**Análisis comparativo de la estabilidad genética en brotes de olivo obtenidos mediante organogénesis axilar o vía embriogénesis somática**

Isabel NARVÁEZ1, Sinda BEN MARIEM1, Elena PALOMO-RÍOS1, José Ángel MERCADO1, Carmen MARTÍN2, Fernando PLIEGO-ALFARO1

1 Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC), Dpto. Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Campus de Teatinos, s/n, 29071, Málaga, Spain.

2 Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, ETS Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid, Spain.

Email de contacto: [narvaez@uma.es](mailto:narvaez@uma.es)

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* puede inducir alteraciones en las células, lo que se conoce como variación somaclonal (Larkin y Scowcroft, 1981, TAG, 60, 197-214). Estas alteraciones pueden ser útiles como fuente de variabilidad, pero pueden ser un problema si se quiere mantener la estabilidad genética. Factores como el genotipo, tipo de explanto, sistema de regeneración, tiempo y frecuencia de cultivo, así como el uso de reguladores de crecimiento, pueden afectar a este fenómeno. La estabilidad genética debe ser asegurada lo antes posible, para ello se dispone de marcadores tanto morfológicos, para la detección de variación de características fenotípicas, como moleculares, siendo los más utilizados los Simple Sequence Repeat (SSR) y Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). El objetivo de este trabajo fue el estudio de la estabilidad genética de material obtenido vía embriogénesis somática (ES), a partir del cultivo de radícula de embriones zigóticos maduros de la variedad Picual de olivo (*Olea europaea*), así como por proliferación de brotes axilares, mediante el cultivo del ápice del mismo embrión, usando marcadores RAPDs. La inducción de callo se realizó en medio OMc suplementado con 25 µM IBA - 2.5 µM 2ip. A las 3 semanas, el callo se transfirió al mismo medio pero conteniendo 2.5 µM IBA y sin 2ip. Posteriormente, se cultivó en medio de embriogénesis cíclica de olivo (ECO) conteniendo 0.25 µM IBA, 0.5 µM 2ip - 0.44 µM BA (Pérez-Barranco et al., 2009, PCTOC, 97, 243-251) y suplementado con 200 mg/L de cefotaxima. El callo embriogénico se mantuvo en este medio, con subcultivos cada 4 semanas. Los ápices se cultivaron en medio de germinación (Clavero-Ramírez y Pliego-Alfaro, 1990, Actas de Horticultura, 1, 512-516) durante 12 semanas y los brotes obtenidos se mantuvieron en medio RP suplementado con 2 mg/L de ribósido de zeatina (Vidoy-Mercado et al., 2012,Acta Horticulturae 949, 27-30). Se seleccionaron 3 líneas, P138, P357 y P269 de las cuales se disponía de callo embriogénico derivado de la radícula y de brotes derivados del ápice del mismo embrión. Embriones de las 3 líneas obtenidas se maduraron siguiendo el protocolo de Cerezo et al. (2011, PCTOC, 106, 337-344) y se germinaron para la obtención de brotes. Para el análisis de estabilidad genética se emplearon 7 marcadores RAPDs y se analizaron entre 3 y 10 muestras de callo embriogénico de las 3 líneas mantenidas *in vitro* durante 36 meses, así como entre 1 y 10 plantas regeneradas a partir de estos callos (16 meses mantenidas en fase de callo y 20 meses aproximadamente como brotes en proliferación) y entre 8 y 10 plantas obtenidas a partir del cultivo del ápice, mantenidas durante 36 meses. El material analizado de las líneas P138 y P269 no mostró polimorfismo; sin embargo, en el caso de la línea P357, se detectó una banda de aproximadamente 400 pb que estaba ausente en uno de los brotes procedentes del material micropropagado derivado del ápice, así como la amplificación de una banda adicional, de unas 450 pb, con uno de los RAPD utilizados.

Proyecto UMA18-FEDERJA-096