

PROPAGACIÓN DE MATERIAL VEGETAL VITIS VINIFERIA EN IN VITRO EN EL CENTRO AGROEMPRESARIAL Y DESARROLLO PECUARIO DEL HUILA.

Ingry Liseck Pulecio Suarez¹

Normin Soley Cabrera Barreiro²

Resumen

Las experiencias vividas en la formación impartida por el SENA son significativas para todos los aprendices, por ende, se re-creó en el Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila un escenario practico referido a la utilización de la metodología de reproducción in vitro en material vegetal con el fin de propagar plántulas en condiciones fitosanitarias para identificar sus características fisiológicas. En ese sentido y buscando alternativas reales para el proceso de enseñanza aprendizaje fue preciso emplear herramientas didácticas de experimentación basadas en métodos y técnicas pedagógicas donde el aprendiz, en gran medida, es el responsable de su evolución académica además de su motivación en pro de la formación. De esta manera los ejercicios prácticos gestados en formación tienen como objetivo aplicar técnicas metodológicas de la reproducción asexual en las plantas, identificando las variables cualitativas y cuantitativas con el fin de implementar una herramienta didáctica en experimentación para los programas agrícolas. Siguiendo esta vía los aprendices del programa del Tecnólogo en Producción Agropecuaria Ecológica realizaron visitas de campo con el objetivo de obtener la planta madre aplicando el procedimiento asepsia (aislar microorganismos del medio ambiente de la planta).

1 Bióloga, Instructor del Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila – SENA. Correo Electrónico: ipulecio@misena.edu.co

2 Ingeniera Ambiental, Especialista en Gestión Ambiental, Instructor del Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila – SENA. Correo Electrónico: nscabreracio@misena.edu.co

Vale recalcar que según Castillo (S.A), la metodología in vitro es un avance de la biotecnología. Esta se divide en diferentes fases: preparación de la planta, desinfección del material vegetal, introducción del material vegetal in vitro, multiplicación de los brotes y aclimatización. Estas metodologías fueron materializadas y supervisadas por el instructor encargado del área. Posteriormente se desarrollaron prácticas de laboratorio donde se efectuaron los cortes al meristemos apicales, para luego preparar el medio e instalar el implante al medio. Como resultado se obtuvieron 30 ejemplares implantados en ambientes idóneos para el crecimiento de los tejidos apicales. En el proceso de crecimiento se obtuvieron 6 implantes infectados de hongos y 24 ejemplares limpios de microorganismos, resaltando que las instalaciones no fueron las adecuadas por procesos de remodelación

Palabras Claves: In vitro, material vegetal, medios de cultivos, agar-agar, meristemo apical, tejido en crecimiento.

Abstract

The use of in vitro reproduction in plant material is performed in order to propagate seedlings under phytosanitary conditions, and observation of physiological characteristics; thus, it is important to propose didactic alternatives for the training of apprentices and support to the instructor in the area to perform, in which the objective is to apply methodological techniques of asexual reproduction in plants, identifying the qualitative and quantitative variables; with the purpose of implementing a didactic tool for the agricultural programs. Therefore the apprentices of the program Tecnólogo en Producción Agropecuaria Ecológica conducted field visits to obtain the mother plant with the asepsis procedure (isolating microorganisms from the environment of the plant). These activities were supervised by an instructor in charge of the area; later laboratory practices were performed, and the apical meristem sections were cut, the container was prepared and the implant was placed in the container. As a result, 30 specimens were implanted in suitable environments. In the growth process of the apical tissues, 6 implants were infected with fungi and 24 specimens positively in growth. Noting that the facilities were not suitable for remodeling processes.

Keywords: in vitro, vegetal material, farming containers, agar-agar, apical meristem, tissue rise.

Introducción

Colombia se caracteriza por presentar gran riqueza de flora y fauna en los diferentes ecosistemas de nuestra región, donde el recurso de flora es utilizado por el hombre para diferentes funciones, entre las cuales se encuentran las de alimentación y producción de material de uso humano.

