

# La Germinación *In Vitro* una Alternativa para Obtener Explantes en Cactáceas

BIOL. LUCÍA CUÉLLAR CHÁVEZ, MC. MA. EUFEMIA MORALES RUBIO<sup>(\*)</sup>, MC JAIME FCO. TREVIÑO NEÁVEZ

DEPTO. DE BIOLOGÍA CELULAR Y GENÉTICA, FAC. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UANL.

<sup>(\*)</sup>Email: mmorales1132000@yahoo.com

## RESUMEN

Las cactáceas revisten importancia en muchos sentidos y su uso se extiende desde las regiones áridas de México hasta las tropicales y semitropicales de Centroamérica; son apreciadas como ornato, por ser medicinales, por su rareza y dificultad para conseguir, o bien por comestibles; estas características propiciaron que algunas especies estén en riesgo, por lo que se han implementado programas mediante cultivo de tejidos, para establecer protocolos para su recuperación, sin embargo la morfología propia de las cactáceas dificulta la obtención de explantes asépticos.

Se germinaron semillas de *Hylocereus undatus*, *Stenocereus griseus*, *S. queretaroensis* y *S. gummosus* en medio Murashige y Skoog 1962, adicionado con Bencilaminopurina y Kinetina, en una proporción (2:1 miligramos/litro); las semillas fueron obtenidas de frutos maduros y desinfectadas y colocadas en frascos de 250 ml con el medio especificado, se mantuvieron las condiciones de luz (12 horas) y temperatura constantes (24 a 26°C).

*S. queretaroensis* presentó un 84% de germinación, *S. gummosus* 60%, *S. griseus* un 15.2% y para *H. undatus* un 12.9%. Se concluye que es posible la obtención de explantes asépticos de *S. queretaroensis*, *S. griseus*, *S. gummosus* e *Hylocereus undatus* en un medio Murashige y Skoog 1962 adicionado con Bencilaminopurina y Kinetina (2:1 miligramos/litro).

Palabras Clave: Cultivo *in vitro*, cactáceas, reguladores de crecimiento.

## ABSTRACT

*Cacti are an important group of plants used in arid, tropical and semi-tropical regions of Mexico and Central America, and are appreciated for a lot of uses. For this reason, this species are in danger, and new protocols in tissue culture, are will be implement to recover it, but an important problem to obtain aseptic explants its their morphology*

*Seeds of *H.undatus*, *S.griseus*, *S.gummosus* and *S.queretaroensis* were germinated in Murashige and Skoog 1962 medium, also Benzilaminopurine and Kinetin were added in a (2:1 miligram/liter) ratio. The seeds were obtained from ripe fruits and were sterilized, and were placed in jars (250 ml, with medium ), and were kept in a constant light (12 hours) and temperature (24 – 26°C). The best results were obtained with *S.queretaroensis* with an 84% germination and *S.gummosus*60%, which indicates a good response to the medium used, while *S.griseus* had a 15.2% and *H.undatus* had a 12.9%. We concluded that it is possible to obtain aseptic explants of *S.queretaroensis*, *S.griseus*, *S.gummosus* and *H.undatus* in a Murashige and Skoog (1962) medium added with Benzilaminopurine and Kinetin (2:1 miligram/liter).*

*Key Words: Tissue culture, cacti, growth regulators*

En particular en México, en los últimos años, una de las alternativas más exitosas para recuperar especies en riesgo o peligro de extinción, es la técnica de cultivo de tejidos vegetales. Muchas especies de cactáceas por ser tan cotizadas por sus diversos usos están en peligro o riesgo de extinción, y uno de los problemas que frecuentemente enfrentamos al implementar la técnica de cultivo de tejidos es la obtención y desinfección de explantes, ya que en ocasiones no se dispone del material vegetativo, o bien este puede tener un alto grado de contaminación en el medio natural donde se encuentra, y aunado a la morfología que presentan las cactáceas, es difícil eliminar los contaminantes, por lo que las semillas son una muy buena alternativa para obtener explantes en condiciones asépticas, al inducir su germinación *in vitro*, de este modo, de las pequeñas plántulas obtenidas se utilizan sus tejidos como explantes para la formación de callos, brotes o plántulas. (Comparán & Luna 1994). Las especies trabajadas en el presente estudio, tienen un amplio uso en las regiones áridas, tropicales y semitropicales de México y Centroamérica donde se cultivan en forma semintensiva, y son apreciadas por sus frutos comestibles, usos medicinales, etc. (Bravo & Sánchez, 1978 y Bravo & Scheinvar, 1995). Dodds & Lorin (1986), hacen hincapié en que una de las etapas esenciales para la micropropagación de cualquier especie es la obtención del cultivo aséptico, lo que se logra implementando diferentes técnicas para eliminar todo patógeno del explante. Los procedimientos varían de acuerdo al tipo de explante y especie trabajada.

