

# ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE DIFERENTES CULTIVARES DE OLIVO

Mohammed Jellali, Laia Ribalta, José Ángel Mercado, Fernando Pliego-Alfaro, Elena Palomo-Ríos

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea La Mayora (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, España.  
jellalimohammed26@gmail.com



## INTRODUCCIÓN

El olivo (*Olea europaea*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial. No obstante, la emergencia de *Xylella fastidiosa* representa una seria amenaza para su sostenibilidad. En este contexto, la embriogénesis somática a partir de tejidos adultos se perfila como una herramienta biotecnológica para la conservación y mejora genética de la especie. Este estudio tiene como objetivo establecer cultivos in vitro de diversos genotipos de olivo, evaluando su comportamiento y capacidad de micropropagación, para utilizarlos posteriormente como fuente de explantes en la inducción de embriogénesis somática.

## MATERIALES y MÉTODOS

Se recolectaron ramas de crecimiento nuevo de cuatro variedades, tres susceptibles a *X. fastidiosa*: 'Oliana', 'Canino', 'Ogliarola'; y una resistente: 'Leccino'. Las ramas se sometieron a un protocolo de desinfección que incluyó el frotado con etanol al 70% e inmersión en hipoclorito sódico (NaClO, 0,5%, 10 min) seguido de 3 lavados con agua destilada. Posteriormente, se seccionaron en fragmentos nodales de 1,5-2 cm y se repitió la desinfección. Los explantes se cultivaron en medio de Revilla et al.<sup>1</sup> (DKW suplementado con 1 mg/L de 6-bencilaminopurina (BAP) y 0,01 mg/L de ácido indolbutírico (IBA)) durante 6 semanas. Luego, se transfirieron a medio RP<sup>2</sup> con 1 mg/L de ribósido de zeatina (RZ) para elongación (6 semanas). Finalmente, los brotes elongados se separaron en sección nodales ( $\geq 1,5$  cm, 2 nudos) y se mantuvieron en medio RP con 2 mg/L de RZ durante 8 semanas, tal y como recomiendan Vidoy et al.<sup>3</sup> para el cv Arbequina. Tras este periodo, los explantes con desarrollo adecuado (brotes axilares  $\geq 1,5$  cm) se individualizaron y subcultivaron para la multiplicación del material, con subcultivos cada 8 semanas. Para mejorar la introducción y posterior elongación del cv. 'Leccino' se testó el uso de  $\frac{1}{2}$ RP y 0,5 mg/L de RZ. Igualmente, se testó el uso del cultivo en doble fase (RP líquido con 0,1 mg/L RZ) para mejorar la tasa de multiplicación en el resto de cvs.

