

ESTABLECIMIENTO DE UN BANCO DE GERMOPLASMA *IN VITRO* EN LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

María Elena Quintana-Sierra*, Gloria Solares-Díaz y Reynoldez Vicente Barragán-Hidalgo

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

*maquinsi88@gmail.com

Resumen

La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES Cuautitlán), UNAM, reúne elementos importantes para el establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro*. El objetivo es proporcionar una alternativa de conservación para diferentes especies vegetales por medio de la técnica de cultivo *in vitro*. Su función será establecer y mantener una colección de material vegetal mediante cultivo de tejidos de plantas en crecimiento activo. Como parte de las actividades educativas y de investigación, el laboratorio de Bioquímica y Fisiología Vegetal, aprovechando las ventajas que ofrece la técnica de cultivo *in vitro* y la necesidad de contar con un espacio de conservación, manejo y protección de especies en estado de riesgo, ha iniciado la tarea de establecer un banco de germoplasma *in vitro* de especies vegetales. La Facultad cuenta con un Jardín Botánico que concentra siete colecciones de plantas. Actualmente, el acervo del banco de germoplasma *in vitro* es de más de 30 especies establecidas entre cactáceas, suculentas, insectívoras, orquídeas, entre otras. De aquí que la fuente de material vegetal es el Jardín Botánico de la FES Cuautitlán. Sin embargo, establecerlas no es suficiente, también es necesario contar con un programa de mantenimiento permanente y desde luego considerar el establecimiento de

protocolos de aclimatación en condiciones de invernadero (*ex vitro*). Estas actividades permitirán la planeación de proyectos semestrales y de tesis para los estudiantes. Además, la FES Cuautitlán contará con un centro de conservación, conocimiento e investigación vegetal no solo para la comunidad estudiantil, sino para productores y responsables de reservas o áreas protegidas para el mantenimiento y el aprovechamiento de recursos fitogenéticos.

Palabras clave: Conservación, cultivo *ex vitro*, colección, especies en riesgo, recursos fitogenéticos.

Introducción

Como vías de conservación de especies vegetales están los Jardines Botánicos (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (2012), las áreas protegidas, los bancos de semillas del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), el banco de germoplasma del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI), el banco de Recursos Genéticos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), entre otros. Los bancos de germoplasma son espacios especializados que concentran colecciones muy diversas de recursos fitogenéticos, cuya finalidad es la conservación a largo plazo y la disponibilidad de germoplasma a fitomejoradores, investigadores y otros usuarios. Los bancos de cultivo *in vitro* permiten el almacenamiento de plántulas por un periodo de tiempo medio, en el caso de especies de interés agrícola, pero en plantas de ornato por un periodo más prolongado sin afectar su desarrollo normal (FAO, 2014). La FES Cuautitlán cuenta con un Jardín Botánico desde 1992; éste es un recinto clave para la conservación *ex situ* de diversas especies ya que cuenta

