BV16

**Efectos de la relación NH4+:NO3- en el medio de cultivosobre el crecimiento de explantes caulinares de *Eucalyptus nitens* en biorrectores de inmersión temporal**

Ayala, P.1; Marcucci Poltri, S. 2; Ayala L.1;Luna, C. 1; Sansberro, P.1

1) Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Genómica Funcional. Instituto de Botánica del Nordeste (CONICET). Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE). Sgto. Cabral 2131. W3402BKG, Corrientes, Argentina. 2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Biotecnología. De Los Reseros y Dr. Nicolás Repetto s/n°. CP 1686, Hurlingham (Buenos Aires), Argentina.

*Eucalyptus nitens*, originario del sudeste de Australia, presenta una elevada plasticidad adaptándose a una amplia variedad de suelos, vislumbrando un crecimiento inicial rápido y una alta tolerancia a heladas. Sin embargo, por un lado, la producción tardía y escasa viabilidad de sus semillas, la convierte en una especie refractaria y por el otro, su carácter recalcitrante que dificulta su propagación por métodos convencionales, limitan la disponibilidad de germoplasma que reúnan características superiores para el mejoramiento de la especie y el establecimiento de plantaciones que permitan aumentar su competitividad en la industria forestal.

La composición química del medio de cultivo determina en gran medida la brotación de las yemas axilares y ulterior crecimiento de los brotes resultantes. En este sentido, tanto el contenido como formas de nitrógeno que se emplean para alcanzar una formulación mineral equilibrada incidirán en el proceso morfogénico. Sales de amonio (NH4+) y nitrato (NO3-) son adicionadas usualmente al medio de cultivo como fuente nitrogenada variando su consumo según las especies. El objetivo del presente trabajo fue identificar la relación óptima NH4+:NO3- que promueva el crecimiento y desarrollo de segmentos caulinares de *E. nitens* cultivados en biorreactores de inmersión temporal.

A tal fin, segmentos plurinodales de plántulas obtenidas por germinación *in vitro* de semillas fueron cultivados (10 explantes por recipiente) en un medio basal compuesto por las sales minerales y vitaminas de Murashige y Skoog (1962), en su formulación original (MS) o diluido al 50% (MS/2), modificándose la proporción iónica entre NH4+ y NO3- (20:40) a fin de alcanzar las relaciones 0:60, 10:50, 20:40, 30:30, 40:20, 50:10 y 60:0. El medio de cultivo fue adicionado con dos concentraciones de sacarosa (15 y 30 gr·L-1). Asimismo, medios que contenían las relaciones NH4+:NO3- 20:40 y 10:50 fueron a su vez suplementados con bencilaminopurina 0,1mg·L-1. Los cultivos fueron incubados en condiciones de luz (fotoperíodo: 14 h, PAR: 116 μmol·m-2·s-1)y temperatura (27±2 °C) controlada; empleándose un tiempo de inmersión de 1 min y una frecuencia de 4 hs.

Transcurridos 40 días de incubación pudo observarse que las distintas proporciones iónicas estudiadas no evidenciaron una mejora en los parámetros evaluados respecto a la relación original 20:40. Si bien, un mayor nivel de sacarosa (30 gr·L-1),determinó un incremento del número de brotes diferenciados por explante y un mayor número de hojas, aumentó la tasa de vitrificación (16,8±7,3%), causando severos desórdenes fisiológicos que comprometen la calidad y sobrevivencia de las vitroplantas. El uso de MS/2 con idéntica concentración de sacarosa estimula el alargamiento del tallo principal (17,2±8,3 mm), sin desencadenar el proceso deletéreo de hiperhidratación. La ausencia de vitrificación favoreció la formación de brotes vigorosos aptos para las siguientes fases de la micropropagación.