La germinación *in vitro* tiene ventajas respecto a la producida en condiciones naturales: Puede solucionar casos de inhibición total de la germinación, permitir la germinación de semillas con intermediario obligado, aumentar la tasa de germinación, evitar el aborto embrionario, reducir el tiempo necesario y sincronizar la germinación. (<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.html>)

Infante (1992), desarrolló brotación y callos embriogénicos de pitahaya amarilla (*Melocactus coccineus*) a partir de plántulas provenientes de semillas germinadas en medio MS con sales minerales, para la brotación utilizó BA (Benciladenina) y NAA (Ácido Naftalenacético) y para la inducción de callo NAA.

Morales (2000), desinfectó semillas de *H. undatus* siguiendo la siguiente técnica: lavado en agua corriente, inmersión en etanol absoluto por 5 seg., inmersión en una solución de Hipoclorito de sodio comercial a 10% v/v, con Tween 20 por 10 min., se enjuagaron con agua destilada esterilizada y se sembraron en agar (7g/L), obteniendo un alto porcentaje de germinación y al subcultivar las plántulas a medio MS con BAP (Bencilaminopurina) (2mg/L) y K(Cinetina) (1 mg/L) se desarrolló una intensa brotación.

Padilla, *et al.* (1995), utilizaron plántulas germinadas *in vitro* como explantes para micropropagar *Echinocereus pectinatus*, en medio MS adicionado con NAA y BAP por separado, el mejor resultado se obtuvo con BAP a concentraciones de 0,03 y 0,08 mg/L.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se germinaron semillas de *H. undatus*, *S. griseus*, *S. gummosus* y *S. queretaroensis*, en medio Murashige y Skoog 1962, adicionado con BAP 2 mg/L y K 1mg/L; las semillas fueron obtenidas de frutos maduros y para su desinfección se lavaron en agua corriente, luego se pasaron a una inmersión rápida en alcohol etílico absoluto (10 seg), después a una solución de Hipoclorito de sodio comercial a 15% v/v, con Tween 20 por 15 min y posteriormente fueron enjuagadas con agua estéril dentro de la campana de flujo laminar. Las semillas se colocaron en frascos de 250 ml con medio y se mantuvieron las condiciones de luz y temperatura constantes (12h luz y 24 a 26°C).

## RESULTADOS

El protocolo de desinfección de las semillas de las cuatro especies fue exitoso, ya que no se tuvo contaminación en ningún tratamiento. El procedimiento empleado fue muy similar al de Morales (2000).

Los resultados obtenidos muestran una marcada diferencia en los porcentajes de germinación y en el desarrollo para cada una de las especies. Los porcentajes de germinación para cada una de las especies al final de la toma de datos fueron los siguientes: para la especie *H. undatus* se obtuvo un porcentaje de 12.9%, para *S. griseus* 15.2%, *S. gummosus* 60% y para *S. queretaroensis* 84.1%.

En cuanto al desarrollo de la plántula cada especie presentó diferentes respuestas, para *H. undatus* las plántulas formadas presentaron oxidación, los brotes fueron largos, delgados y cloróticos, sin embargo, al subcultivarlas a un medio diferente, estos mostraban recuperación (Figura 1a). *S. griseus* (Figura 1b) aún cuando el porcentaje de germinación es bajo, los brotes tienen un crecimiento vigoroso, desdiferenciándose a callo, *S. gummosus* (Figura 1c) y *S. queretaroensis* (Figura 1d), desarrollaron brotes vigorosos y de un color verde intenso que al subcultivarlos en otros medios, continuaron su desarrollo o formaron callo (Figura 1e). *S. queretaroensis* fue aclimatado a condiciones de laboratorio y presentó un 50% de sobrevivencia (Figura 1f).

