ISBN 970-27-1045-6

¿PUEDE SER UTILIZADO UN PROCESO DE CLONACIÓN *IN VITRO* PARA MEJORAMIENTO GENÉTICO Y PROPAGACIÓN MASIVA? AVANCES ALCANZADOS PARA EL GENERO *PINUS*

Carlos Ramírez Serrano, Leticia Aguilera Robledo y Jesús Aguirre Gutiérrez.

Laboratorio de Biotecnología, CUCBA, Universidad de Guadalajara. Km 15.5 Carretera a Nogales, Las Agujas, Nextipac, Zapopan Jal. 45101, México. cramirez@cucba.udg.mx

Algunos avances y ajustes se han llevados a cabo en procesos de regeneración *in vitro* con el objetivo de que tenga amplia competencia, es decir que se pueda aplicar al género *Pinus,* aún así más innovaciones deben ser realizadas para aplicar el proceso completo.

Ya se obtuvo la inducción e iniciación de tejido embriogénico en diferentes porcentajes a partir de embriones cigóticos inmaduros de especies pertenecientes al subgénero Haploxilon y Diploxilon utilizando diferentes reguladores de crecimiento, incluyendo ácido absícico (ABA); el establecimiento de la proliferación puede ser alcanzado en el 100% de los genotipos al cultivarlos en diferentes medios (también se pueden aplicar cultivos en suspensión durante un año), esta metodología requiere de una sencilla actividad adicional que consiste en el intercambio de masas embriogénicas entre los medios utilizados, lo cual permite cumplir con todos los requerimientos genéticos en ambos subgéneros (1). En esta etapa se puede aplicar un método de conservación diferente a la criogenia que consiste en el almacenamiento a 4ϒ C de embriones somáticos inmaduros que mantiene la capacidad embriogénica (2). Ambos métodos, los cultivos en suspensión y la preservación a 4ϒ C fueron aplicados exitosamente a especies filogenéticamente distantes (*P. maximartinezii* y *P. sylvestris*). Este método puede aplicarse para procesos de transformación genética vía biobalística en *P. sylvestris* ya que pueden ser regenerados 50 embriones somáticos maduros por gramo de tejido embriogénico (peso fresco). No obstante, los procesos de maduración muestran ser diferentes dependiendo del subgénero que se trate, en la especie que pertenece al subgénero Diploxilon (*P. sylvestris*), una baja relación amonio-nitrato (10/90), incluyendo maltosa y carbón activado en el medio de cultivo son los requerimientos indispensables para inducir el desarrollo de embriones somáticos, posteriormente se logra el desarrollo completo añadiendo ABA sin CA, en la cual están incluidos genotipos que son considerados productores de embriones aberrantes (3). Estos resultados demuestran que esos genotipos tienen dificultades fisiológicas en lugar de problemas genéticos. La aplicación de esta metodología en *P. maximartinezii*, el cual pertenece al subgénero Haploxilon, parece ser inadecuada porque los embriones somáticos son estimulados para proliferar. En los embriones cigóticos se logra la inducción e iniciación de tejido embriogénico. En lo que concierne a las siguientes etapas en *P. sylvestris*, se obtuvo la germinación normal, buen enraizamiento y desarrollo de las plantas de la mayoría de los genotipos evaluados (mas del 80%) pertenecientes a mas del 95% de

los árboles madre seleccionados, dicho porcentaje también fue alcanzado en la adaptación de plántulas, las que desarrollaron raíces largas y brotes de crecimiento después de ser transferidas a las cámaras de desarrollo. Estas innovaciones realizadas al protocolo de regeneración aplicado a *P. sylvestris* pueden ser usadas para su mejoramiento genético por medio de las bases descritas anteriormente, así mismo la propagación masiva ya no es un reto debido a que pueden producirse de 5 a 1500 embriones somáticos maduros por gramo de tejido embriogénico (peso fresco).

Referencias

(1) Ramírez-Serrano, C.; González-Álvarez, V. y Pelayo-Ortiz, C. 2003. Método para obtener y establecer tejido embriogénico de múltiples genotipos de pino (Genero *Pinus*). Solicitud Internacional PCT/MX03/00018. OMPI. Febrero 2003. Presentada en MX, CA y NZ.

(2) Ramírez Serrano, C. 2001. Procedimiento de producción de embriones somático de pinos (Genero *Pinus*). Method for producing somatic embryos of pine trees (Genus *Pinus*). Solicitud Internacional PCT/MX01/00003. OMPI. Febrero 2001. Presentada en MX, NZ, US.

(3) Ramírez-Serrano, C. 2001. Procedimiento para producción de embriones somáticos de pino silvestre (*P. sylvestris*). Method for producing somatic embryos of Scots pine (*P. sylvestris*). Solicitud Internacional PCT/MX01/00013. OMPI. Febrero 2001. Presentada en MX, NZ, US, UE, CA.