

Un sistema de multiplicación totalmente eficaz a nivel comercial y apto para la propagación a gran escala de olivo adulto, asegurando garantía sanitaria y genética.

Cultivo *in vitro* y comportamiento en campo de olivo adulto

GARCÍA-FÉRRIZ, L.¹; GHORBEL, R.¹; YBARRA M.¹; MARÍ, A.¹; BELAJ, A.²; TRUJILLO, I.²

¹ Comercial Técnica y Viveros; ² Dpto de Agronomía. Universidad de Córdoba

El olivo ha sido propagado por medios convencionales (estaquillado), no siendo eficaces y con éxito limitado para algunas variedades. La mejora de técnicas como la propagación *in vitro* sería la más útil para estos cultivares.

Hasta la fecha, varias técnicas para la micropropagación del olivo han sido descritas (Rugini, 1986; 1990; Cañas y Benbandis, 1988). Sin embargo el carácter juvenil del material micropropagado o el bajo rendimiento de los métodos, ha impedido su uso comercial. Ahora divulgamos un procedimiento eficiente para propagación *in vitro* de material adulto de olivo.

Material inicial

Los brotes y ápices terminales fueron recogidos de árboles adultos cultivados en campo de las variedades Arbequina, Picual y Empeltre, injertadas sobre plantas de acebuche de dos años. La conformidad varietal de las plan-

tas seleccionadas fue autenticada previamente por marcadores (RAPD). Un año más tarde, los nuevos brotes (5-10 centímetros) fueron esterilizados en superficie y se utilizaron como material de partida para el cultivo *in vitro*.

En el experimento fueron utilizados explantes uninodales. Para establecer el cultivo *in vitro*. Éstos fueron cultivados en el medio de Rugini a la mitad de concentración (ROM), (Rugini, 1984) suplementado con un miligramo BAP. Después de las tres semanas de cultivo, las yemas brotadas fueron transferidas al medio de multiplicación.

Para inducir la multiplicación, dos medios básicos fueron comparados: medio modificado del MS (Murashige y Skoog, 1962) (micro y elementos macro del J) y medio para olivo de Rugini (ROM). Ambos medios fueron suplementados con tres concentraciones de BAP (1, 2.5, y 5 μ M) solamente o combinados con 1 μ M de Thidiazuron (TDZ).

Los medios fueron solidificados agregando agar (0.8% w/v) y el pH fue ajustado en 5.8. Los explantes permanecieron bajo iluminación por 16 horas diarias (Gro-lux, 80 mmol m⁻² sec⁻¹) a una temperatura de 25 \pm 2°C. Se compararon períodos de multiplicación de 14 y 28 días. El DNA de las plantas propagadas *in vitro* y plantas adultas de campo (cedidas por el Banco de Germoplasma de Córdoba) de Arbequina, Picual y Empeltre fue comparado genéticamente mediante técnica RAPD.

Para la extracción se utilizó el método de Murray y Thompson

Hasta la fecha, varias técnicas para la micropropagación del olivo han sido descritas; sin embargo, el carácter juvenil del material micropropagado o el bajo rendimiento de los métodos, ha impedido su uso comercial

Iberflora
Nivel 2 - Pabellón 4
Stand C 30

- Planta tropical
- Planta aromática
- Planta para maceta

GERMINOVA



Exclusiva
Royal Dahlietta



Suministro de plántulas y semillas de plantas ornamentales

Volta dels Garrofers, 44 - Pol. Ind, Els Garrofers - Vilassar de Mar
08340 (Barcelona) - Tel.: 937 506 434 - Fax: 937 540 008



con modificaciones. En la reacción de PCR se utilizaron 8 oligonucleótidos de los kits A, K, X y Z (tecnologías de Operon, Alameda, Calif.). La amplificación tuvo lugar según lo descrito por Belaj y col. (2000). El DNA se corrió en gel de poliacrilamida y se tiñó según lo descrito por Bassam y col. (1991).

Resultados

Establecimiento in vitro del cultivo: La brotación de los explantes nodales en el medio del OS alcanzó cerca del 80% para las tres variedades probadas. Después de tres semanas de iniciada

la brotación las plántulas alcanzaron una longitud media de 15mm.

Tasa de proliferación: Las yemas brotadas se repicaron a los medios de la multiplicación para inducir crecimiento axilar del bro-

te. Catorce días de periodo de multiplicación fueron escasos para inducir la proliferación de los brotes. Tras cuatro semanas en medios de la multiplicación, se contabilizaron las tasas para los distintos medios.

Los mejores resultados se obtuvieron usando el medio ROM. Todas las concentraciones de BAP ofrecieron mejores resultados combinadas con TDZ. Sin embargo, 5 μM de BAP resultó excesivo, produciendo vitrificación seguida por la muerte de la planta. El número más alto de brotaciones axilares fueron obtenidos cuando los explantes fueron cultivados en el medio que contenía el 1 μM BAP combinado con el 1 μM TDZ. En este medio, la tasa de multiplicación para las tres variedades fluctuó entre 2.5 y 2.8.

Desarrollo de las plantas:

Para permitir el alargamiento de los brotes, los explantes fueron repicados al medio del alargamiento (EM), compuesto por las sales y vitaminas de MS modificado sin reguladores del crecimiento y con sucrosa del 3%. Las plantas en este medio fueron cultivadas 28 días.

Cuando los brotes alcanzaron 45 mm de longitud fueron colocados durante 5 días en una solución no estéril con sacarosa al 2%, 15 μM de AIB y 10 μM de AIA. Posteriormente se lavaron en una solución de benomilo 1g/l. Y se repicaron a una mezcla de turba y fibra de coco (50:50) manteniendo una humedad relativa del 100%. En el plazo de 25-35 días, el 75% de las plantas producen raíces. La

■ **Para el experimento que se describe, los brotes y ápices terminales fueron recogidos de árboles seleccionados adultos cultivados en campo de las variedades Arbequina, Picual y Empeltre, injertadas sobre plantas de acebuche de dos años**

Reguladores de alta presión

Especialmente indicados para aguantar altas presiones. Regulación constante y fiable. Diseñados especialmente para uso en instalaciones de riego agrícola y de jardinería, tanto de goteo como aspersión.

Compatibles con las marcas más reconocidas de boquillas y aspersores agrícolas.

Pídale por su nombre a su proveedor habitual.



Senninger

Con la garantía y seriedad de:

Copersa

Departamento de Correos, 140. 08340 - Vilassar de Mar (Barcelona). Tel: 902 10 33 55 * Fax: 937 59 50 08 * E-mail: riegos@copersa.com * Web: www.copersa.com

aclimatación se prolongó durante 55 días sin problemas de patologías.

Conformidad varietal: Las plantas enraizadas demostraron un desarrollo normal y fueron analizadas (PCR-RAPD) un mes después de la aclimatación. Las plantas cultivadas *in vitro* dieron el mismo patrón de bandas tras la amplificación que el obtenido de las plantas del banco de germoplasma de Córdoba. Fueron identificados por el uso de 4 OPAs (OPA-01; OPA-19; OPK16; OPX-01).

Producción en campo: Tres años después, las plantas procedentes de micropropagación han producido normalmente, tanto las variedades mencionadas como otros cultivares multiplicados mediante el mismo sistema (Frantoio, Hojiblanca, Manzanilla y Alfafarencia).

Hoy, más de 350.000 plantas han sido llevadas a campo, no mostrándose ningún problema de conformidad. De estas plantas aproximadamente un 15% han entrado

■ **Este sistema, al igual que el estaquillado semiherbáceo, favorece la pronta entrada en producción, pero con la ventaja añadida sobre el estaquillado estandar de una total garantía sanitaria y homogeneidad genética**

ya en producción. Así se ha conseguido poner a punto un sistema de multiplicación eficaz de manera comercial y apto para propagación a gran escala de olivo adulto, asegurando garantía sanitaria y genética de la planta producida.

Discusión y conclusiones

La concentración moderada de BAP combinado con TDZ dio las tasas más altas de brotaciones axilares y evitó síntomas de vitrificación en los 3 cultivares de olivo, mejorando las técnicas de micropropagación de olivo propuestas hasta la fecha. La fuerte res-

puesta del olivo a TDZ está en el acuerdo con los resultados descritos por Mencuccini y Rugini (1993). En otros trabajos la zeatina se muestra como la citoquinina más eficaz (Rugini, 1986) mientras que en el resto de trabajos el material tenía carácter juvenil o las técnicas eran poco eficientes

El procedimiento descrito en este trabajo permitió la micropropagación de olivos adultos con una eficiencia suficiente como para aplicar su uso a nivel comercial. Este sistema, como el estaquillado semiherbáceo, favorece la pronta entrada en producción, pero con la ventaja añadida sobre el estaquillado estandar de una total garantía sanitaria y homogeneidad genética (multiplicación clonal).

Para saber más...

Para consultar bibliografía de este artículo: www.horticom.com?55088
cotevisa@servitel.es

COMERCIAL TÉCNICA Y VIVEROS, S.L.
OLIVO PROPAGADO "IN VITRO"

- Plante en cualquier época del año
- Total garantía sanitaria
- Planta clonada "In Vitro"

Variedades:

Alfafarencia	Hojiblanca
Arbequina	Manzanilla
Cornicabra	Picual
Empeltre	Serrana
Frantoio	

Arbequina In Vitro

Ctra. Nacional 340, Km. 873,5 • 46250 l'Alcudia • Tel.: 962 541 911 • Fax: 962 556 675
 Móvil: 610 251 789 • E-mail: comercial@cotevisa.com