



Técnicas de micropropagación *in vitro*

La micropropagación es una técnica con distintos protocolos que se van estructurando para las diferentes especies de plantas, lo que conlleva a realizar un trabajo arduo (meses o años) para poder obtener resultados tangibles. Dependiendo las necesidades de la investigación se puede establecer el protocolo para dicha especie (Figura 1), ya sea la producción de callogénesis (con fines farmacéuticos), organogénesis (para realizar evaluaciones de biología molecular con respecto a cambios presentes en las vitroplantas) o bien producción de nuevos ejemplares (para conservación de la especie).

Esta técnica representa una herramienta internacional muy importante, desarrollada desde 1950. Destaca por permitir la selección,

cruzamiento (mejora genética), control uniforme de enfermedades (bacterias, hongos, virus e insectos), control de factores como luz, humedad y temperatura (en cualquier época del año) y producción en masa de cultivos, dentro de un espacio reducido. Cabe mencionar que, existen algunas desventajas, como son: costos elevados de los materiales, variaciones somaclonales (mutaciones) en los explantes, falta de respuesta y fallas técnicas en el centro de estudio.

Las plantas son totipotentes, por presentar células autosuficientes con capacidad de regenerar una planta completa, con las características fenotípicas que presenta la planta madre. En la micropropagación el medio de cultivo debe de contener los nutrientes, tal como

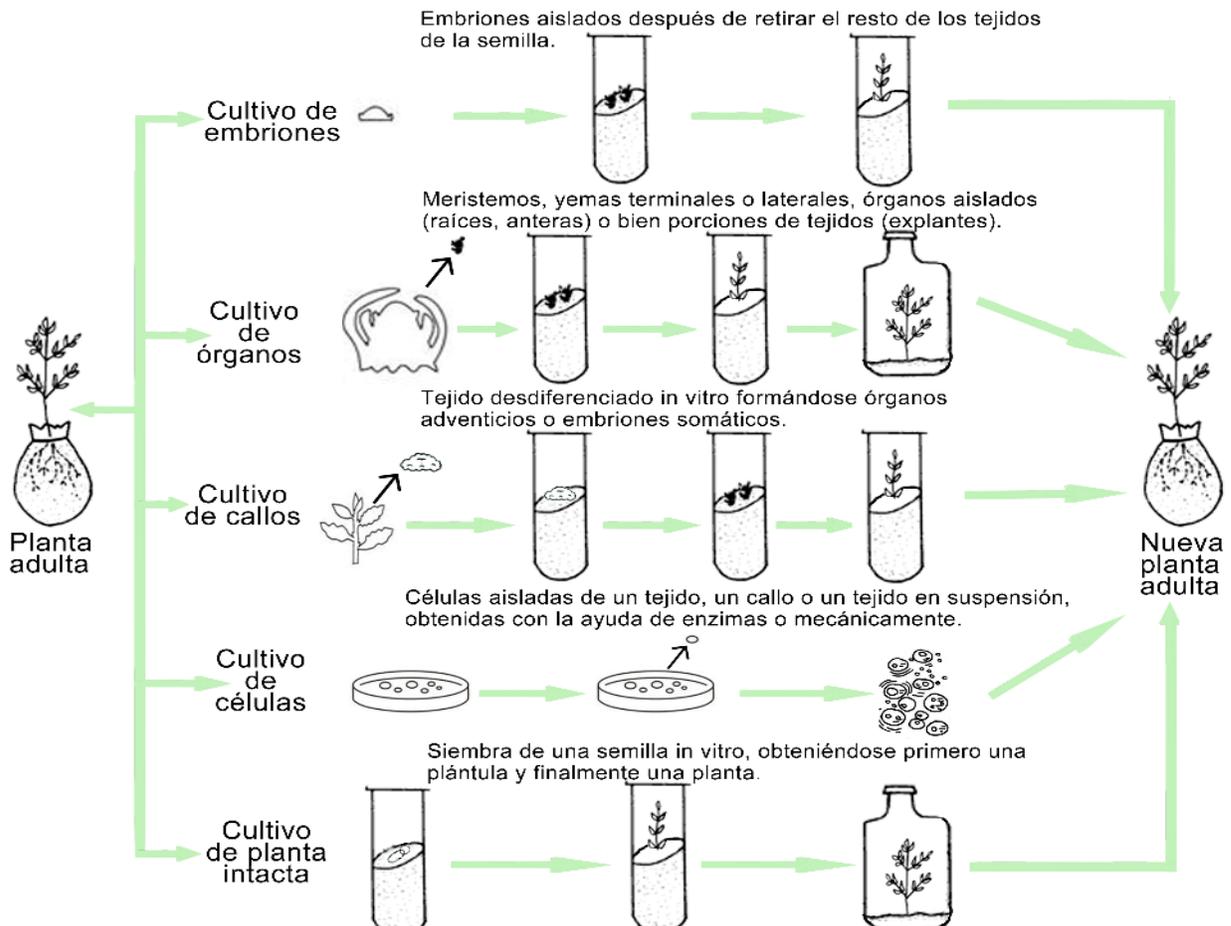


Figura 1. Técnicas de micropropagación. Elaborada por: Maryela Celaya Rosas.



lo requiere la planta cuando se encuentran en el suelo. Los macronutrientes (C, H, N, O, S, Mg, Ca, K, P) y micronutrientes (Fe, Mo, Ni, Cu, Zn, Mn, B) son agregados en pequeñas cantidades y de acuerdo con el medio de cultivo varía de acuerdo con la composición agregando agregado Co y I, como también Na⁺ o Cl⁻ o bien otros iones.

En la actualidad, se cuenta con diferentes tipos de medios de cultivo tales como: Medio White (White, 1963), Medio SL (Linsmaier y Skoog, 1965), Medio B5 (Gamborg et al., 1968), Medio NN (Nitsch y Nitsch, 1969), Medio MS (Murashige y Skoog, 1962) y Woody Plant Medium WPM (Trigiano, 2011). Estos se utilizan en función de la especie, tipo de planta y/o disponibilidad de los reactivos; además, cada medio de cultivo se puede manejar al 100 o 50% de la constitución de sus sales. Entre los medios de cultivo más usados se encuentra el MS, éste es empleado comúnmente para plantas herbáceas, mientras que en WPM, es para plantas leñosas o perennes.

Las plantas, por naturaleza, sintetizan reguladores hormonales (también conocidos como fitohormonas), que actúan en actividades metabólicas garantizando la homeostasis intra y extracelular. Existen diferentes familias o tipos de reguladores de crecimiento vegetal, donde cada grupo de fitohormonas tiene diferentes efectos a nivel vegetal o celular; en la micropropagación se utilizan: auxinas, giberelinas, citoquinas, ácido abscísico, polaminas, ácido salicílico, ácido jasmónico y derivados, etileno, brasinoesteroides y estrigolactonas. Estos grupos, a su vez, cuentan con subgrupos o variedades.

Las fitohormonas vegetales más utilizadas en relación las auxinas son: Ácido (ác.) 3-indolacético (AIA), Ác. Naftalenoacético (ANA), Ác. Indolbutírico (AIB), Ác. 4-amino-3,5,6-tricloropico-línico (Picloran) y Ác. Naftoxiacético (ANO). Mientras que en el grupo de las citoquininas se encuentran: Kinetina 6-furfurilaminopurina (KIN), 6-benzilaminopurina (BAP), 6-benziladenina (BA), 2Ip sopentiladenina, Zeatina (ZEA) y Tidiazurón 1-fenil-3(1,2,3-tidiazol-5il) urea (TDZ). En giberelinas se encuentran: 2,4a,7-trihidroxi-1-

metil-8-metilen-gib-3-ene1,10-ácido carboxílico-1,4-lactona (GA₃), entre otras.

Cabe señalar que es necesario realizar un barrido fitohormonal, es decir, utilizar diferentes concentraciones de la fitohormona a evaluar. Posteriormente de acuerdo con los resultados obtenidos, se decide la realización de una combinación fitohormonal, utilizando dos o más fitohormonas, para evaluar el efecto en conjunto. Es importante recordar que no se debe realizar combinaciones entre dos fitohormonas de un mismo grupo (por ejemplo, dos tipos de auxinas) puesto que puede generar intoxicación en el tejido celular.

La diferenciación celular se realiza de manera organizada o por medio de organogénesis, es decir puede ser directa si se forma directamente del explante o indirecta si existe una etapa intermedia y se forma a partir de callos. Dentro de la micropropagación se conocen cinco etapas o fases que son 1: Desinfección de las yemas de la planta y/o desinfección de semillas. 2: Introducción del material seleccionado in vitro. 3: Multiplicación de brotes. 4: Enraizamiento. 5: Aclimatación.

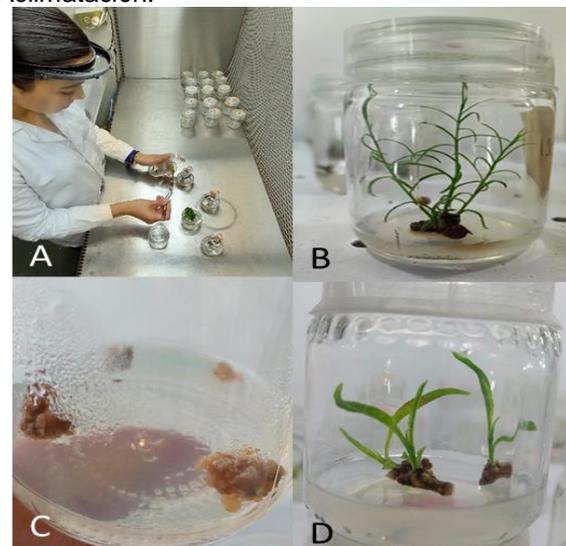


Figura 2. A) Siembra de tejidos vegetales. B) Cultivo de planta intacta. C) Cultivo de callos. D) Cultivo de órganos.

Maryela Celaya-Rosas, Diana M. Mc Caughey-Espinoza. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. diana.mccaughey@unison.mx