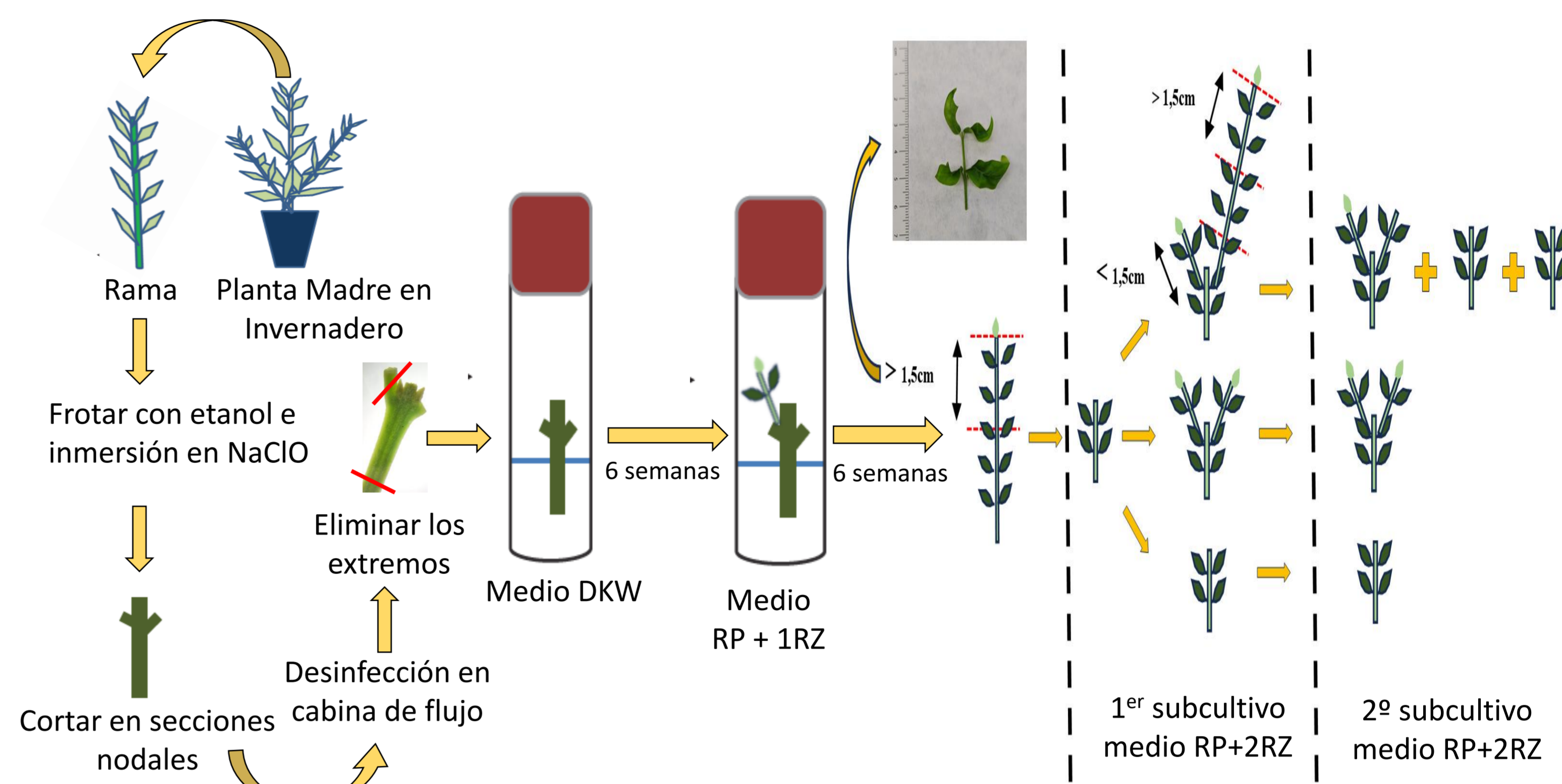


Figura 1. Esquema del protocolo estándar seguido para establecer el material vegetal de olivo in vitro.

## RESULTADOS

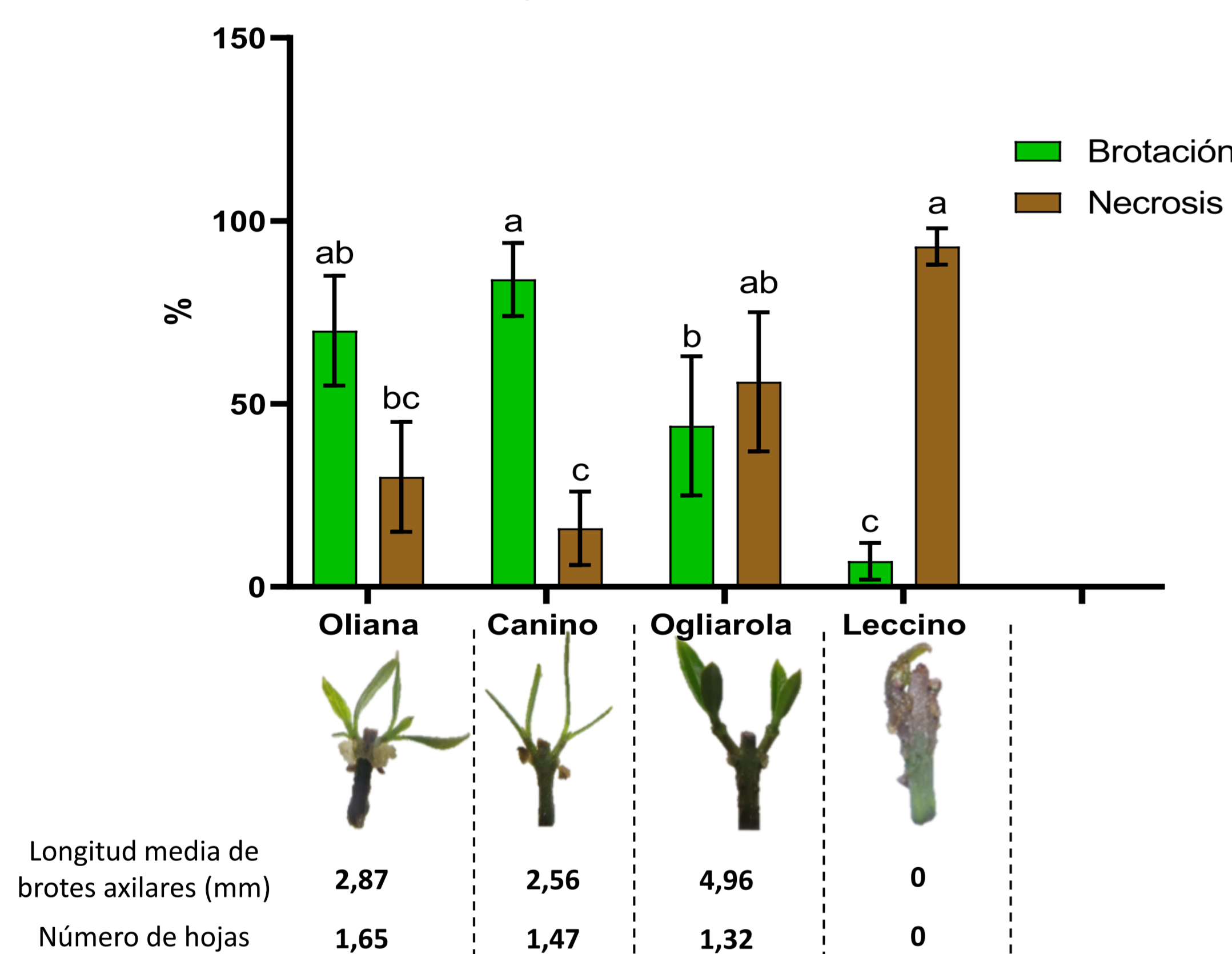


Figura 2. Porcentajes de formación de brotes y de necrosis. Longitud media de brotes axilares (mm) con número de hojas observadas en diferentes variedades de olivo establecidas in vitro en medio DKW + 1 mg/L BA + 0,01 mg/L IBA. Datos tomados a las 6 semanas. Prueba de  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

