

inifap

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS



CRIOPRESERVACIÓN DE GERMOPLASMA DE AGUACATE

Ignacio Vidales Fernández
Antonio Larios Guzmán
Luis Mario Tapia Vargas
Héctor Guillén Andrade
Francisco Javier Villaseñor

CONTENIDO:

* INTRODUCCIÓN

* OBJETIVOS DEL MEJORAMIENTO
GENETICO

* COLECTA Y BANCOS DE GERMOPLASMA

* CONSERVACIÓN *in vitro* DE GERMOPLASMA
A CORTO MEDIANO PLAZO

* CRIOPRESERVACIÓN

* CONCLUSIONES



- 
- **Originario de México y Centroamérica existe una amplia diversidad genética de aguacate y especies afines en estado silvestre (Ben Ya'acov, 1992).**

FACTORES DE DISTURBIO

- Deforestación
- Cambio uso del suelo
- Incendios forestales
- Sobrepastoreo
- Variedades mejoradas seleccionadas





*** Colecta**

*** Caracterización**

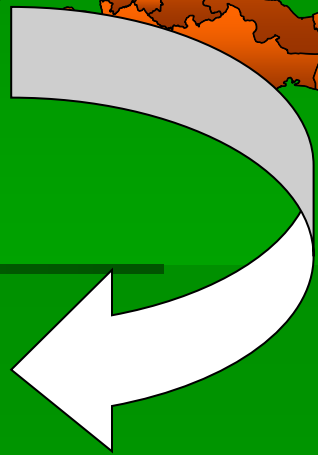
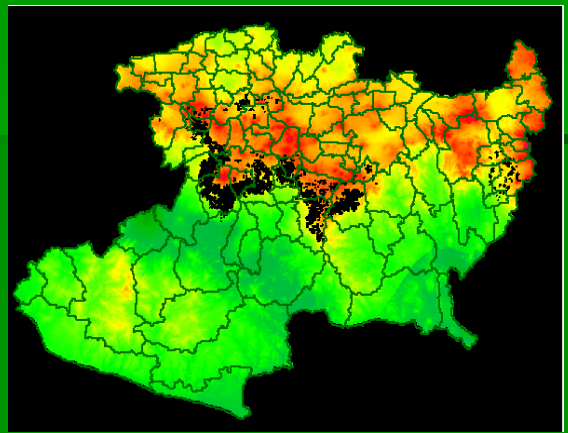
*** Conservación**

UTILIZACIÓN

DE

GENES





GIA-INIFAP

Objetivos del mejoramiento

De la variedad injertada (Hass)

- Alternancia en la producción
- Porte alto y hábito de crecimiento
- Incorporar resistencia a plagas, enfermedades y bajas temperaturas.



Del portainjerto

- Resistencia a *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix*.
- Resistencia a sales y suelos calcáreos.

Colecta y Bancos de Germoplasma

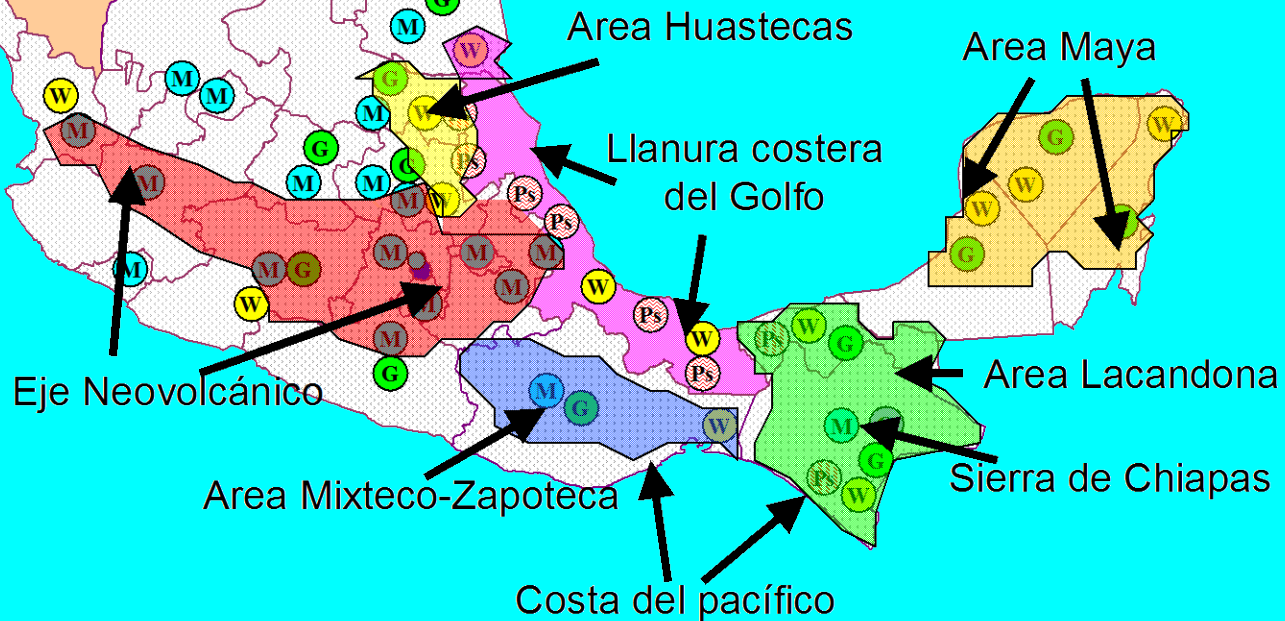
- 1993 INIFAP- Uruapan efectuó recorridos por las áreas productoras de aguacate.
- La caracterización de sitios se realizó tomando como guía la propuesta por IPGRI, con el auxilio de información del INEGI.
- Se incluyo información de clima y suelo, altitud, vegetación circundante, topografía, isoyetas, isothermas y otras características de interés.



