

Autores: Rodrigo Esteban Bartolomé, Guillermo Galera Román y Juan Jesús Torralba Mateos
Tutores: José Cos Terrer y Luis Martín Melgarejo

INTRODUCCIÓN

La mejora genética clásica a través de frutales como el melocotón, ciruelo y cerezo es uno de los grandes avances agrícolas de la actualidad, permitiendo la posibilidad de desarrollar nuevas variedades mejor adaptadas y con nuevas tipologías. Para desarrollar los cruzamientos es necesario disponer de polen del parental masculino que tenga una buena viabilidad, siendo por tanto fundamental tener un test que permita estimar esta viabilidad mediante la germinación *in vitro*.

OBJETIVOS

Mejorar los medios de cultivo *in vitro* para la germinación del polen de frutales de hueso (melocotón, ciruelos, cerezo) utilizando distintos métodos en los medios de cultivo, variando su composición química para observar la variación que se produce entre los medios de cultivo en la cantidad de polen germinado.

METODOLOGÍA

- **Material vegetal:**
Como material vegetal se utilizó polen de melocotón, cerezo y ciruelo, previamente congelados en un congelador a -20 °C para su conservación.
- **Materiales de laboratorio empleados:**
Báscula de laboratorio, balanza analítica, espátula, microscopio óptico binocular (Olympus, modelo BH2), placas Petri de plástico, olla a presión industrial, mosca, vaso de precipitado, agitador magnético (Fig.1).
- **Composición de los medios de cultivo *in vitro* estudiados:**

Componente	Concentración g/l				
	Medio estándar	Sacarosa/2	Sin Sacarosa	Sin H ₃ Bo ₃	Sin Ca(NO ₃) ₂ ·4 H ₂ O
Sacarosa	102,70	51,35	-	102,70	-
Ca(NO ₃) ₂ ·4 H ₂ O	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
H ₃ Bo ₃	0,10	0,10	0,10	-	0,10
Agar propagación	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00

La preparación de los medios se realizó a una temperatura de 120 grados Celsius, durante 2 minutos en autoclave, dejándolo posteriormente unos 45 minutos para calentar y enfriar. Pasado ese tiempo se extrajeron los matraces del autoclave, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y a continuación se vertieron en las placas Petri de plástico. Se prepararon 15 medios de cada especie, realizando tres repeticiones de cada uno.

La siembra de los granos de polen se realizó con pinceles y se introdujeron en una cámara de cultivo a 25 °C durante 24 horas.

Pasadas 24 horas se sacaron los medios de la cámara y con el microscopio se realizó el recuento de granos de polen germinados en tres zonas al azar, considerando como germinados los que habían desarrollado el tubo polínico (Fig.2.).

En la siguiente imagen se pueden observar los materiales necesarios para la preparación de los medios de cultivo.



Fig 1. Compuestos químicos empleados para la preparación de medios de cultivo *in vitro*.



Fig 2. Desarrollo de tubo polínico en granos de polen. NG=no germinado; G=germinado.

RESULTADOS

En melocotón, el porcentaje de granos germinados disminuyó un 13% y un 30% cuando se redujo a la mitad y se eliminó la concentración de sacarosa. El efecto del H₃Bo₃ y del Ca(NO₃)₂, fue menos significativo reduciéndose la germinación al medio estándar en un 10% y un 1%, respectivamente.

En cerezo, el porcentaje de granos germinados disminuye un 33% cuando se elimina el aporte de sacarosa. Los granos germinados disminuyen hasta un 3% al no aportarle H₃Bo₃. El porcentaje de granos germinados en los medios con la mitad de sacarosa y sin Ca(NO₃)₂, son más altos que el medio estándar con un 5% y un 18% respectivamente.