con 7 colecciones, entre ellas podemos mencionar el arboretum, plantas acuáticas, plantas ornamentales, plantas medicinales, plantas tropicales, así como la colección de cactáceas que es la mejor representada. El equipo de trabajo del laboratorio de Bioquímica y Fisiología Vegetal de la carrera de Ingeniero Agrícola, como parte de sus actividades de formación para los estudiantes mediante la educación formativa disciplinaria y de investigación, emprendió la iniciativa de establecer un banco de germoplasma de cultivo *in vitro* como una vía de conservación de la biodiversidad vegetal. Debido a la restricción en la recolección de diversas especies vegetales, entre ellas diversos géneros de cactáceas y orquídeas, la mayor parte del material vegetal que se ha propagado se obtiene precisamente del Jardín Botánico, en cumplimiento con la Norma Oficial Mexicana NOM059-SEMARNAT-2010 (NOM059). El cultivo *in vitro* presenta ventajas para la obtención de material libre de enfermedades, así mismo, permite la concentración de cantidades importantes de material en espacios reducidos y en condiciones controladas. La micropropagación ha sido una de las aplicaciones prácticas comprobadas que se han insertado en los programas de mejoramiento para la propagación de clones de alto valor genético y con fines de conservación (Daquinta, 2000; Quiala *et al.*, 2004; Ávila y Salgado, 2006; Mayo *et al.*, 2010). Diversas especies vegetales han sido sometidas a procesos de establecimiento y micropropagación *in vitro*, por ejemplo: orquídeas como *Laelia eyermaniana* (Francisco *et al.*, 2011), *Encyclia adenocaula* (Ruíz *et al.*, 2008), especies del género *Mammillaria* (Ramírez *et al.*, 2019), *Mammillaria plumosa* (Téllez *et al.*, 2017), por mencionar algunas. La FES Cuautitlán no cuenta con un banco de esta naturaleza, por lo que con esta iniciativa se sumaría al banco de germoplasma *ex situ* del Jardín Botánico. Este espacio de conservación brindará a la comunidad estudiantil un recurso para la realización de prácticas y proyectos experimentales semestrales, además, la oportunidad de realizar actividades educativas de capacitación para servicio social y de

investigación a través del desarrollo de tesis, y desde luego, para crear conciencia de la importancia de la conservación y rescate de especies en algún estatus de riesgo, extendiéndose hasta la comunidad externa de la institución como productores y responsables de reservas o áreas protegidas para la protección y el aprovechamiento de recursos fitogenéticos.

Objetivo

Proporcionar una alternativa de conservación e investigación para diferentes especies vegetales mediante el establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro*.

Metodología

La selección del material donante de explantes consistió en plantas adultas en edad reproductiva, sanas y con un buen desarrollo. Los explantes pueden ser semillas o bien, porciones de la planta como tallo, hoja o raíz.

El proceso de establecimiento comprende 5 etapas:

Etapas:

Etapas 1. Selección del explante. El proceso de selección se realizó con los siguientes criterios: Número de accesiones, problemas en la producción de semillas de cada especie, edad y vigor de la planta, buen desarrollo, sin signos de enfermedad.

Etapas 2. Protocolo de desinfección. Se desinfectaron los explantes con agentes bactericidas (hipoclorito de sodio) y fungicidas (Captán), variando tiempo y

concentración. El proceso de desinfección se realizó aplicando los protocolos estandarizados en el laboratorio de acuerdo con la especie.

Etapa 3. Establecimiento in vitro. Los protocolos usados fueron estandarizados en el laboratorio en estudios previos. La siembra y el trasplante se realizaron en condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar. El medio-base utilizado fue el Murashige and Skoog (MS) (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo utilizados *in vitro*.

Medio	MG		MBC		ME	
	Semillas	Brotos	Callo	Insectívoras y orquídeas	Cactáceas	
Sales MS %	25		25	50		50
Sacarosa gL ⁻¹	30	30	30	30		30
Kin mg L ⁻¹	0	0	0	0		2
AIA mg L ⁻¹	0	0.5	1.0	0		0
ANA mg L ⁻¹	0	0	0	0		1
BA mg L ⁻¹	0	1.0	0	0.3		0
Gelificante g L ⁻¹	7.0	7.0	6.8	6.8		6.8
pH	5.8	5.8	5.8	5.8		5.8
Carbón activado g L ⁻¹	0	0	0	0.5		0.5
Esterilización	autoclave a 1.05 Kg cm ⁻² y 121 °C durante 15 min					

MS, Murashige and Skoog (1962); Kin, Cinetina; AIA, ácido indol 3 acético; ANA, ácido naftalen acético; BA, benciladenina; MG, medio para germinación; MBC, medio para inducción de brotes y callo; ME, medio para establecimiento.

Etapa 4. Incubación. Las condiciones de incubación fueron: 26 ± 2 °C de temperatura, fotoperiodo de 16 horas luz con una intensidad lumínica de 1900-2300 luxes provenientes de lámparas led, con un consumo de 24 watts a una distancia del material de 30 cm.

Etapa 5. Trasplante y mantenimiento. En esta etapa el material se mantuvo con trasplantes periódicos de 4 a 8 semanas, según la especie.

Para todas las especies en estudio, las plantas se transfirieron a un medio fresco sin reguladores para fortalecer la raíz y la plántula. Cuando hubo presencia de callo, este se transfirió a un medio con ácido indol acético (AIA) (Tabla 1) para mantenerlo en crecimiento activo.

Resultados

En virtud de que la fuente del explante fue muy variada y la selección estuvo en función de la disponibilidad según la especie, las repeticiones fueron diferentes: orquídeas 10, cactáceas tallo o mamila 5, semillas 5 (lotes de 10 a 40), insectívoras 20. Los resultados de porcentaje de contaminación, germinación, presencia de brotes y callo se muestran en la Tabla 2. Como se observa, la respuesta depende de la especie y del tipo de explante. Para el establecimiento *in vitro* no se aplicó ningún análisis estadístico ya que son pruebas preliminares.

Tabla 2. Resultados de porcentaje de contaminación, germinación, presencia de brotes y formación de callo.

Explante	Semillas	Cápsulas de orquídeas	Porción de tallo cactácea	Areola cactácea	Hoja insectívora
Contaminación	10	0	20	20	0
Germinación (días)	7	20 a 40			
Germinación (%)	100	100			
Presencia de brotes (semanas)			12	16	4 a 8

Formación de callo (semanas)	12	18
------------------------------	----	----

Discusión

La eliminación de contaminación en un 100% en el medio de cultivo para cápsulas inmaduras de orquídeas también fue reportada por Ruiz *et al.* (2008). Esta técnica resulta práctica y económica en contraste con las utilizadas por otros investigadores que incluyen solución de hipoclorito de sodio, jabón o detergente Tween 20, peróxido de hidrógeno, e inclusive fungicida para tratar cápsulas (Aguilar y López, 2013; Aguilar *et al.*, 2016). A diferencia de Ruíz *et al.* (2011), quienes reportan el 81% de germinación en un tiempo de 23 a 40 días en Cactáceas, esta se obtuvo a los 7 días en un 100%. Por otro lado, al utilizar el medio MS al 25% para la germinación de semillas tanto de cactáceas como para orquídeas, se reducen los costos de su establecimiento, a diferencia de otras investigaciones en las cuales se ha utilizado MS al 100% (Aguilar y López, 2013; Aguilar *et al.*, 2016). En el caso de explantes provenientes de partes vegetativas, la formación de brotes se observó entre 4 a 8 semanas en insectívoras, dependiendo de la especie, y hasta 12 semanas en cactáceas.

Conclusión

Hasta el momento se cuenta con un acervo de 30 especies entre orquídeas, insectívoras, suculentas y cactáceas establecidas en condiciones de cultivo *in vitro*. Los protocolos de desinfección fueron efectivos para semillas de cactáceas y cápsulas de orquídeas. Se registró un alto porcentaje de germinación en orquídeas y moderado en cactáceas, logrando su establecimiento en

condiciones *in vitro*. Se lograron reducir los costos con el medio MS al 25% y sin reguladores de crecimiento para la etapa de germinación y para la etapa de inducción y establecimiento con medio MS al 50%. Estos protocolos de establecimiento permitieron generar material vegetal en crecimiento activo en condiciones *in vitro* como fuente de germoplasma.