COLECTA Y BANCOS DE GERMOPLASMA

- Ⓜ *P. americana* var. *drymifolia*
- Ⓦ *P. americana* var. *americana*
- ⓐ *P. americana* var. *guatemalensis*
- Ⓟ *P. schiedeana*
- Ⓞ Otras spp. de *Persea*

753 ACCESIONES



Ejemplo de la descripción del sitio / área de colecta

Num. 52

Clave del sitio / área de colecta 21ATX1

Entidad federativa: Puebla

Municipio: Atlixco

Localidad(es): Atlixco

Clima predominante: Templado subhúmedo (C (w₁) (w) i g w")

Suelos predominantes: Feozem háplico + Andosol ócrico + Regosol éutrico (Hh + To + Re / 1)

Latitud: 18° 55'

Longitud: 98° 27'

Isotermas (°C) 17.9

Isoyetas (mm) 876.6

Altitud (m) 1840

Banco de germoplasma en campo

INIFAP en Michoacán cuenta con dos HBG con 753 accesiones y 2 a 3 individuos por colecta .



Colecta *in vitro*

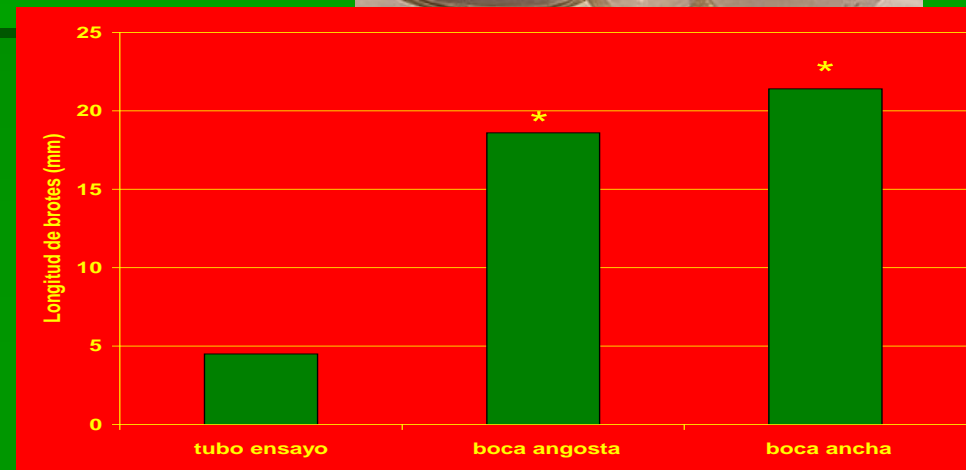
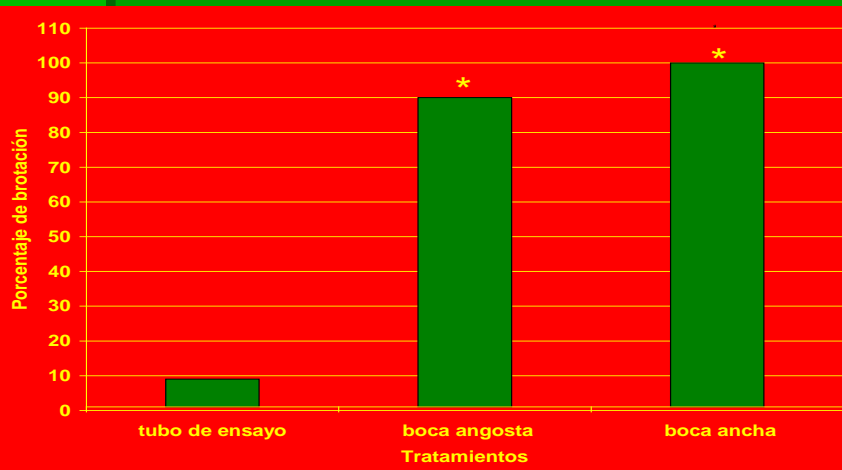
- **Campo Experimental del INIFAP- URUAPAN**
- **Caja de mica de acrílico como cámara de siembra**
- **50 x 30 x 30 cm (largo x alto x ancho), al frente con 10 cm de mica y 20 cm sin mica**
- **Cristal de 10 x 15 cm (largo x ancho) colocado en la base y al centro de la pequeña cámara de siembra**

Conservación *in vitro* de germoplasma a corto-mediano plazo

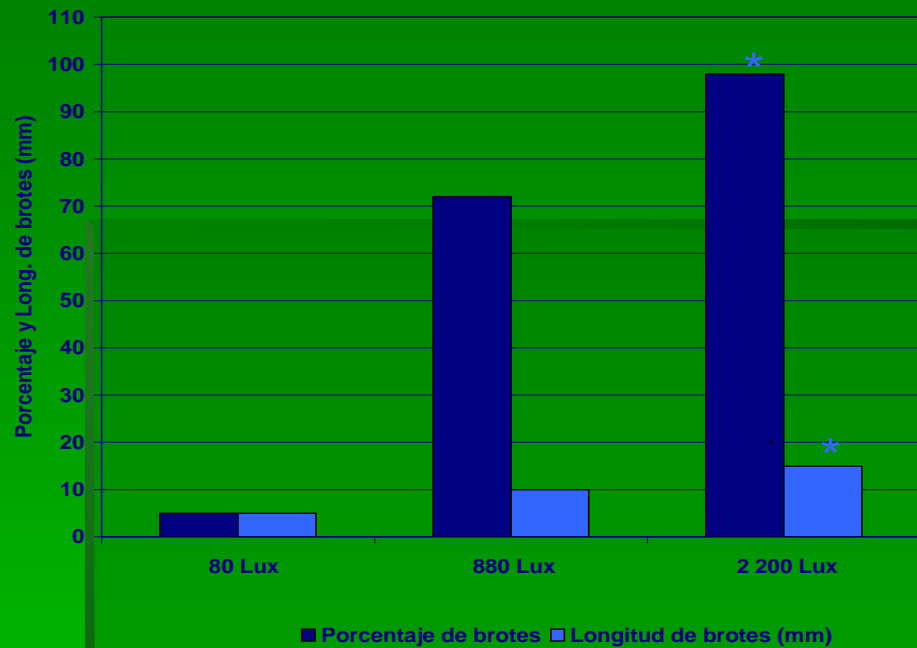
Ángel (2003)

- Con yemas axilares de la raza Mexicana:
A. Espacios de crecimiento

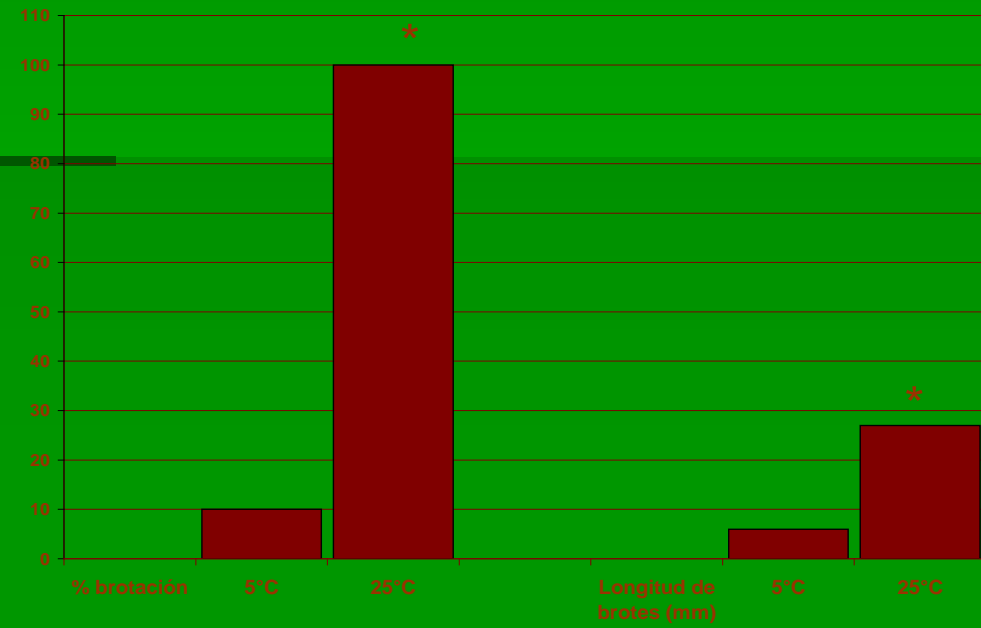
1. Tubo de ensayo (2.0 x 15 cm)
2. Frascos de boca angosta (4.5 x 9.0 cm)
3. Frascos de boca ancha (5.5 x 7.0 cm)