Los sistemas de producción siguen su línea ancestral, es decir, se manejan las mismas variables de condiciones climáticas, abono y fuentes de nutrientes, donde la diferencia la hace el tipo de producción vegetal. Para los países subdesarrollados la economía y tecnología son usadas para la propagación vegetal in situ (Reinert, 1977) no obstante para Colombia el mayor avance en producción de material vegetal está considerado en los invernaderos, lugares donde se obtienen clones e híbridos mutantes (Puchooa & Sookun, 2003).

En ese orden de ideas y evocando nuestra área de influencia, el Huila se caracteriza por tener diferentes niveles térmicos donde el suelo y la variedad del clima benefician los cultivos agrícolas tales como: Café, tomate, aguacate, uva, fresa, granadilla, lulo, Cacao, entre otros, que son producidos de forma convencional obteniendo más duración de producción y utilización de químicos. En comparación con lo anterior algunas plantas a nivel mundial presentan problemas fitopatológico de acuerdo a sus formas de manejo y cultivo. No obstante en los últimos años se ha venido mejorando las calidad de la especie mediante técnicas como el enraizamiento de estacas, injertos y raíces ajenas, donde los cultivadores

tienen mayor esfuerzo en su labor y costos elevados (Jimenez, Artículos Academicos para biotecnología, 2004)

El municipio de Garzón-Huila se caracteriza por su variedad de cultivos, sin embargo, algunas plantas no presentan un patrón definido. Debido a estos factores que afectan a la planta y a su propagación de calidad los científicos han realizado estrategias que mejoran las técnicas tradicionales con metodologías que ayudan a las especies a controlar las plagas fitopatológicas que hacen que la calidad del producto sea de bajo valor nutricional y comercial; de esta manera es posible establecer la técnica in vitro como alternativa de propagación de material con calidad, ya que esta nos permite realizar variabilidad de genes y clones con características adecuadas y deseadas. Por lo tanto, la siguiente investigación tiene como objetivo utilizar la metodología in vitro en plantas para generar una buena calidad en el material vegetal.

El SENA, Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila, tiene como proyección en su apuesta productiva, realizar mejoramientos a cultivos agrícolas por medio de la biotecnología en el aprendizaje profesional integral.

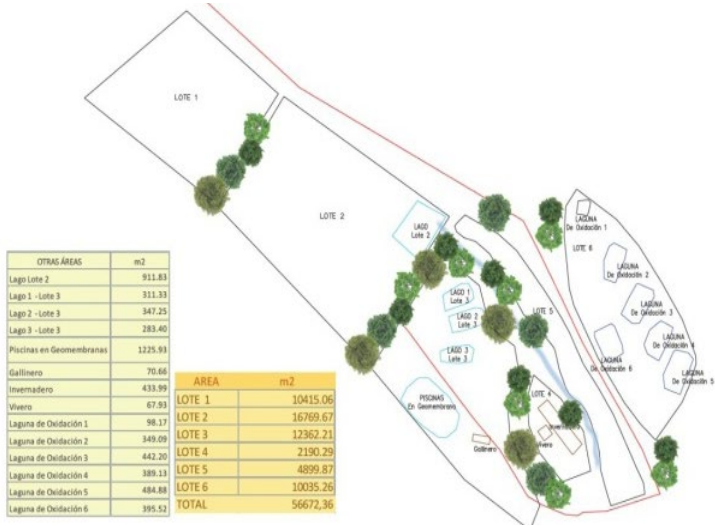
Metodología

Área de estudio

La siguiente investigación se realizó en el municipio de Garzón-Huila, en las instalaciones del Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila – Sede Garzón en el laboratorio

Básico. Fue realizado por un personal experto en el área, con los aprendices del Tecnólogo Producción Agropecuaria Ecológica.

Figura1. Granja Cacique Pigoanza N°26 Unidad Productiva Sena.



Fuente. Sena - Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila.

Fase de campo

Se inició con la preparación de la plata madre, es decir, la planta donadora de yemas. Esta fue recolectada por los aprendices del Tecnólogo Producción Agropecuario Ecológico en la Granja Cacique Pigoanza N°26 Unidad Productiva Sena. Posteriormente se gestó un proceso de observación para constatar que la planta donadora estuviera en óptimas condiciones sanitarias y con un control de riego adecuado para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades.

