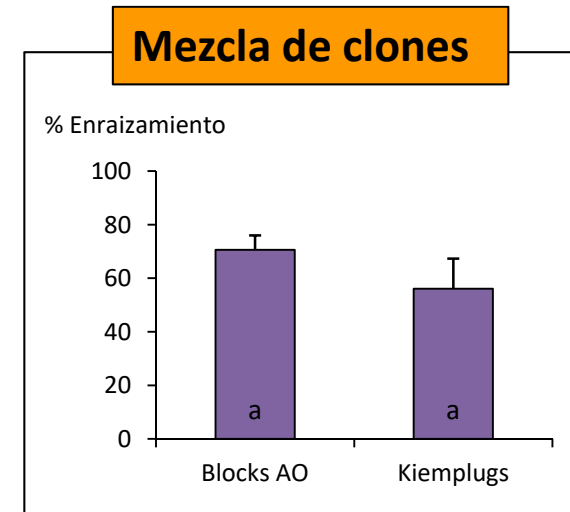
- Concentración de CO₂:



Los mejores porcentajes de enraizamiento sin sacarosa, se obtiene con CO₂ en las concentraciones entre 1200 y 1500 ppm.

- Forma y tamaño de los bloques de lana de roca:

Los explantos en Blocks enraizaron mejor que en Kiemplugs sin diferencias significativas. Los Blocks son más fáciles de manejar y más baratos



FASE DE ENRAIZAMIENTO: resultados II



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

- Aclimatación:



Los brotes enraizados en PAM sin sacarosa tienen una elevada tasa de supervivencia y de re-emprendimiento del crecimiento. El **valor medio de enraizamiento en Blocks y aclimatación posterior** de los 15 clones fue **del 52%**, oscilando entre el 28,3 y el 93,8% dependiendo de la composición clonal del lote a enraizar.

CONCLUSIONES

- Se ha conseguido por **primera vez** la proliferación y enraizamiento de **castaño en condiciones fotoautotróficas**
- Para la proliferación es necesario someter a los explantos a **niveles decrecientes de sacarosa** en subcultivos sucesivos para modificar su estado fisiológico y adaptarlos a sobrevivir sin carbohidratos añadidos
- Los mejores resultados en **proliferación** se obtuvieron en condiciones de **PPF 150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ y 2000 ppm de CO_2** empleando callos basales como explantos
- Los mejores resultados en **enraizamiento** se obtuvieron sin sacarosa sin necesidad de adaptación, empleando **Blocks AO** de Grodan® y con concentraciones de **CO_2 entre 1200 y 1500 ppm**.
- El enraizamiento PAM fue eficiente, consiguiendo buenos porcentajes en la aclimatación posterior, por lo que **el sistema PAM puede aplicarse de modo eficiente a la propagación a gran escala de castaño**.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido parcialmente financiado por el programa FEDER-INTERCONNECTA 2013/2014 del CDTI (EXP00064828/ITC-20133040).

Dra. Beatriz Cuenca Valera

bcuenca@tragsa.es

988 463600



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

Gestión del monte: servicios ambientales y bioeconomía



26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura



www.congresoforestal.es