

# Producción a gran escala de *Castanea sativa* mediante micropropagación de yemas axilares en biorreactores de inmersión temporal.

Beatriz Cuenca<sup>1</sup>, María Menéndez Gutiérrez<sup>1</sup>, Antonio Ballester<sup>2</sup> y Nieves Vidal<sup>2</sup>

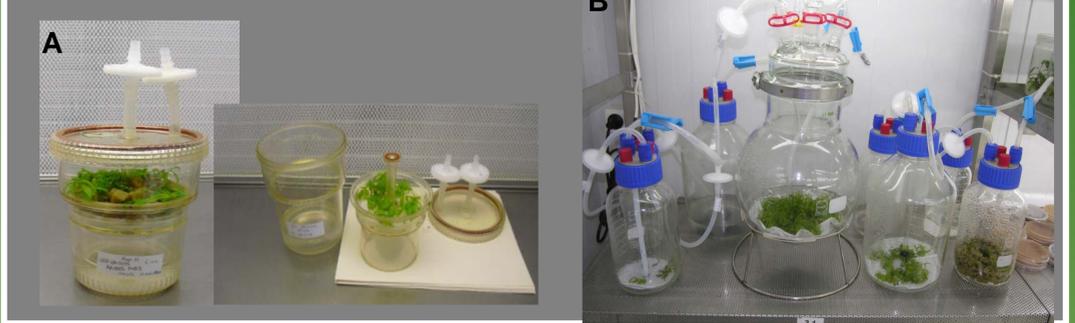
<sup>1</sup> Unidad de Viveros de TRAGSA. Crta. Maceda-Valdrey km 2. 32700 Maceda. Ourense. <sup>2</sup>Dpto. Fisiología Vegetal. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia. CSIC. Avda. de Vigo s/n. Apdo 122. E-mail: bcuenca@tragsa.es

## INTRODUCCIÓN

Este trabajo presenta la micropropagación *in vitro* a gran escala de clones seleccionados de castaño mediante el cultivo de yemas axilares en biorreactores de inmersión temporal (IT) con el doble objetivo de reducir los costes de producción y mejorar la calidad de la planta para facilitar su aclimatación.

Se han utilizado 2 tipos de biorreactores: reactores comerciales RITA® (Fig1, A) y reactores diseñados y construidos en el departamento de Mejora Agroforestal de TRAGSA para cultivar mayor cantidad de material vegetal (Fig1, B).

Fig 1. Tipos de biorreactores utilizados. A) Sistema RITA® y B) Reactores diseñados por TRAGSA



### Pruebas iniciales en RITA®:

Segmentos apicales o nodales de 1 cm situados directamente sobre el cestillo  
2 genotipos de castaño  
150 ml de medio GD con BA 0,1 mg/L  
2 inmersiones diarias durante 5 semanas



La eficacia del sistema se evaluó según la calidad de los brotes (% de brotes no hídricos; % BNH), el nº de segmentos por explanto (nº segm) y la longitud de los brotes obtenidos (L máx). Como controles se utilizaron los cultivos en medio semisólido (agar).



Los principales PROBLEMAS iniciales asociados al cultivo en biorreactores frente a medio semisólido (agar) fueron la hiperhidricidad de los brotes y la menor capacidad de proliferación de los cultivos.

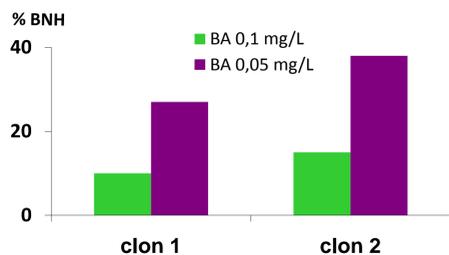


Para disminuir la hiperhidricidad se aplicaron las siguientes estrategias:

- 1) Determinación de la concentración adecuada de citoquinina
- 2) Evaluación del uso de un soporte inerte (filtros o lana de roca)
- 3) Incremento del nº de inmersiones y/o aireaciones
- 4) Selección del tipo de explanto inicial

## RESULTADOS OBTENIDOS

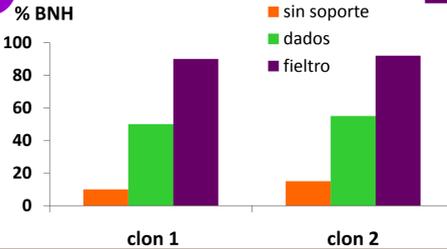
### 1 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CITOQUININA



BA= 0,05 mg/L

Experimento realizado en RITA® con ápices, 2 inmersiones diarias y sin soporte

### 2 EFECTO DEL TIPO DE SOPORTE

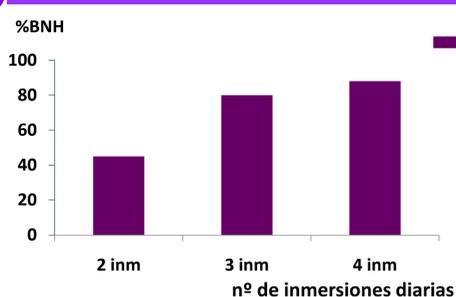


Fieltro (muy laborioso) o dados de lana de roca

Experimento realizado en RITA® con ápices, 2 inmersiones diarias y BA 0,05 mg/L



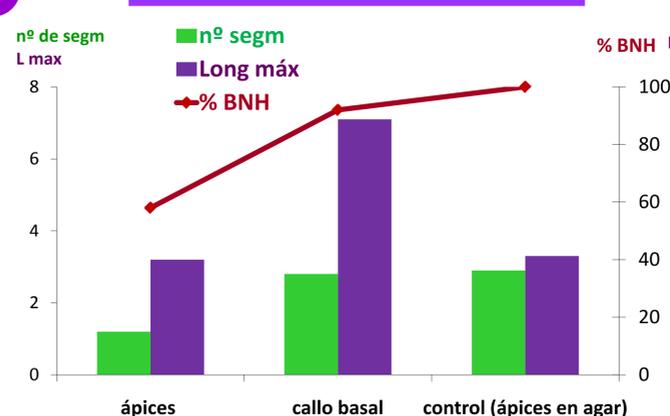
### 3 EFECTO DE LA FRECUENCIA DE LAS INMERSIONES



3-4 inmersiones

Experimento realizado en RITA® con ápices, dados de lana de roca y BA 0,05 mg/L

### 4 EFECTO DEL EXPLANTO INICIAL sobre la CALIDAD DEL BROTE Y CAPACIDAD DE PROLIFERACIÓN



El callo basal es superior a los ápices y mejora el sistema tradicional en agar

Experimento realizado en Biorreactores de TRAGSA con dados de lana de roca, BA 0,05 mg/L y 3 inmersiones



## CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo indican que la micropropagación de castaño en biorreactores de inmersión temporal (IT) es posible y puede superar al sistema tradicional en agar.

El principal problema de este sistema, la hiperhidricidad de los brotes, se ha resuelto mediante las siguientes estrategias:

- 1) Disminución de la concentración de citoquinina
- 2) Uso de un soporte inerte (lana de roca): El fieltro produce mejores resultados a pequeña escala pero su aplicación es laboriosa y no resulta adecuado para grandes recipientes.
- 3) Incremento del nº de inmersiones y/o aireaciones .
- 4) Selección del tipo de explanto inicial, incluyendo a los callos basales, que producen una mayor cantidad de brotes enraizables.

## Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada parcialmente por la Xunta de Galicia (09MRU016E). Los autores agradecen a Maite García y Blandina M. Blanco su asistencia técnica.