Fase de laboratorio

1. Fase asepsia: se transportó el explantes al laboratorio para

realizarle una desinfección y eliminar los contaminantes externos, como hongos y bacterias que pueden ser proporcionados por el medio natural.

- Etanol al 50 % durante 30 segundos.
- Solución de Amonio Cuaternario al 0.5 % durante 3 minutos.
- Cuatro lavados con agua destilada, desionizada estéril, en cámara de flujo l

Al realizar este proceso se dejaron los cortes de los meristemos durante 24 horas para que el vegetal quedara en condiciones de asepsia.

2. Fase Preparación de Medio: se esteriliza y dosifica los recipientes

adecuados para los medios. Estos medios de cultivos se preparan con compuestos sólidos donde hallamos elementos esenciales como: Macronutrientes (N, P, K, S, Ca y Mg) y micronutrientes (Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, y Co). Estos elementos son encontrados en el comercio como agar- agar. Como producto final se obtiene una solución acuosa.

Se utilizó El Medio de Cultivo MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). Para su óptimo desarrollo se utilizaron las siguientes sustancias: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2EDTA , sacarosa y Agar- Agar. La solución se preparó sobre 70% de agua del volumen final deseado y sobre esta se añadió uno por uno todos los componentes hasta quedar una disolución

Posteriormente se ajusta el volumen final con agua y se almacena en los frascos de vidrio.

Figura 2. Desinfección de planta madre.



Fuente. Autores

3. Fase de implantación: Los explantes establecidos se llevaron a los medios de cultivos que no presentaron síntomas de contaminación. Este procedimiento se realiza en la cámara de flujo laminar. Este es un equipo que tiene flujo de aire con temperatura y luz para evitar agentes contaminantes transmitidos por el aire y el agua. Los aprendices tuvieron todas las medidas de asepsia como: tapabocas para evitar el contacto con la saliva, gorro por si existe alguna secreción de piel o trasmisor de vectores, guantes y bata para la adecuada manipulación de la muestra e instrumentos.

Figura 3. Desinfección de los medios de cultivo



Fuente. Autores

Figura 4. Implantación de material vegetal al medio en la cámara de flujo laminar



Fuente. Autores

4. Fase de Crecimiento: En esta fase inicia un proceso de micropropagación y división celular por los tejidos meristemáticos. Además se pueden realizar microinjertos y encapsulaciones en gel de alginato donde se exponen durante un periodo aproximado de una semana a ocho semanas; este proceso de regeneración de nuevos tejidos vegetales se conoce como ciclo de cultivo *in vitro*. La multiplicación de los nuevos brotes en un medio de enraizamiento.

Por último se evalúan los productos esperados y de buena

calidad para así publicar la metodología establecida.

Resultados y Analisis

Experiencia significativa

Como resultado de la práctica los aprendices demostraron sus destrezas y habilidades sobre el

aprendizaje cognitivo con la experiencia vivida en la aplicación de la reproducción *in vitro* realizada en el laboratorio donde utilizaron la uva como planta madre o danodora:

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Uva - *Vitis Vinifera*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Vitales
Familia	Vitaceae
Genero	Vitis
Especie	<i>Vitis Vinifera</i>

Fuente. (Wikipedia, Octubre del 2017)

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Uva - *Vitis Vinifera*
Fuente. Autores. La **uva** es una fruta carnosa que nace en largos racimos formados por granos redondos u ovalados, cuyo diámetro medio es de 1,6 centímetros y su peso 200-350 gramos (tanto el tamaño como el peso se refieren a los estándares ajustados a las normas de calidad).

Los resultados obtenidos en la primera fase de la experiencia vivida fueron:

La técnica utilizada para la aplicación en la reproducción in vitro funcionó adecuadamente debido al proceso que se realizó de desinfección al explante donde se manejaron 30 muestras y solo 6 de estas fueron

infectadas por hongos del medio. En ese sentido el porcentaje de contaminación y de supervivencia de los explantes fue altamente influido por varios factores: temperatura, modernización del laboratorio y condición ambiental.

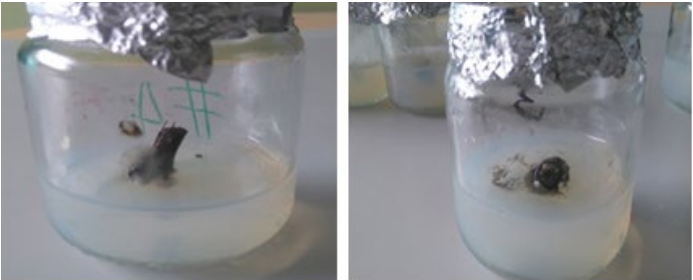
En el establecimiento del material vegetal fue importante tener en cuenta el origen puesto que este incidió significativamente en la multiplicación celular apicales o meristemáticas. Por otra parte se observó que los explantes sanos y libres de agentes contaminantes se multiplicaron gracias al MS (QUE QUIERE DECIR ESA SIGLA) Medio de Cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962). Mezcla acuosa con suplementando de micronutrientes y macronutrientes cantidad de acuerdo a la planta.

Figura 5. Muestra de los 30 explantes



Fuente. Autores

Figura 6. Muestra de explante infectada (Hongos).



Fuente. Autores

Conclusión

El desarrollo de la experiencia significativa fue positivo y efectivo gracias a que los aprendices diseñaron experimentos donde lograron estimularse desarrollaron o el su conocimiento cognitivo. De esta forma, se y se hizo cada aprendiz desarrolla un proceso de aprendizaje diferente de acuerdo a los estímulos producidos en la formación para el mejoramiento de su capacidad. La experiencia con la producción *in vitro* fue importante para el componente teórico – práctico que estimula la formación profesional integral. Es importante aclarar que la manera menos efectiva para ejecutar aprendizajes reales es mediante el uso de la memoria de corto tiempo, la mejor manera la mejor estrategia es la de aprender y comprender, es aprender haciendo por medio en prácticas o experiencias vividas; así se logra que la información transmitida sea significativa e importante, integrando los sentidos y los conocimientos previos.

¿Cuál es la mejor manera de aprender?

La mejor manera de aprender y comprender, es aprender haciendo así se logra que la información transmitida sea significativa e importante, integrando los sentidos y los conocimientos previos. La micropropagación *in vitro* es una de las técnicas más usadas actualmente en el país con el propósito de disminuir agentes patógenos en los cultivos al tiempo que se propagan clones con características deseadas en tan solo un corto tiempo multiplicando plantas que se encuentran en peligro de extinción según la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). Adicional se busca mejorar la calidad de

los productos generados por el material vegetal y producir materia prima para el auto-sostenimiento. Es importante resaltar que lo más recomendable para el estudio de plantas *in vitro* es el procedimiento de asepsia y la preparación de MS donde coexisten los suplementos necesarios para la optimización del crecimiento de la planta.

Bibliografía

- Jimenez. (2004). Artículos Académicos para biotecnología.
- MURASHIGE, T., & SKOOG, F. (1962). *Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- Puchoo, D., & Sookun, D. (2003). *Induced Mutation and In vitro Culture of Anthurium andreanum*. AMAS. *Food and agricultural Research Council, Reduit, Mauritius*.
- Reinert, J. B. (1977). *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*.
- Wikipedia. (Octubre del 2017). *Enciclopedia wikipedia*. Obtenido de https://es.wikipedia.org/wiki/Vitis_vinifera
- Castillo A, Dalla Rizza M. La Biotecnología Aplicada a la Producción de Ajo Semilla Revista Oficial de INASE, N° 3, Mayo 1999
- Castillo A., Davies P., Ceppa M., Del Pino G., Bonilla B. Ajuste de un sistema de

multiplicación *in vitro* para la especie nativa *Aloysia chamaedrifolia* (Verbenacea), 1999.

Castillo A; Capdevielle, F. Respuesta de dos clones de *Pyrus calleryana* a distintos medios de cultivo, setiembre 1992.

Castillo Alicia; 2017; Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo.