








# Ventajas de la propagación *in vitro* en cultivares introducidos de zarzamora (*Rubus* spp.) a partir de meristemos

Vélez-Torres, Marcelina<sup>1</sup>; Cruz-Gutiérrez, Esmeralda Judith<sup>2</sup>; Gómez-Reyes, Luis Alberto<sup>2</sup>; De la O-Olán, Micaela<sup>3</sup>; Muratalla-Lua, Alfonso<sup>1</sup>; Rodríguez-Elizalde María de los Ángeles<sup>4</sup>; Calderón-Zavala, Guillermo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco Km 36.5. Montecillo, Texcoco, México. C. P. 56264.

<sup>2</sup> INIFAP-CNRG, Tepatitlán, Jalisco. Boulevard de la biodiversidad 400. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. C. P. 47600.

<sup>3</sup> INIFAP-CEVAMEX, Estado de México. Carretera Texcoco-Los Reyes Km 13.5. Coatlinchan, Texcoco, México. C. P. 56250.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Carretera México-Texcoco Km 38.5. Chapingo, Texcoco, México. C. P. 56230.

\* Autor para correspondencia: cazagu@colpos.mx

## Problema

La planta de zarzamora (*Rubus* spp.) puede ser propagada en forma sexual o asexual, su reproducción por semilla es generalmente con fines de mejoramiento genético, sin embargo, la multiplicación vegetativa es de suma importancia ante las siguientes situaciones: cuando es necesario mantener las características idénticas a las de la planta madre; al realizar saneamiento para producir plantas libres de virus y patógenos; o al demandar producción de plántula propagada en menor tiempo y a gran escala. La propagación mediante el cultivo de tejidos *in vitro* de zarzamora es una excelente opción para satisfacer tales necesidades. Sin embargo, un problema serio que se presenta esta técnica es durante la fase de establecimiento, ya que se presenta una alta contaminación del material vegetativo tomado como explante, a pesar de utilizar diferentes tratamientos durante la etapa de desinfección y aun cuando se tenga certeza de que el mantenimiento de la planta madre donadora haya sido realizado bajo condiciones de invernadero con las medidas adecuadas de sanidad. Tal problema de contaminación se observó en los cultivares introducidos de uso libre de zarzamora: Choctaw, Cheyenne, Shawnee, Ebano, Apache y Kiowa al tratar de micropropagarlos a partir de microestacas y la respuesta entre cultivares fue similar con un porcentaje de contaminación del 80%.

**Cómo citar:** Vélez-Torres, M., Cruz-Gutiérrez, E. J., Gómez-Reyes, L. A., De la O-Olán, M., Muratalla-Lua, A., Rodríguez-Elizalde M. de los A., & Calderón-Zavala, G. (2024). Ventajas de la propagación *in vitro* en cultivares introducidos de zarzamora (*Rubus* spp.) a partir de meristemos. *Agro-Divulgación*, 4(1). <https://doi.org/10.54767/ad.v4i1.279>

**Editores académicos:** Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Marzo, 2024.

*Agro-Divulgación*, 4(1). Enero-Febrero. 2024. pp: 31-36.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International

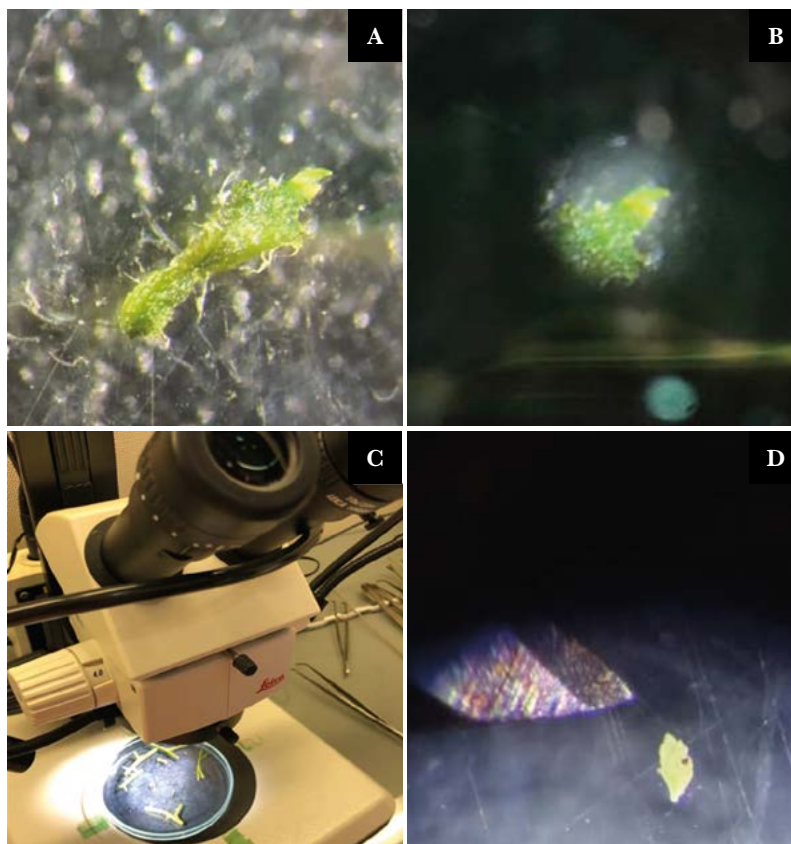


### Solución planteada

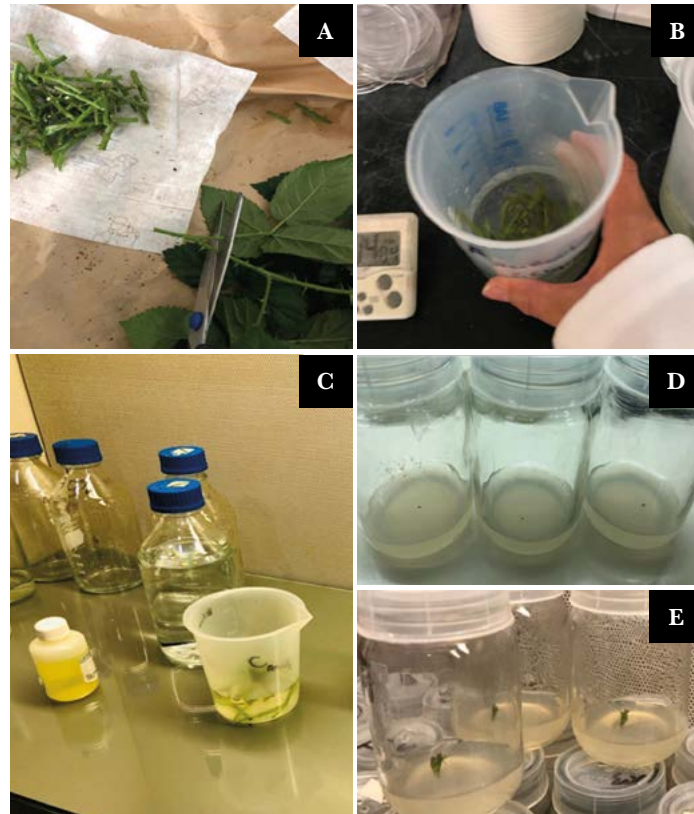
Una alternativa factible es la propagación *in vitro* a partir de meristemos, la técnica consiste en extraer las células en crecimiento ya sea de las yemas caulinares o de las yemas axilares, dado que los meristemos son estructuras de la planta libres de patógenos, el corte debe ser de un tamaño mínimo de 0.5 mm y en el caso de zarzamora es posible hacerlo más pequeño por lo cual debe ser realizado con apoyo de un microscopio (Figura 1). Para corroborar esta hipótesis y analizar las ventajas que puede proporcionar esta estrategia, se llevó a cabo un experimento en donde se utilizó al cultivar de zarzamora Kiowa.

Se recolectaron partes vegetativas de la planta donadora mantenida en invernadero, se realizaron cortes para retirar hojas para dejar únicamente a las yemas caulinares y/o axilares con una parte de tallo (Figura 2).

El método para la desinfestación del material vegetal fue: un lavado con jabón líquido durante cinco minutos y enjuague con agua destilada; a continuación, dentro de una campana de flujo laminar, se sumergió en una solución de alcohol al 70% (2 min); posteriormente, en cloro comercial al 30% (5 min) y se realizaron tres enjuagues con agua destilada esterilizada. Finalmente, el material vegetal se colocó en una solución de ácido ascórbico ( $150 \text{ mg L}^{-1}$ ) hasta el momento de la siembra.



**Figura 1.** Meristemos de zarzamora *Rubus* spp. vistos a través de microscopio electrónico: A=Meristemo de yema apical después del desprendimiento de los primordios foliares; B=Meristemo aislado que debe ser extraído; C=Equipo de trabajo; D=Corte del meristemo guiado por el tamaño del filo del bisturí.



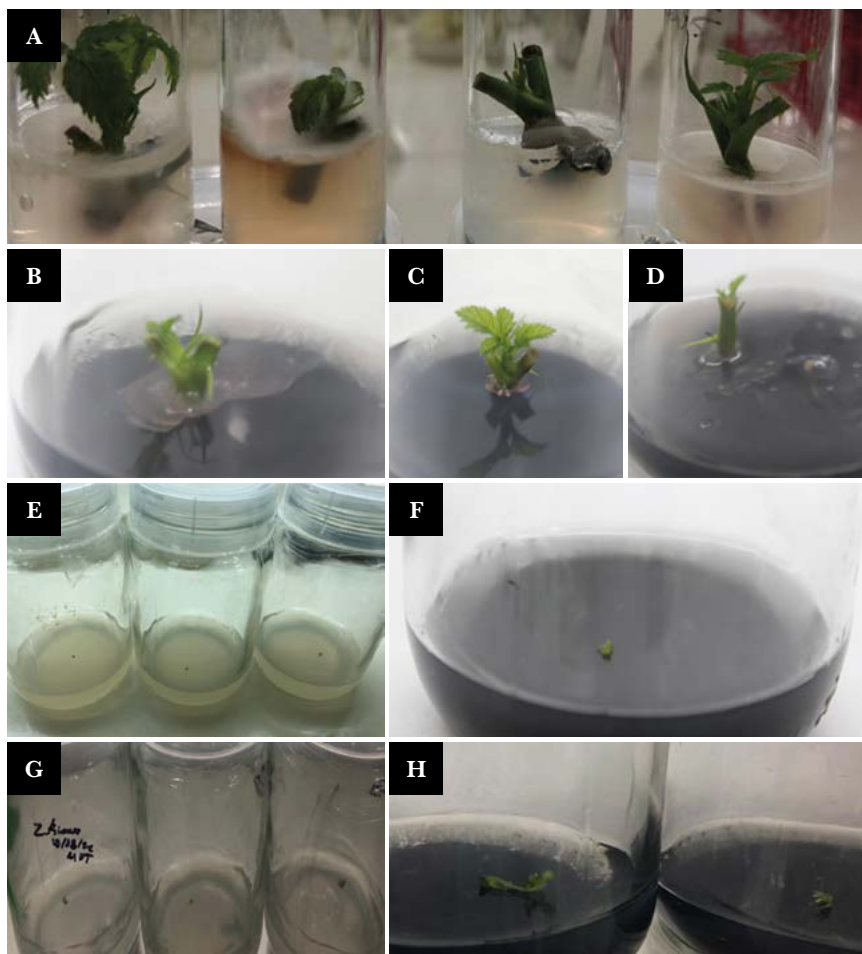
**Figura 2.** Propagación *in vitro* de zarzamora *Rubus* spp.: A=Preparación de material vegetal para la siembra; B=Desinfección con jabón; C=Desinfección en campana de flujo laminar; D=Siembra de meristemos extraídos; E=Siembra de microestacas testigos.

El medio de cultivo utilizado fue: MS (Murashige y Skoog) suplementado con bencilaminopurina (BA)  $0.4 \text{ mg L}^{-1}$ , sacarosa  $30 \text{ g L}^{-1}$ , agar  $7.0 \text{ g L}^{-1}$  (Sigma<sup>®</sup>). El pH del medio de cultivo se ajustó a 5.7 con NaOH (0.1 N) ó HCl (0.1 N). Alícuotas de 25 ml de dicho medio se distribuyeron en frascos y fueron colocados en autoclave durante 15 minutos a una temperatura de  $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $10 \text{ kg cm}^{-2}$ .

Para la fase de establecimiento, dentro de la campana de flujo laminar y con el apoyo del microscopio se realizó la disección de todos los primordios foliares posibles, hasta aislar al meristemo de un tamaño aproximado de 0.5 mm y se sembró en el medio de cultivo. De este modo se trabajaron diversas muestras, los meristemos sembrados se incubaron en un cuarto de crecimiento a  $26 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  con fotoperiodo 16 horas luz por ocho horas de oscuridad y una intensidad luminosa de  $50 \mu\text{M m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Simultáneamente se sembraron microestacas usadas como testigos, donde se utilizó el mismo medio de cultivo y condiciones de incubación. Para fines de este experimento no se realizaron subcultivos.

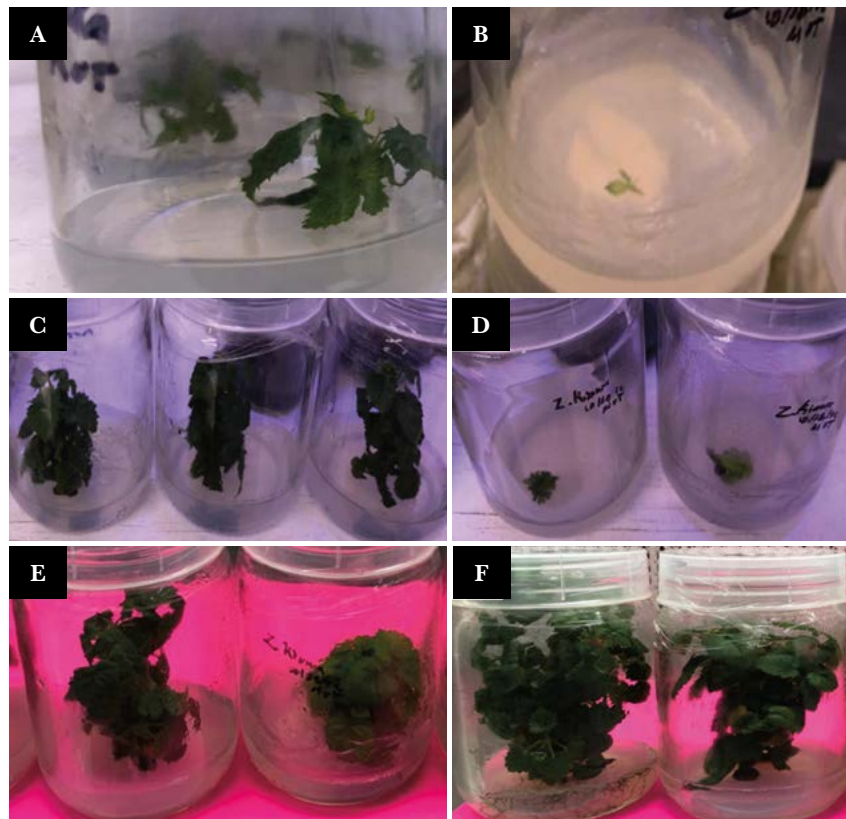
Los resultados mostraron que a los ocho días después de la siembra (dds) las microestacas tuvieron un total del 80% de contaminación, mientras que en los meristemos no se manifestó contaminación alguna (Figura 3).

Las pocas plantas provenientes de microestacas que sobrevivieron a la contaminación se siguieron observando como testigos (Figura 4).



**Figura 3.** Propagación *in vitro* de zarzamora *Rubus* spp.: A-D: Cultivo de microestacas con diferentes manifestaciones de contaminación (8 dds); E-F: Cultivo de meristemos sin contaminación (8 dds); G-H: Meristemos sanos (20dds).

A los 28 dds, la forma del crecimiento entre los tipos de explante fue totalmente diferente, las microestacas mostraron un alargamiento en tallos y hojas, mientras que los meristemos apenas iniciaron su crecimiento. A los 43 dds, las plantas provenientes de microestacas aumentaron altura de planta, longitud y número de hojas, mientras que las plantas que derivaron de meristemos aumentaron su diámetro y número de hojas, pero no fue suficientemente significativo en comparación con el crecimiento alcanzado por las microestacas. A los 77 dds, las plantas provenientes de microestacas continuaron aumentando la altura de planta, longitud y número de hojas, mientras que las plantas que derivaron de meristemos incrementaron su altura y diámetro total de planta, longitud y número de hojas, aunque tales hojas fueron de menor tamaño en comparación con las hojas de microestacas, sin embargo, la emisión de hojas (cada hoja emitida acompañada de su respectiva yema) fue superior a la que se generó en microestacas (Figura 4). A los 95 dds, las plantas provenientes de microestacas todavía aumentaron altura de planta, longitud y diámetro de hojas, pero la emisión de hojas nuevas fue muy



**Figura 4.** Propagación *in vitro* de zarzamora *Rubus* spp.: A: Forma de crecimiento en microestacas y B: en meristemos a 28 dds; C: Diferencia entre microestacas y D: meristemos a 43 dds; E: Diferencia a 77 dds planta izquierda proviene de microestaca y planta derecha de meristemo; F: 128 dds, planta izquierda proviene de meristemo y planta derecha de microestaca.

baja, contrariamente, las plantas que derivaron de meristemos incrementaron altura y diámetro total de planta, longitud y diámetro de hojas, y tuvieron un destacado aumento en el número de hojas nuevas emitidas. A los 128 dds, las plantas provenientes de microestacas ya no tuvieron crecimiento y empezaron a mostrar deficiencias, contrariamente, las plantas que derivaron de meristemos continuaron su crecimiento en altura y diámetro de planta, longitud y diámetro de hojas, emisión de hojas nuevas y, además, crecimiento radical.

Se concluyó que es factible la propagación *in vitro* a partir de meristemos de yemas caulinares o axilares en zarzamora para disminuir la contaminación a la cual la especie es susceptible en la fase de establecimiento. Simultáneamente, se encontró la ventaja de que una alta emisión de hojas significa un mayor número de yemas, lo cual indica el potencial de este método de propagación para la obtención de una mayor cosecha de meristemos en vitroplantas, que son utilizados para crioconservación. Otra ventaja es que la literatura señala que las células meristemáticas son genéticamente estables, por lo tanto, las plantas regeneradas son idénticas a la planta madre, lo cual garantiza el uso de germoplasma sin problemas de inestabilidad genética aptos para los programas de mejoramiento genético.

## Agradecimientos

Al Colegio de Postgraduados por el financiamiento del proyecto y al CNRG-INIFAP por el trabajo de colaboración.

## Innovación, impactos e indicadores

Nivel de innovación	Descripción	Transferido	Impacto		Indicador General de Políticas Públicas	Indicadores Específicos	Subindicador
			Sector	Ámbito			
Procesos	Implementación de una significativa mejora de un método de investigación.	Estudiantes de licenciatura y Posgrado mediante cursos, asesorías y tesis	Proceso de Investigación	Educación		Competitividad  Capacitación	Capacitación a estudiantes de Licenciatura y Posgrado.  Aplicación de técnicas y conocimientos tecnológicos para mejorar los procesos