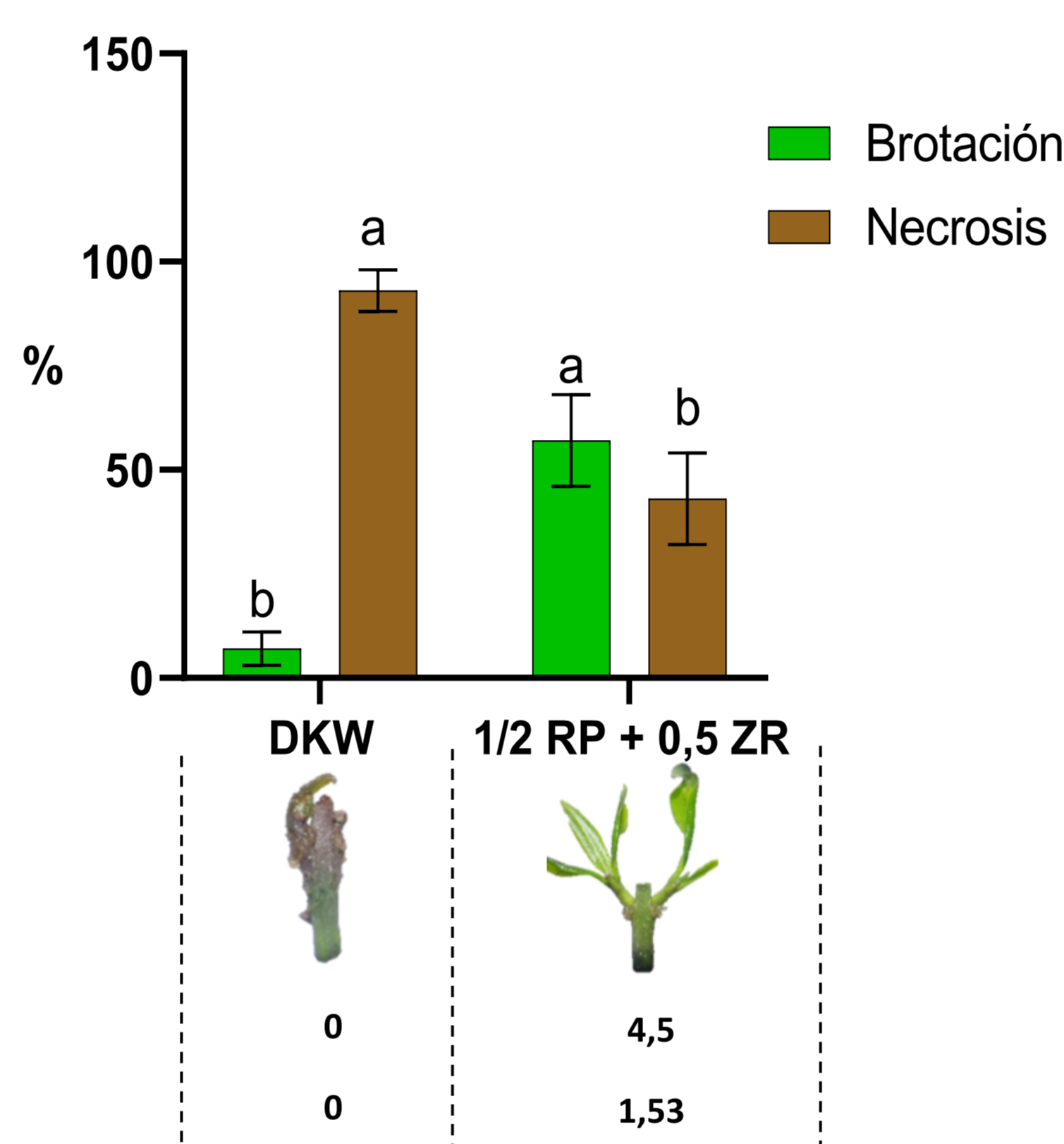


Figura 3. Porcentaje de formación de brotes y de necrosis observados en el cultivar 'Leccino' iniciado in vitro en medio DKW y  $\frac{1}{2}$  RP + 0,5 mg/L RZ. Prueba de  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

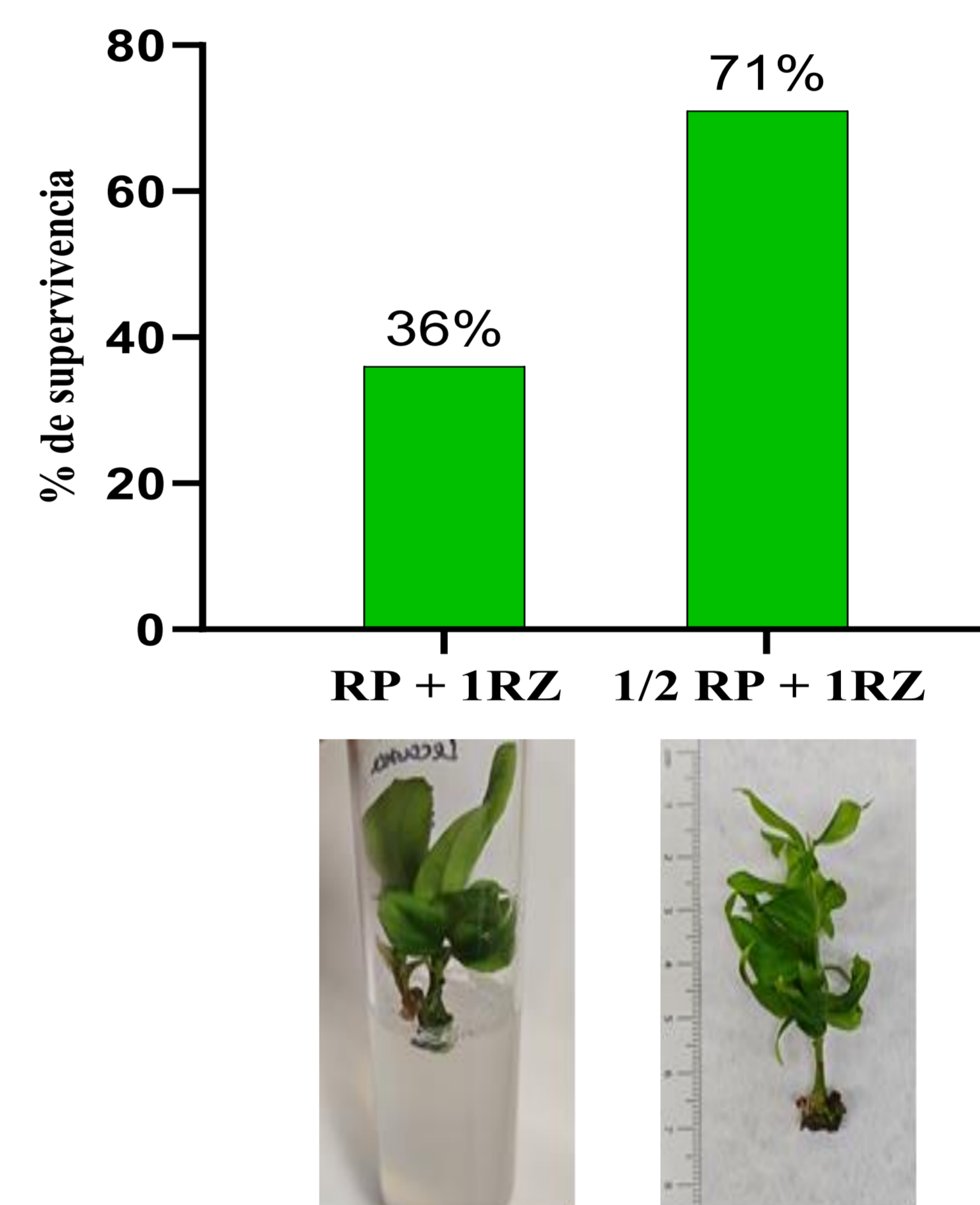


Figura 5. Porcentajes de supervivencia y aspecto observados en el cultivar 'Leccino' durante la fase de elongación, cultivado en medios RP y  $\frac{1}{2}$  RP suplementados con 1 mg/L de ZR tras 7 semanas.

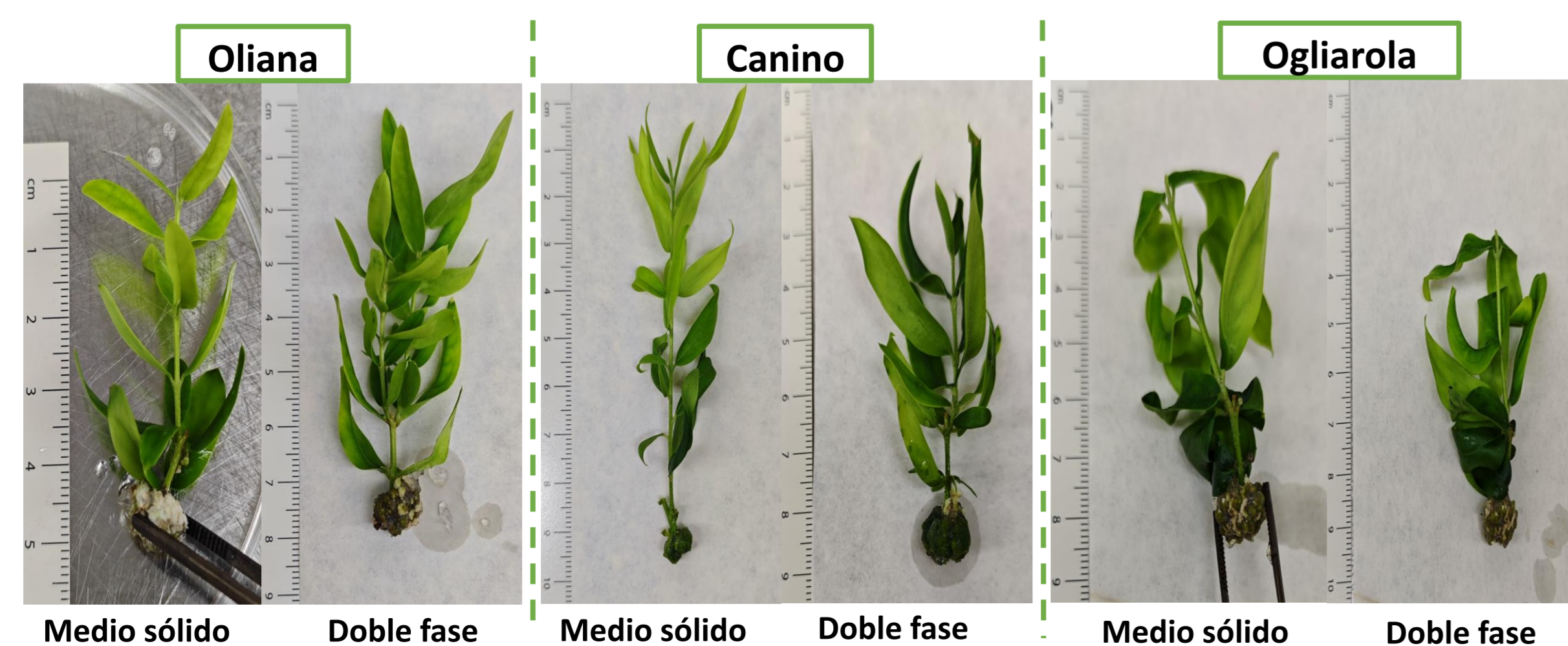
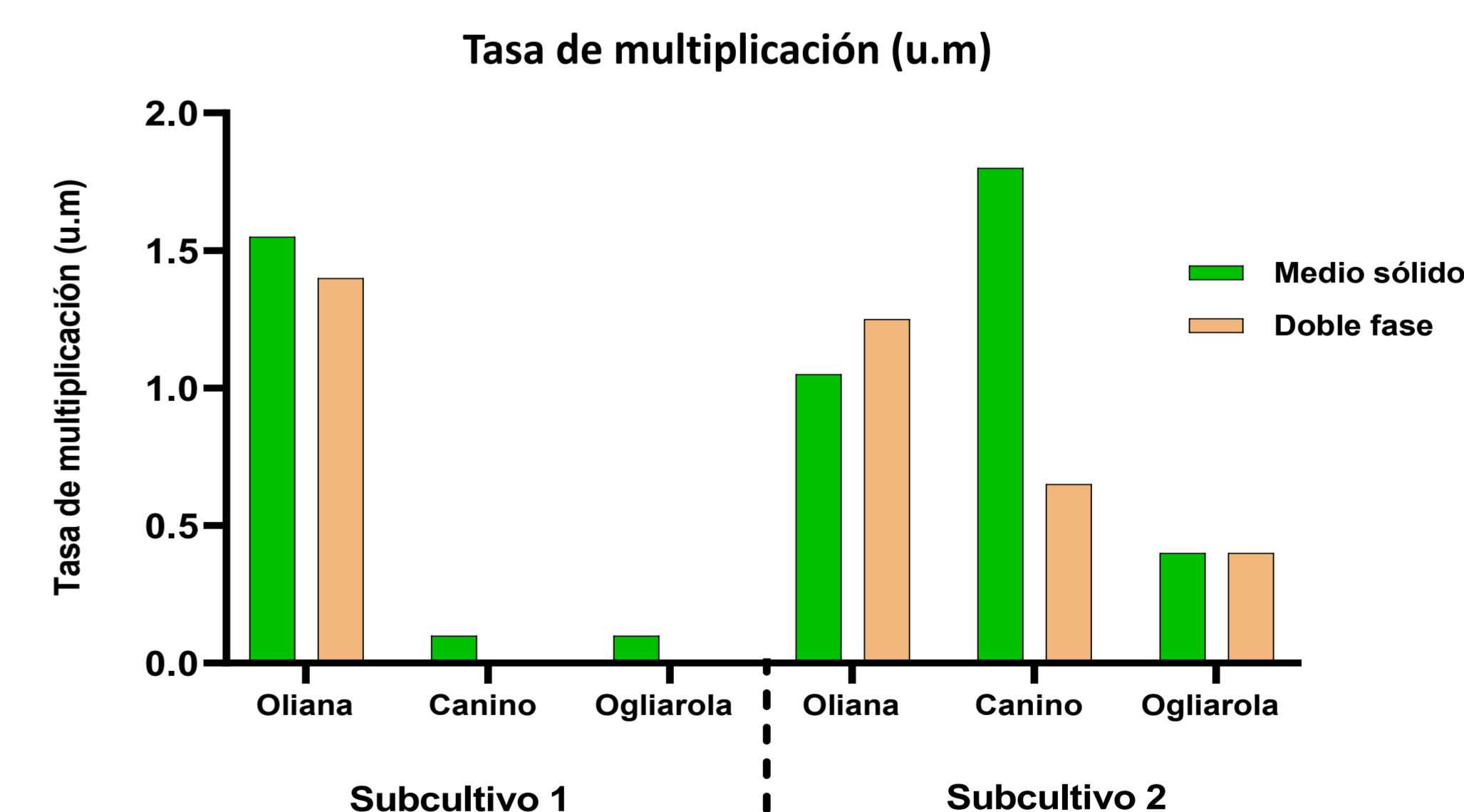
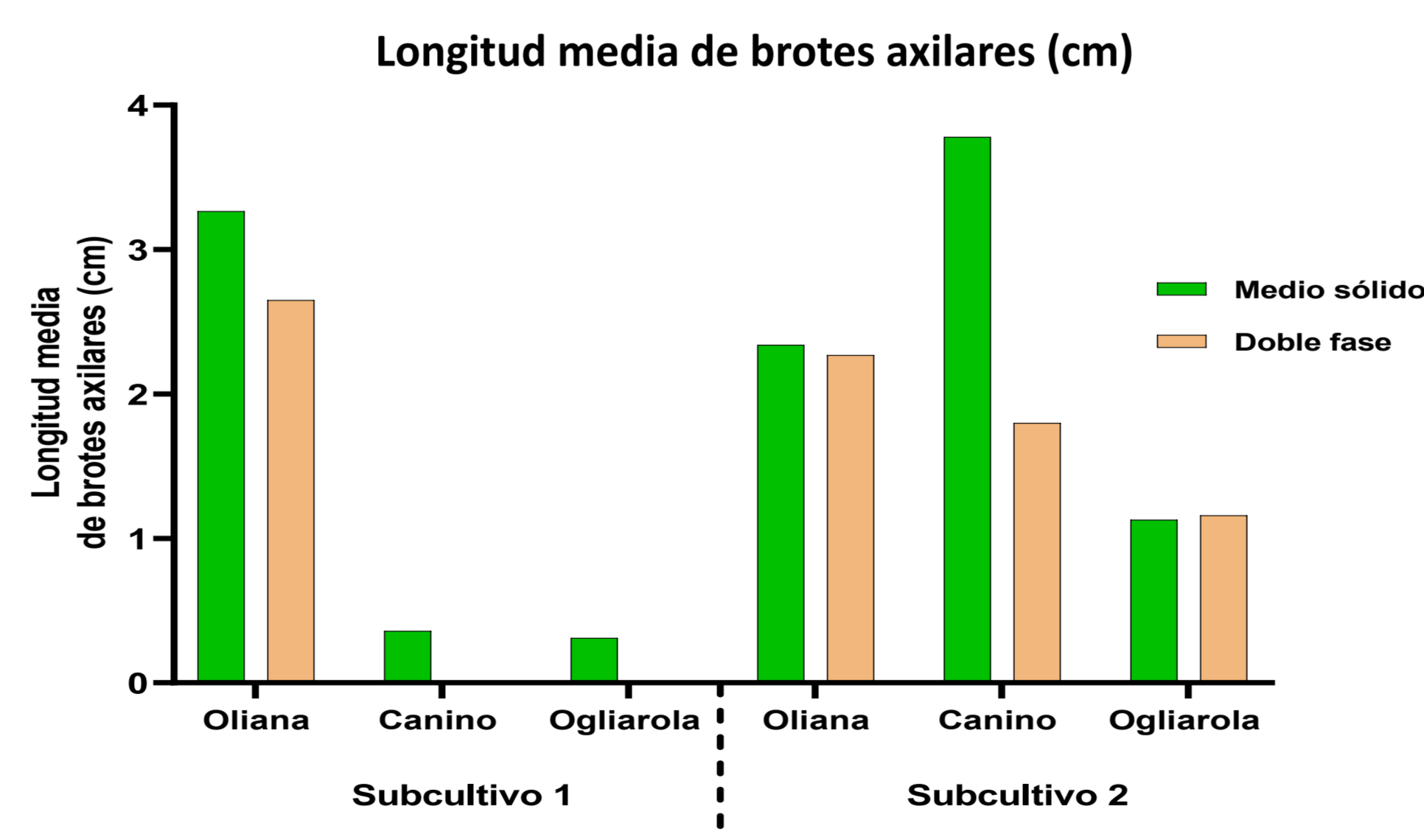
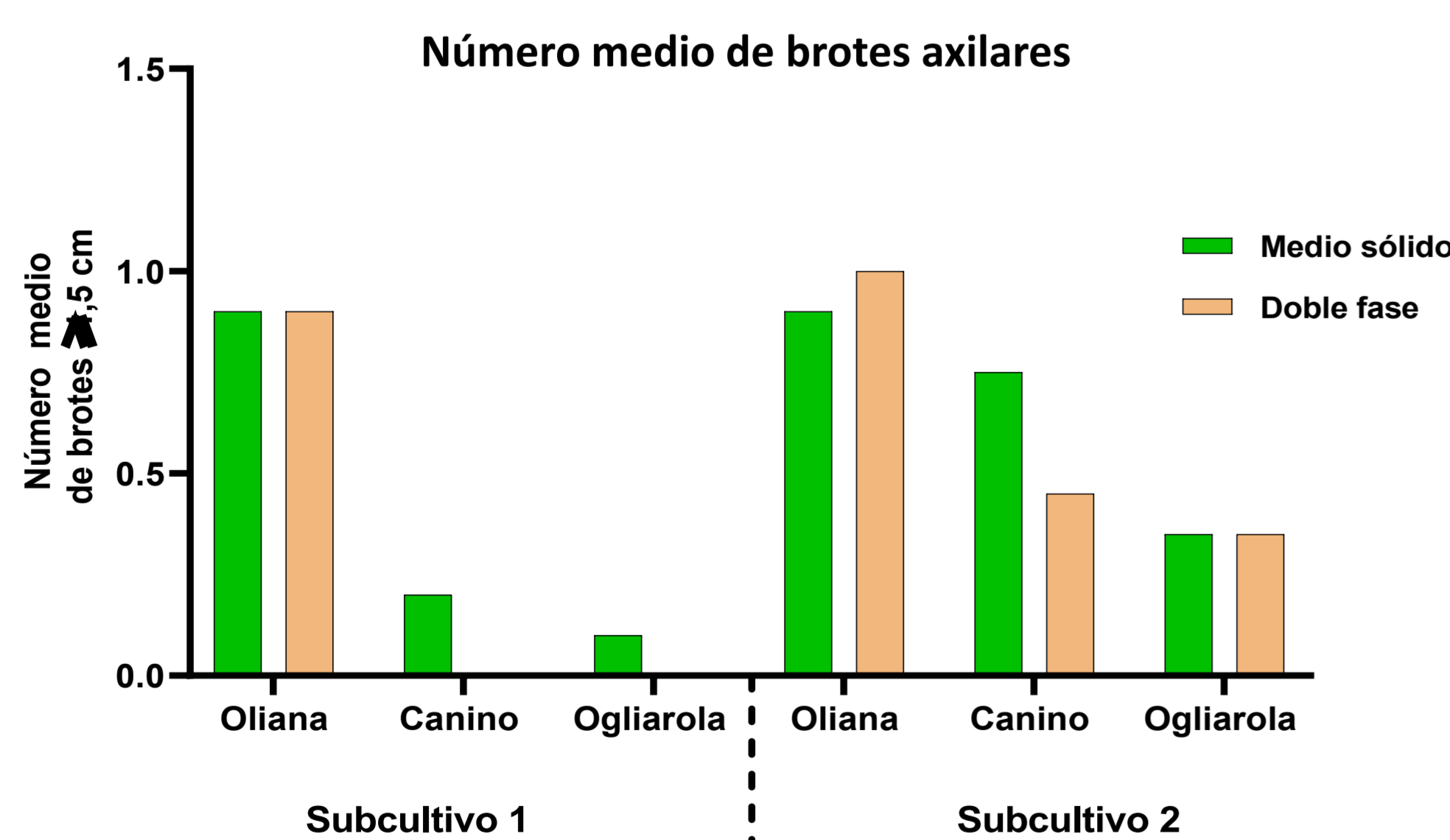


Figura 4. Parámetros de crecimiento: Número medio de brotes axilares, longitud media de brotes axilares, tasa de multiplicación (número de brotes nuevos/ número de explantes iniciales) y aspecto de tres cultivares de olivo: 'Oliana', 'Canino' y 'Ogliarola', cultivados en medio sólido (RP + 2 mg/L RZ) y medio de doble fase (sólido + líquido RP + 0,1 mg/L RZ).

## CONCLUSIONES

El genotipo es un factor determinante en el establecimiento in vitro de olivo. Los cultivares susceptibles a *X. fastidiosa* se establecieron bien en el medio de Revilla et al.<sup>1</sup>, mientras que para 'Leccino', se usó  $\frac{1}{2}$  RP suplementado con 0,5 mg/L ZR en la fase de establecimiento o 1 mg/L ZR en la elongación. Para la fase de multiplicación, 'Oliana' y 'Canino' proliferaron adecuadamente en el medio RP + 2 mg/L RZ, a diferencia de 'Ogliarola', que mostró limitaciones. El cultivo en doble fase no mejoró en ningún caso los resultados de control.