B. Intensidades de luz: 80, 880 y 2200 lux



C. Temperaturas: 5 y 25°C



Conservación *in vitro* de yemas axilares de vitroplantas raza Mexicana

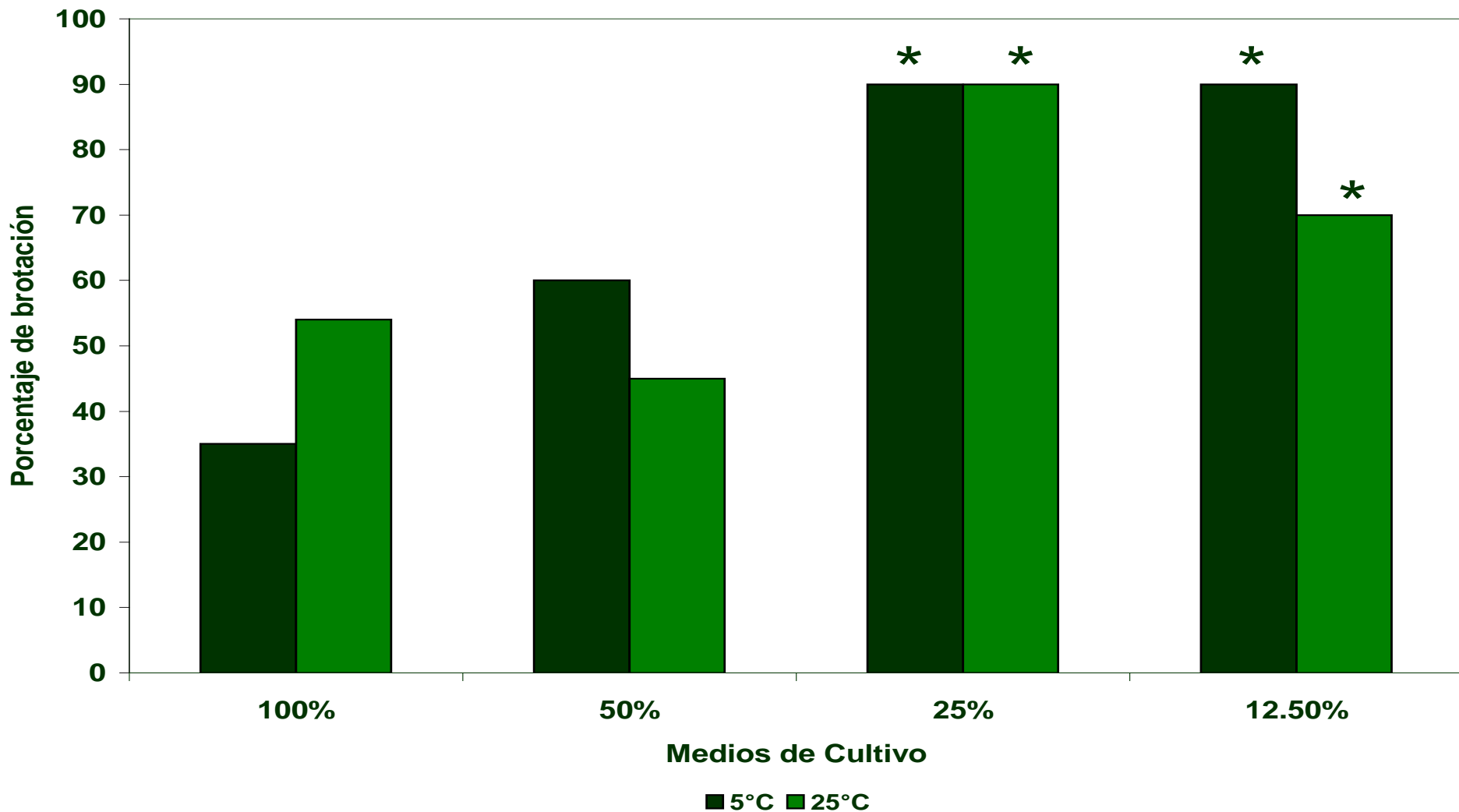
Factores químicos

1. Medios mínimos (concentración de sales minerales MS: 100% testigo, 50, 25 y 12.5%)
2. Sacarosa (100, 75, 50 y 30 g/l testigo)
3. Manitol (7.5, 5.0 y 2.5 g/l)
4. ABA (0.5, 1.0 Y 5.0 mg/l)

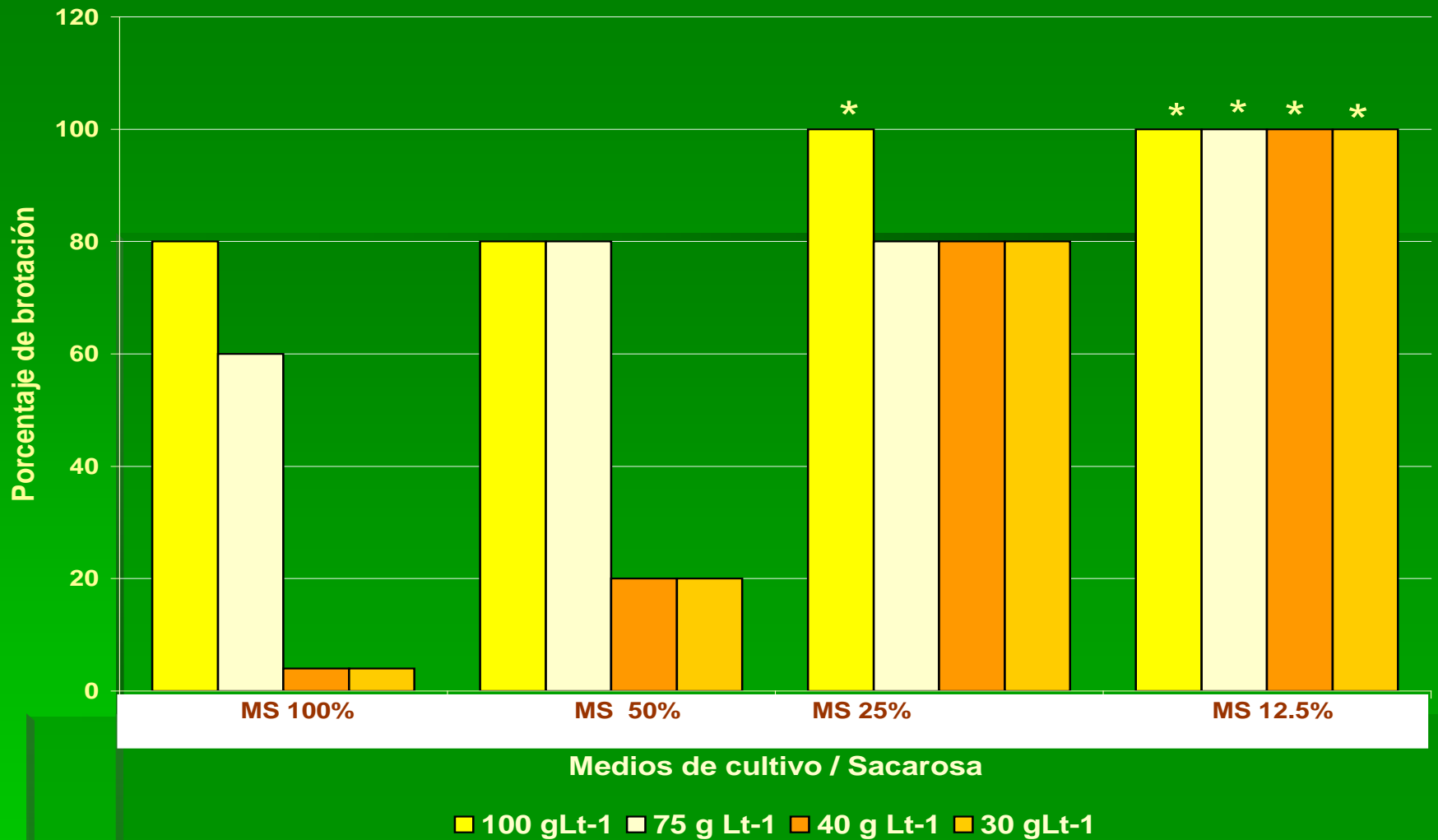
Factores físicos

1. Temperatura (5° y 25° C)
2. Oscuridad continua

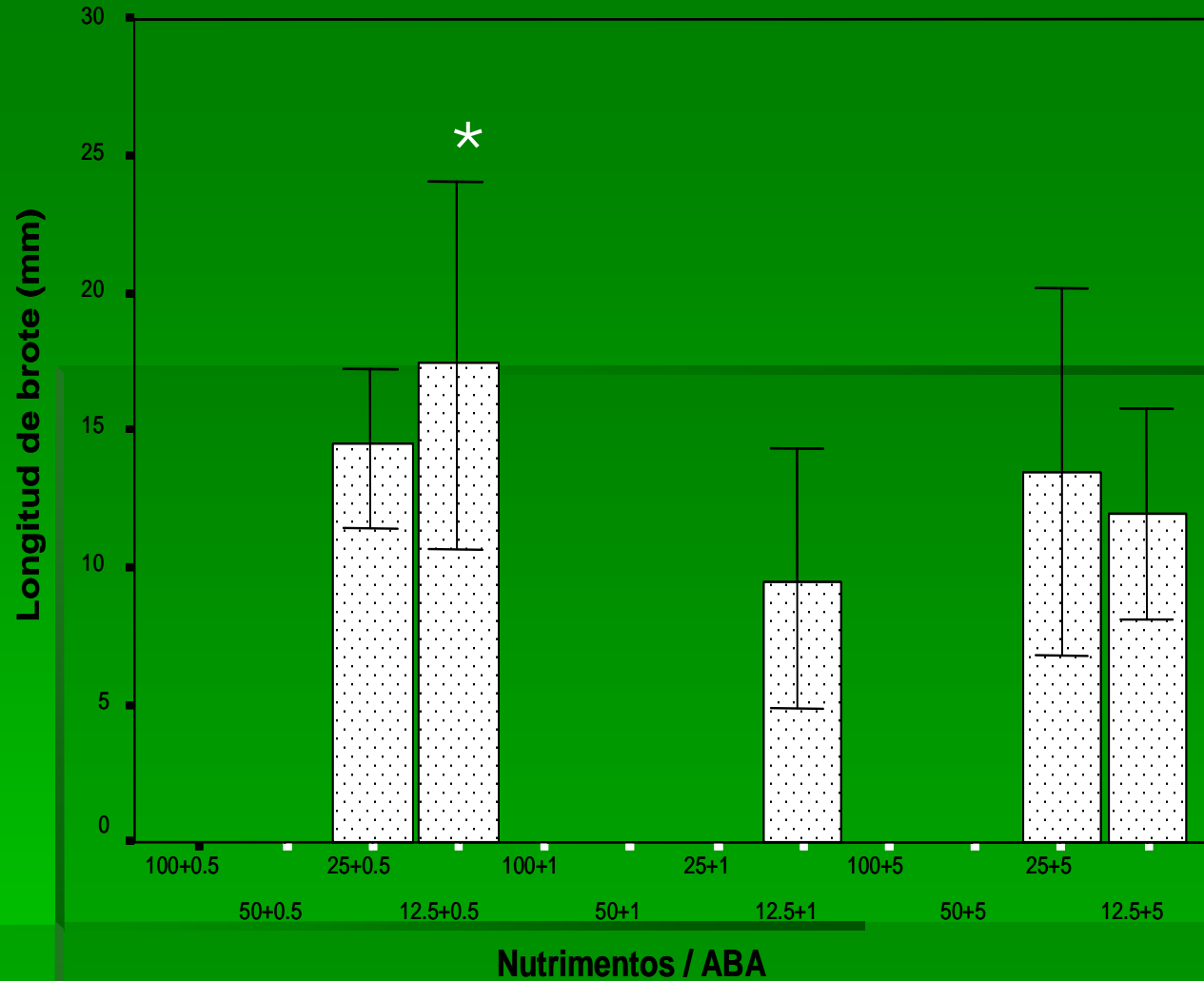




Porcentajes de brotación de yemas axilares de aguacate (*P. americana* Mill. var. *drymifolia*) conservadas *in vitro* a 5° y 25°C durante 270 días en el medio MS a diferentes concentraciones de sus nutrimentos, después de su incubación en medio MS 0.3 mg Lt-1 BA.



Porcentajes de brotación de yemas axilares de aguacate (*P. americana* Mill. var. *drymifolia*) conservadas *in vitro* a 5° C durante 270 días en el medio MS a diferentes concentraciones de sus nutrimentos en combinación con varias cantidades de sacarosa.



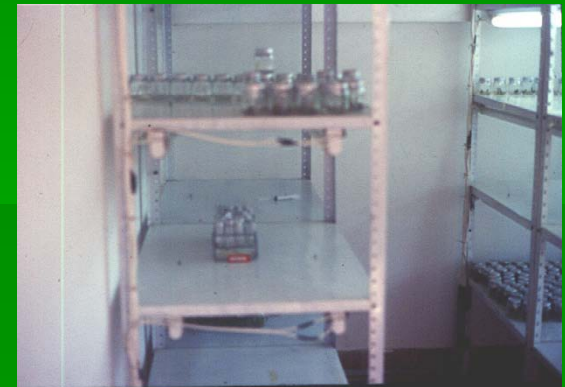
Longitud de brotes de yemas axilares de aguacate (*P. americana* Mill. var. *drymifolia*) conservadas *in vitro* a 5°C durante 270 días, bajo el análisis de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) para la combinación nutrimentos/ ABA.

Diferencias significativa (*).

Conservación *in vitro* de yemas axilares de vitroplantas cruza antillana x guatemalteca

Valladares (2005)

- **Temperatura: 25, 12.5 y 5°C**
- **Concentraciones de sales minerales MS: 100, 50, 25 y 12.5%**
- **Concentraciones de sacarosa: 100, 60 y 30 g/l**



Con yemas axilares producidas *in vitro* con Antillano x Guatemalteco:

A los 150 días la combinación más adecuada que se obtuvo fue temperatura de 12.5°C, 50% de sales minerales MS y 60 g/l de sacarosa.

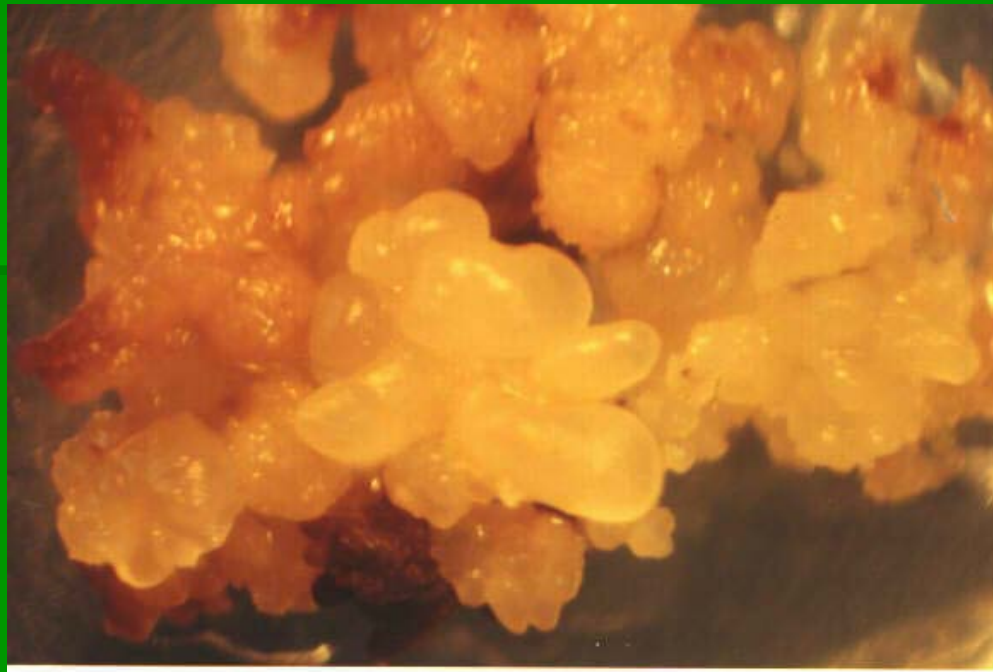


Efecto de la interacción entre la temperatura, concentración de sales y sacarosa a los 100 días después de establecidas las yemas axilares de aguacate Antillano x Guatemalteco. A) A 5 °C, sales MS al 25 % y 30g/l. B) A 12.5 °C, sales MS al 100 % y 60g/l.

Con masas proembriogénicas (MP) del cv. Hass

Raya (2004)

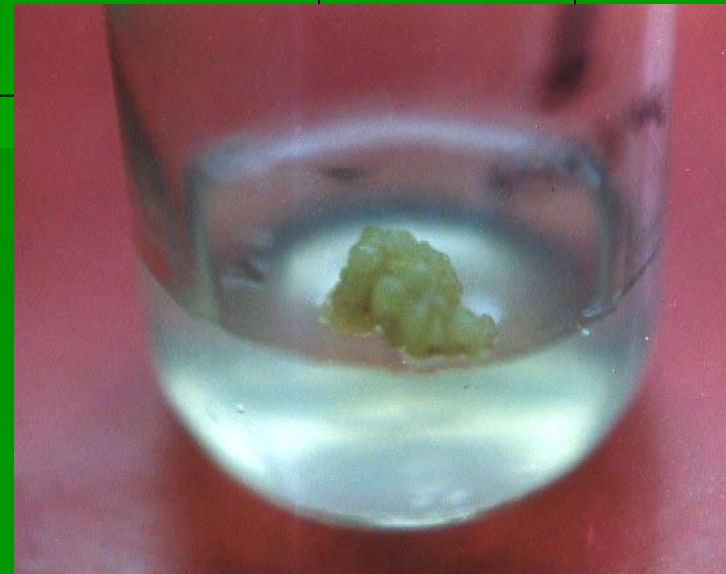
- Temperatura: 10, 15 y 25°C
- Concentraciones de sales minerales MS: 100, 50 y 25%
- Tipos y dosis de osmoregulador



Efecto de las sales minerales sobre el número de masas proembriogénicas y embriones somáticos, 150 días de conservación.

Sales Minerales (%)	Masas proembriogénicas (Num.) [†]	Embriones Globulares (Num.) [†]	Embriones Acorazonados (Num.)	Embriones Torpedos (Num.) [†]	Embriones Maduros (Num.) [†]
100	0.00 b	0.00 b	0.0	0.00 a	0.00 a
50	12.35 a	24.96 a	0.0	1.57 a	1.33 a
25	7.95 ab	14.53 ab	0.0	3.00 a	1.25 a
†Tukey(0.05)					

En la conservación de las masas proembriogénicas (MP) se determinó que a una temperatura de **15°C** y una **concentración de sales minerales al 50%** con **30 g/l de sacarosa** y **20 g/l de manitol** se recuperan después de 150 días el mayor número de MP's por explante.



CRIOPRESERVACIÓN

Vargas (2006)

Con yemas axilares de las razas Guatemalteca y Mexicana (304-01 y 206-03), y cruzas entre ellas, se llevaron a cabo estudios preeliminares de criopreservación,

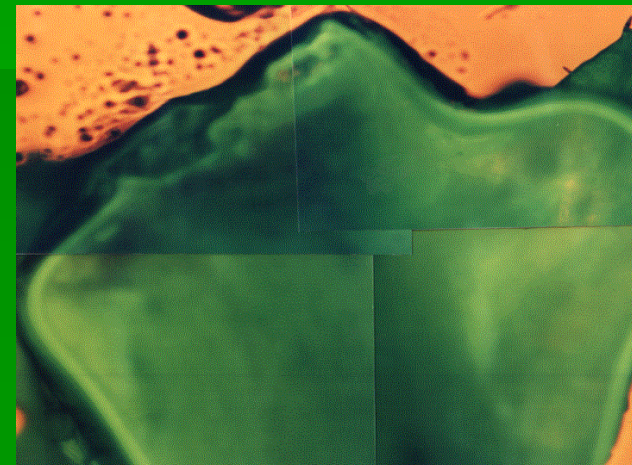


- Tiempo de deshidratado con aire estéril.

- Soluciones crioprotectoras y

-

- Procedimiento de congelación.



Criopreservación *in vitro* de germoplasma

Se obtuvo información de la prueba de viabilidad. Los resultados indican que el mejor tiempo de deshidratado fueron **120 minutos**, ya que con este tratamiento los porcentajes de viabilidad (fluorescencia) fueron los más uniformes.

Los explantes con menor tiempo de deshidratación mostraron un porcentaje de viabilidad bajo, por lo que es conveniente disminuir el contenido de agua del material vegetal para reducir los efectos de la formación de hielo en la congelación (Uragami *et al.*, 1990).

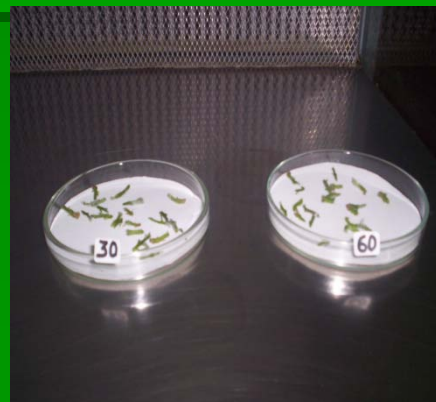


En criopreservación

Vidales-Fernández
(2007)



PVS 4



60 min

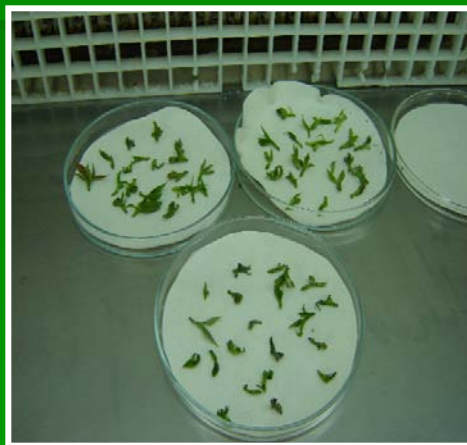


CRIOPRESERVACIÓN

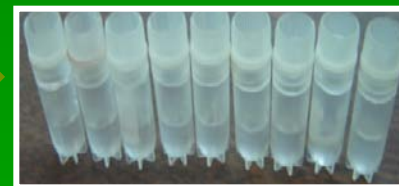
Vargas (2008)



Aguacate *in vitro*
Precultivo brasinolide



Deshidratación



Solución de criopreservación

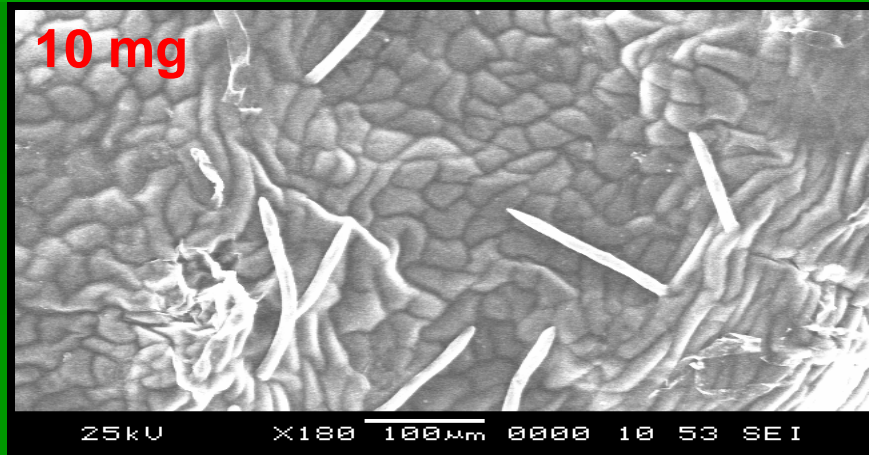
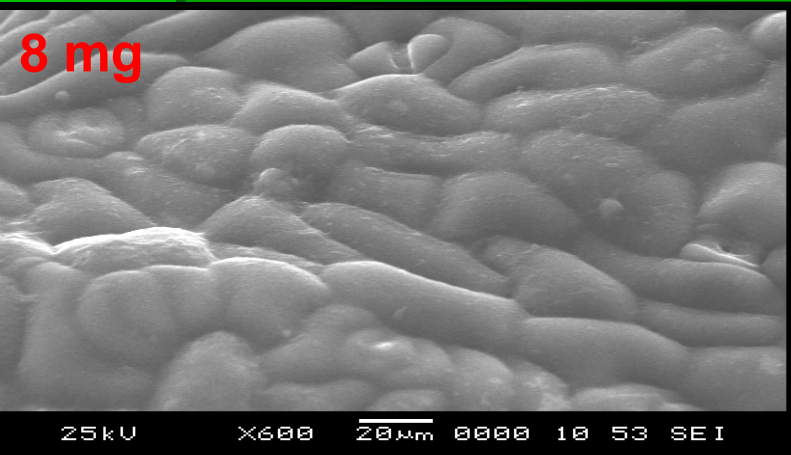
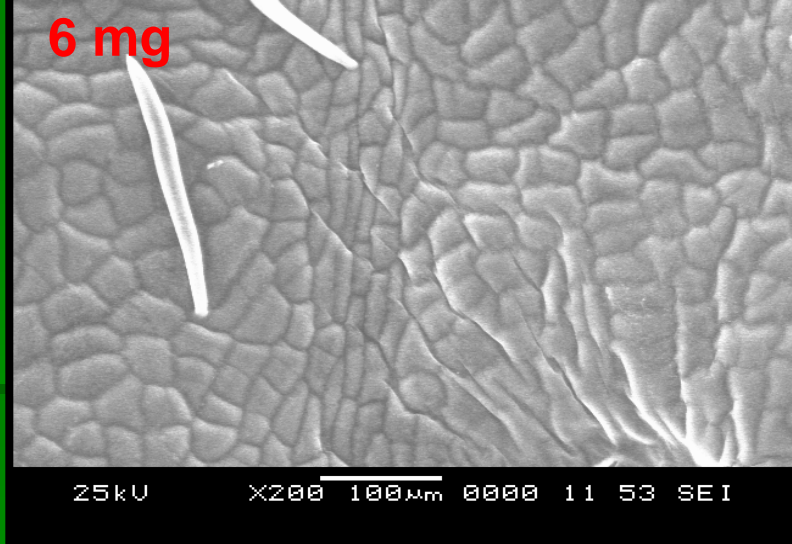
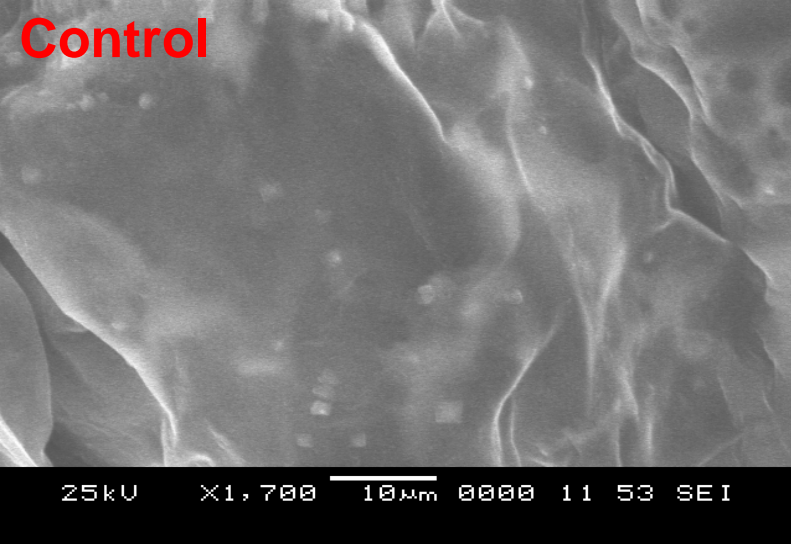
-20 °C/ 60 min.



Eliminación de sol. PVS4
5 min.



Siembra *in vitro*



CONCLUSIONES

- **Grandes esfuerzos en colecta y conservación de germoplasma de aguacate.**
- **Actualmente establecido sistema de conservación de explantes *in vitro* a corto-mediano plazo (300 días).**
- **En criopreservación de explantes de aguacate insuficientes las investigaciones.**
- **Continuar con:**
 - **Precultivo de explantes en medios enriquecidos con sacarosa.**
 - **Procedimiento de congelación y descongelación.**
 - **Técnicas de vitrificación, encapsulación-deshidratación, y precultivo-deshidratación y encapsulación.**

¡ Gracias por su atención !