En el caso del ciruelo, el porcentaje de granos germinados disminuye un 27% cuando se elimina el aporte de sacarosa. Los granos germinados también disminuyen un 5% al no aportarle Ca(NO₃)₂. Sin embargo, el porcentaje de los granos germinados en los medios sin H₃Bo₃ y con la mitad de sacarosa son algo más parecidas al medio estándar con unos porcentajes de un 1% y un 3%.

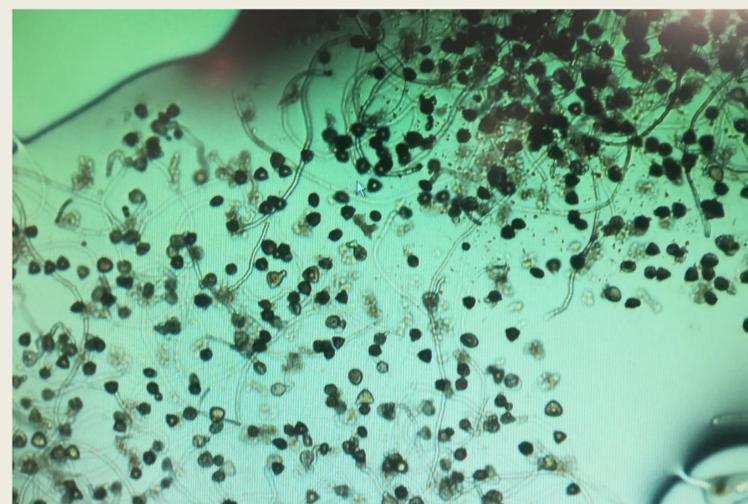


Fig 3. Campo de observación del microscopio con los granos de polen germinados y no germinados en el medio de cultivo *in vitro*.

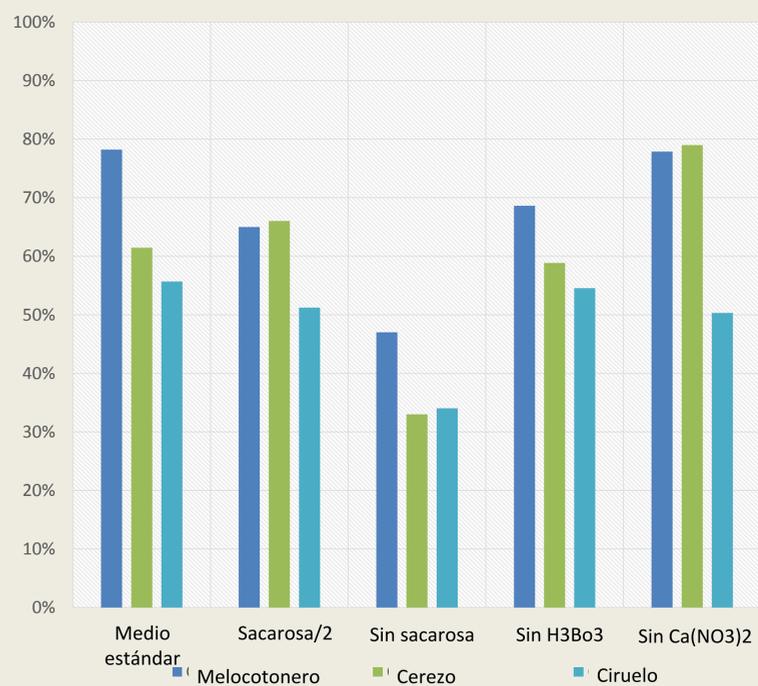


Fig 4. Porcentajes de germinación de los granos de polen en los distintos medios de cultivo y especies.

CONCLUSIONES

Analizando los resultados obtenidos se puede observar como aparecieron diferencias entre las tres especies, siendo el ciruelo el que menos porcentaje de germinación presentó. En las tres especies se ve la gran influencia del contenido en sacarosa del medio de cultivo, y que el efecto del H₃Bo₃ y del Ca(NO₃)₂ no tuvo una acción significativa para incrementar los porcentajes de germinación.