El bajo porcentaje de germinación en *S. griseus* e *H. undatus* puede ser debido a la concentración y tipo de citocininas presentes en el medio, ya que como lo mencionan López EC, & Padilla GI en <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.html> los reguladores de crecimiento, son los responsables de controlar (inhibir/inducir) la germinación de las semillas.

Morales (2000), y Dodds y Lorin (1986) recomiendan el empleo de plántulas germinadas en forma aséptica para la micropropagación, principalmente debido al bajo grado de contaminación del material vegetal empleado, mismo parámetro que pudimos corroborar en nuestro bioensayo.

Morales (2000), recomienda una técnica para la desinfección de las semillas, la cual en este trabajo se modificó en cuanto a tiempos de exposición a los desinfectantes, teniendo 0% de contaminación.

Por otra parte, adicionar al medio MS reguladores de crecimiento como BAP y K como lo recomienda Infante (1992), parece acelerar la germinación y desarrollo en *S. queretaroensis* y *S. gummosus*, pero no en *Hylocereus undatus*, y *S. griseus*.

La germinación y desarrollo de semillas de las especies *S. griseus*, *S. queretaroensis*, *S. gummosus* e *Hylocereus undatus* en un medio MS adicionado con BAP y K en una proporción 2:1 mg/l., muestran diferentes tiempos de germinación y desarrollo; sin embargo es factible usar esta técnica para la obtención de explantes asépticos.

#### LITERATURA CITADA

- Bravo Hollis H. & H. Sánchez Mejorada. 1978.** Las Cactáceas de México. Vol. I Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Bravo Hollis H. & L.Scheinvar 1995.** El interesante mundo de las Cactáceas. CONACYT y Fondo de Cultura Económica. México D.F.
- Comparan Sánchez S & J. Luna Martínez 1994.** Aplicación de la Técnica de cultivo in vitro de tejidos para la propagación de las especies *Echinocereus delaetii* y *Pelecypora aselliformis*. Memorias del Primer Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. México D.F. Pág. 65.
- Dodds H.J. & W.R. Lorin 1986.** Experiments in plant tissue Culture. Cambridge University Press. London England. Second Edition.
- Infante Rodrigo. 1992.** “*In vitro*” axillary shoot proliferation and somatic embryogenesis on yellow pitaya *Mediocactus coccineus* ( Salm-Dyck). Plant cell tissue and organ culture. 31(2): 155-159.
- Morales Rubio M.E. 2000.** Inducción de germinación, crecimiento de plántula y cultivo “*in vitro*” de pitahaya *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton and Rose. Tesis de Maestría, Especialidad en Botánica. Fac. de C. Biológicas. UANL.
- Murashige T. & F. Skoog 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant. 15: 473-497.
- Padilla Reyes J. L., H Silos Espino & L. Valera Montero 1995.** Respuesta “*in vitro*” de *Echinocereus pectinatus* a dos reguladores del crecimiento NAA y BAP. Memorias del II Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Aguascalientes Ags. México. Pág. 55.
- <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.html>**

Figura 1a



Figura 1b



Figura 1c



Figura 1d

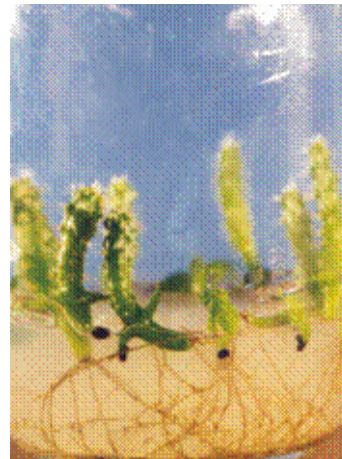


Figura 1e



Figura 1f