Referencias

- Aguilar, M., López, E. (2013). Germinación *in vitro* de *Laelia spesiosa* (Kunth) Schltr, una herramienta para su conservación *ex situ*. Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas. S. Recuperado el 6 de septiembre de 2021 de: <http://digital.commons.unLedul/hidalgo/S>
- Aguilar, M.M.A., Laguna, C.A., Vences, C.C., Lee, E.H.E. (2016). Análisis de semillas de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae) para su conservación *ex situ*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(7): 1741-1747.
- Castillo, P.L.J., Martínez, S.D., Maldonado, M.J.J., Alonso, C.A.J., Carranza, A.C. (2009). The endemic orchids of Mexico: a review. *Biología*, 74: 1-13.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2012). Estrategia Mexicana para la Conservación Vegetal 2012-2030. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*, México. 48-51.
- Daquinta, G.M.L., Lezcano, R., Escalona, M. (2000). Algunos elementos en la micropropagación de la Teca. *Bioteología Vegetal*, 1: 39-44.
- FAO. (2014). *Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura*. Edición revisada. Roma.
- Francisco, N.J.J., Jiménez, A.A.R., Jesús, S.A., Arenas, O.M.L., Ventura, Z.E., Evangelista, L.S. (2011). Estudio de la morfología y aclimatación de plantas de *Laelia eyermaniana* RCHB. f. generadas *in vitro*. *Polibotánica*, 32: 107-117.
- Jiménez S., C.L. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Revista Digital Universitaria*, 12(1): 1-23.

Mayo, M.A., Cázares, C.J.G., De La Cruz, L.E., Flores, H.A. (2010). *Germinación in vitro de Semillas y Desarrollo de Plántulas de Orquídeas Silvestres de Tabasco*. Primera edición. División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México. 35 pp. ISBN: 978-607-7557-30-2.

Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15: 473-497.

Quiala, E., Montalvo, G., Matos, J. (2004). Empleo de la Biotecnología vegetal para la propagación de cactáceas amenazadas. *Biotecnología Vegetal*, 4(4): 195-199.

Ramírez, G.G., Rodríguez de la O, J.L., Martínez, S.J., Colinas, L.M.T. (2019). Germinación y Crecimiento *in vitro* e *ex vitro* de cinco especies de cactáceas del género *Mammillaria*. *Polibotánica*, 48: 99-110.

Ruiz, G.S.P., Rojas, A.M., Mandujano, M.C. (2011). Descripción morfológica y germinación de las semillas de *Echinomastus unguispinus*, *Cactáceas y Suculentas mexicanas*, 56: 36-44.

Ruiz, B.C., Laguna, C.A., Iglesias, A.L.G., Damon, A., Marín, H.T.N.J., Azpíroz, R.H.S., Moreno, M.J.L. (2008). Germinación *in vitro* de semillas de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae) seeds. *Phyton*, 77: 203-215.

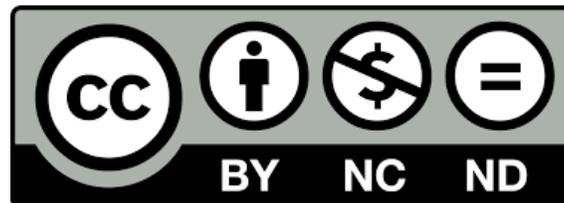
Téllez, R.J., López, P.M.C.G., Hernández, M.E., Estrada, L.A.A., Zavaleta, M.H.A., Livera, M.M. (2017). Morfogénesis *in vitro* de *Mammillaria plumosa* Weber. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4): 863-876.



D. R. © UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Excepto donde se indique lo contrario esta obra está bajo una licencia Creative Commons Atribución No comercial, No derivada, 4.0 Internacional (CC BY NC ND 4.0 INTERNACIONAL).

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



ENTIDAD EDITORA

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Av. Universidad 3000, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

FORMA SUGERIDA DE CITAR:

Quintana-Sierra, M. E., Solares-Díaz, G., y Barragán-Hidalgo, R. V. (2021). Establecimiento de un banco de germoplasma in vitro en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. *MEMORIAS DEL CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA (CONATEC)*, Año 4, No. 4, septiembre 2021 - agosto 2022. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
https://tecnicosacademicos.cuautitlan.unam.mx/CongresoTA/memorias2021/memcart2021_paper5.html