

Área de Beca: CA - Cs. Agropecuarias

Título del Trabajo: EVALUACIÓN DEL ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE CLONES DE GREVILLEA ROBUSTA.

Autores: BOGADO, FACUNDO A. - SANSBERRO, PEDRO A. - LUNA, CLAUDIA V.

E-mail de Contacto: claudiaverluna@gmail.com

Teléfono: 3794-632597

Tipo de Beca: UNNE Pregrado

Resolución N°: 1012 / 12

Período: 2012-2013 -

Proyecto Acreditado: Proyecto: A005-11 aprobado por Resol. Res. N° 852/11 (C.S. UNNE). Título: "Generación de tecnologías alternativas para la promoción y el desarrollo forestal regional". Entidad financiadora: SGCyT (UNNE). Director: Dra. Claudia Luna. Codirector: Dr. Pedro Sansberro. Integrantes: E Duarte, R Acevedo. Periodo: 2012-2015.

Lugar de Trabajo: Facultad de Cs. Agrarias

Palabras Claves: desinfección, fungicidas, sobrevivencia.

Resumen:

La recolección de semillas de *Grevillea robusta*. A. Cunn. es extremadamente difícil, porque son expulsadas antes de su maduración y a su vez, ésta generalmente es irregular. Las semillas no presentan latencia, pero pierden su viabilidad rápidamente, por ello las técnicas biotecnológicas pueden jugar un rol importante, para el suministro adecuado de vitroplantas como material de plantación. Sin embargo, para el establecimiento exitoso de una especie, se hace necesario prevenir y controlar la contaminación microbiana, ya que constituye uno de los problemas más graves en la micropropagación de especies leñosas. El objetivo de este trabajo es generar información acerca del control de la contaminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de diferentes clones de *G. robusta*.

Se utilizó como material vegetal los siguientes clones: P1-C7- C23 (origen Bella Vista).

El tratamiento de desinfección del material vegetal fue un cepillado fuerte y firme con solución acuosa de NaOCl al 5%; para luego tratar a los segmentos nodales con el fungicida Carbendazim (CBZ) en una concentración de 1,5 gr.L⁻¹; por un tiempo de exposición de 30 minutos en agitación continua; posteriormente se los sometió a un enjuague con Etanol 70% por 1 minuto; para luego exponerlos a solución acuosa de NaOCl 25% + Tween 2 gotas durante 20 minutos; y finalmente se los enjuagó con agua estéril. Los explantes fueron cultivados individualmente en tubos de vidrio conteniendo 10 ml de medio nutritivo de Murashige y Skoog (1962) en su concentración original; y adicionado con 0,5 mg.L⁻¹ de 6-benzylaminopurina (BA) y sacarosa 3%. El pH de la solución fue ajustado a 5.8 antes de la adición del agente gelificante (agar SIGMA® A-1296, 0.70%). Los medios de cultivo fueron esterilizados mediante exposición en autoclave (1.45 kg.cm⁻²) durante 20 minutos.

Los tubos conteniendo un explante fueron obturados con Resinite e incubados durante 20 días en condiciones de luz (fotoperiodo 14 hs., 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ luz PAR) y temperatura (27±2°C) controlados. Se cultivaron 10 explantes por tratamiento en cámara de flujo laminar, efectuándose 3 repeticiones.

Los parámetros evaluados fueron: % de explantes establecidos, % de infectados, % de explantes con ennegrecimiento tisular y % de mortandad/supervivencia.

Si bien en todos los clones ensayados los resultados obtenidos en los parámetros evaluados fueron aceptables, el Clon C-7 fue el que se ha destacado, con un 9,38±0,57% de infección, sin ennegrecimiento tisular evidente; un 96,93 ±0,57% de establecimiento y aproximadamente un 100% de supervivencia; por ello este clon es el que presenta mejor comportamiento para ser establecido en condiciones *in vitro*.

Si bien son necesarios mayores estudios, de forma preliminar se ha encontrado un tratamiento de desinfección lo suficientemente eficaz como para continuar con las siguientes etapas que requiere un protocolo de propagación de una especie leñosa.

Becario
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Director de Beca
(Firma y Aclaración)

Director de Proyecto
(Firma y Aclaración)

Control: