

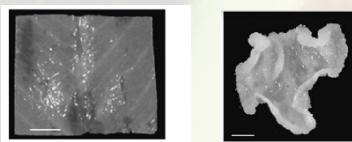
AGUACATE MEJORADO GENETICAMENTE

ABSTRACT

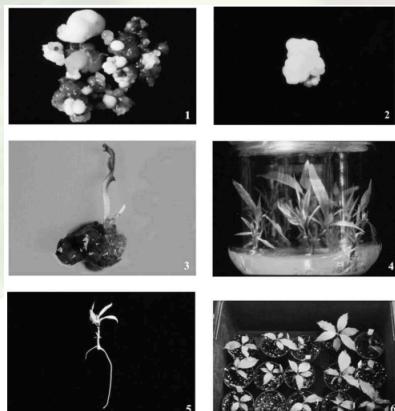
El aguacate es uno de los cultivos frutales más importantes del mundo y la calidad de la fruta de aguacate en el anaquel sigue continuando a ser uno de los retos para la industria internacional del aguacate. Una aproximación integrada que se enfoque en todos los aspectos es requerida. En este trabajo, se pretende analizar la historia del arte con respecto a la propagación y la biotecnología en el cultivo de aguacate y revisar la literatura para encontrar formas novedosas de integrar los nuevos descubrimientos biotecnológicos en transformación, cultivo de tejidos, embriogénesis y otras técnicas para el desarrollo de una forma de producción a gran escala que sea libre y resistente a enfermedades, y obviamente homogénea en estas características. Es por lo cual se propone la utilización e integración de técnicas como son el cultivo de protoplastos, embriogénesis somática y transformación genética como herramientas para la generación de las variedades deseadas.

Antecedentes e Importancia

Se ha consumido hasta cierto grado como un sustitutivo de carne para la gente nativa de América tropical desde la antigüedad. Tiene un valor nutritivo muy alto así como también un contenido energético importante y es una fuente de antioxidantes, proteína y fibra soluble. Los primeros cultivos comerciales de aguacate fueron plantados en California en los primeros años de los 1900s, en donde fue iniciada la mayor parte de la investigación pionera en tecnología de mantenimiento de cultivos frutales.



Figuras A/B: A la izquierda se observa un explante de hoja de aguacate ya en el medio de cultivo, y a la derecha se puede observar la formación de callo previa a la embriogénesis.



Figuras 1-6. Se puede ver el proceso de la regeneración a partir de embriogénesis: Callo (1), embrión blanco-opaco (2), desarrollo de tallo (3), brote de hojas/generación de raíz (4), y la plántula ya enraizada (5) lista para ser transplantada para la fase de aclimatación (6).

Objetivos

En este trabajo, se analizó la historia del arte con respecto a la propagación y la biotecnología en el cultivo de aguacate y revisó la literatura para encontrar formas novedosas de integrar los nuevos descubrimientos biotecnológicos en transformación, cultivo de tejidos, embriogénesis y otras técnicas para el desarrollo de una forma de producción a gran escala que sea libre y resistente a enfermedades, y obviamente homogénea en estas características. En concreto el objetivo es llevar a cabo cultivos embriogénicos de aguacate y transformarlos con enzimas que le confieren resistencia a ciertas enfermedades y plagas, así como una enzima que controla la vía del etileno así ayudando a tener una mayor vida de anaquel en caso del fruto.



Figura 7. Planta regenerada de 5 meses.



Figura 9. Efecto de utilizar membranas de acetato de celulosa (derecha) versus medio de cultivo sin las membranas (izquierda). La generación de embriones se ve muy potenciada por las membranas.

Figura 10. Se observan los efectos del método de un pas (MSP) versus el cultivo en dos pasos con glutamina alifática (MMSE). Se puede observar un efecto significativo en la proliferación.

RESULTADOS ESPERADOS Y MEJORAS AL PROCESO

Es de esperarse que las transformaciones genéticas sean exitosas y las plantas de aguacate obtenidas sean mayormente resistentes a enfermedades así como que el fruto obtenido de las plantas transformadas tenga una mayor vida de anaquel, sin tomar en cuenta en éste caso los problemas generados post-cosecha provocados por la manipulación y transporte, que también se requiere de investigación en éstos campos ya que interfieren fuertemente en la vida de anaquel. Mejoras al proceso de producción involucran la utilización de membranas de acetato de celulosa para controlar la disponibilidad de agua en el medio de cultivo en la embriogénesis, así obteniendo mayor porcentaje de embriones viables. Así como la inclusión de un método de crecimiento de dos fases entre subcultivos con cambios en el medio de cultivo, una fase para la proliferación y mantenimiento de los embriones y otra segunda fase para la germinación. El hecho de añadir 1 g/l de glutamina en el cultivo secundario mejora diez veces la regeneración de plántulas a partir de éstos embriones.

Métodos

Tecnología de protoplastos

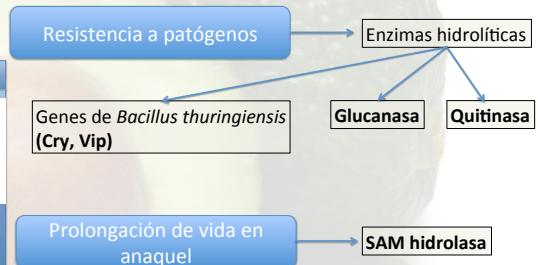
La tecnología de protoplastos es una herramienta fundamental en muchos programas de crianza; pueden ser utilizados para manipulación genética como por ejemplo en la hibridación somática y la transferencia directa de DNA, con la ventaja de que un nuevo genotípico puede desarrollarse de cada protoplasto manipulado; se desarrollan como microcallos y PEMs en medios para crecimiento de plantas.



Embriogénesis Somática/Transformación Genética

La embriogénesis somática es la obtención de embriones a partir de tejido somático de la planta por medio de explantes y su posterior cultivo en el cual se manipulan los factores de crecimiento de las plantas para llevar a las células a una desdiferenciación y totipotencialidad a partir de un callo formado gracias a la manipulación 'hormonal' del medio de cultivo, que posteriormente mediante cambios en el medio se consigue generar la producción de tallos y raíz de éstos embriones consiguiendo plántulas de contenido genético homogéneo y libre de enfermedades gracias a la previa desinfección de los explantes utilizados.

Transformación genética de aguacate utilizando *Agrobacterium tumefaciens* para introducir los genes deseados:



Bibliografía

Duester, K. C. (2001). Avocado fruit is a rich source of beta-sitosterol. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(4), 404-5.

Ercole, C. L., Parisi, A., O'Brien, C., & Mitter, N. (2014). Enhancing somatic embryogenesis in avocado (*Persea americana* Mill.) using a two-step culture system and including glutamine in the culture medium. *Scientia Horticulturae*, 165, 44-50.

Good, Y., Kellogg, J. A., Wagner, W., Langhoff, D., Matsuura, W., & Bestwick, R. K. (1994). Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase. *Plant Molecular Biology*, 26(3), 781-790.

Hofmann, P.P.J., Fuchs, Y., and Milne, D.L. (2002). Harvesting, Packing, Postharvest Technology, Transport and Processing. In: Whiley, A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Eds.), *The Avocado: Botany, Production and Uses*. CABI, Wallingford.

Palomo Ríos, E., Pérez, C., Mercado, J. a., & Pliego-Alfaro, F. (2013). Enhancing frequency of regeneration of somatic embryos of avocado (*Persea americana* Mill.) using semi-permeable membranes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 115(2), 199-2.

Perán-Quesada, R., Sánchez-Romero, C., Barceló-Muñoz, J., & Pliego-Alfaro, F. (2004). Factors affecting maturation of avocados somatic embryos. *Scientia Horticulturae*, 102(1), 61-73.

Pliego-Alfaro, F., Witjaksmono, Barceló-Muñoz, R.E., Litz, U., Lavi, 2002. Biotechnology. In: Whiley, A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Eds.), *The Avocado: Botany, Production and Uses*. CABI, Wallingford.

Raharjo, S., & Litz, R. E. (2003). Rescue of Genetically Transformed Avocado By. *World*, 119-122.

Raharjo, S., Witjaksmono, E., Suárez, I., & Vazquez, J. G. (2003). Genetic transformation of avocado. *Proceedings V World Avocado Congress*, 115-118.

Sánchez-Romero, C., Perán-Quesada, R., Márquez-Martín, B., Barceló-Muñoz, A., & Pliego-Alfaro, F. (2007). In vitro rescue of immature avocado (*Persea americana* Mill.) embryos. *Scientia Horticulturae*, 111(4), 365-370.

Whiley, A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Eds.), 2002. *The Avocado: Botany, Production and Uses*. CABI, Wallingford, pp. 1-14.