

A new regeneration method for avocado somatic embryos

*Carlos López Encina¹, Ann Parisi², Chris O'Brien² and Neena Mitter³.

1. Institute of Horticulture Subtropical and Mediterranean La Mayora (IHSM) CSIC Experimental Station La Mayora, 29750, Algarrobo-Costa, Malaga Spain.
2. Queensland Agricultural Biotechnology Centre, Department of Employment, Economic Development and Innovation, St. Lucia, Qld 4067, Australia.
3. Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, the University of Queensland, St. Lucia, Qld 4067, Australia.

Abstract

Avocado (*Persea americana*) is an economically important fruit species cultivated in tropical and subtropical areas worldwide. Avocado breeding is focused on the development of elite cultivars with agronomically desirable traits. Biotechnology and plant genetic engineering to enhance cultivar development is restricted by the availability of an efficient protocol for *in vitro* regeneration of avocado. *In vitro* regeneration via embryogenesis is genotype dependent and takes place at very low frequencies (approx 5% or less). In addition, the regenerants can be of low quality and display abnormal characteristics, which limits survival and development of the shoots.

We used a novel two step approach for somatic embryo regeneration. The first step involved the transfer of somatic embryos to liquid medium supplemented with glutamine to improve the uptake of nutrients and assist in leaching of the excess hormones. The second step involved a transfer to solid media supplemented with aminoacids and organic addenda (glutamine, proline and tryptone) to increase the availability and level of reserves. The results show that somatic embryo incubation in liquid medium supplemented with glutamine, followed by the subculture of the regenerants on the same media gelled with agar can increase the rate of regeneration on cv. Reed from 5% to 58% giving a plant recovery rate of approx 35-40%. Experimentation including modifications to the basal formulation of the medium and pretreatment of the somatic embryos prior to maturation and germination are in progress in order to further improve the efficiency of regeneration process of avocado plants via somatic embryogenesis.

NUEVO MÉTODO PARA LA REGENERACIÓN DE EMBRIONES SOMÁTICOS DE AGUACATE

*Carlos López Encina¹, Ann Parisi², Chris O'Brien² and Neena Mitter³.

Resumen

El aguacate (*Persea americana*) es un frutal de gran importancia económica cultivado en todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Su mejora está orientada al desarrollo de cultivares con caracteres agronómicos de calidad deseados. El uso de la biotecnología y la ingeniería genética están aun limitados por la carencia de protocolos eficientes de regeneración *in vitro*. La regeneración *in vitro* mediante embriogénesis somática depende del genotipo y ocurre con muy baja frecuencia ($\leq 5\%$). Además, las plántulas regeneradas suelen ser de baja calidad y poseen características anormales que limitan la supervivencia y desarrollo de brotes. Para la regeneración de embriones somáticos (ES) de aguacate utilizamos un novedoso sistema que consta de dos etapas. La primera etapa implica el subcultivo de ES a un medio líquido con glutamina para mejorar la absorción de nutrientes y ayudar con la eliminación del exceso de fitohormonas. La segunda etapa consiste en subcultivarlos a un medio semisólido con aminoácidos y compuestos orgánicos (glutamina, prolina y triptona) para incrementar la disponibilidad y niveles de reserva. Los resultados muestran que la incubación de ES en medio líquido con glutamina, y su posterior subcultivo en el mismo medio gelificado con agar aumenta la tasa de regeneración en cv. Reed del 5- 58%, y su recuperación del 35-40%. Para mejorar la eficacia de la regeneración de ES de aguacate, se están realizando ensayos variando la composición del medio de cultivo y el pretratamiento de los ES antes de la maduración y germinación.