

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

Proyecto de Servicio Social


**Biotecnología a partir de la micropropagación vegetal fundamental para el
desarrollo tecnológico de la fruticultura en México**

Prestador de Servicio Social:

Hernández Mejía Rigoberto
Matrícula: 2132033779

Asesor Interno:

Dra. Fuentes Ponce Mariela Hada
No. económico: 34017

Firma  _____

Asesor Externo:

Dr. Arellano Ostoa Gregorio
Cédula Profesional: 1024283

Firma  _____

Fecha de inicio y terminación

Del 22 de Agosto del 2022 al 22 de Febrero del 2023

I. INTRODUCCIÓN

El servicio social se realizó de forma presencial en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo ubicado en Km. 36.5 Carretera Federal México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, C.P. 56230. Estado de México.

Marco institucional

Colegio de Postgraduados (COLPOS).

La misión de la institución es generar, enseñar, difundir, aplicar e innovar conocimiento científico y tecnológico en materia agropecuaria, forestal y acuícola, y formar recursos humanos de posgrado, para contribuir en la mejora de la calidad de vida de la sociedad.

La visión de la institución es ser una institución reconocida nacional e internacionalmente en investigación y educación de posgrado, que se distinga por la alta calidad de sus resultados científicos y tecnológicos, por los recursos humanos que forma y por su vinculación con el sector, en un marco de innovación, sustentabilidad y compromiso social.

La institución tiene como objetivos estratégicos:

- Educar y formar personas creativas, innovadoras y con sentido humanista que atiendan las necesidades agroalimentarias de la sociedad en un contexto de desarrollo sustentable.
- Realizar investigación generadora de conocimiento pertinente para el manejo sustentable de los recursos naturales y la producción de alimentos nutritivos e inocuos, y de otros bienes y servicios.
- Mejorar la calidad de vida de la sociedad y retroalimentar las actividades académicas a través de la vinculación.
- Contar con procesos administrativos certificados que apoyen en forma eficaz y eficiente las actividades sustantivas de la Institución.

Su compromiso social del Colegio de Postgraduados es ser reconocido actualmente como una institución líder en ciencias agrícolas y agroalimentarias en México y América Latina. En su trayectoria ha formado científicos, académicos, tomadores de decisiones y emprendedores que han contribuido, en mucho, al mejoramiento de la calidad de vida de la sociedad, tanto en México como en otros países, consolidándose como una institución de excelencia a nivel internacional.

Gracias al impacto social que tienen los resultados de sus tres actividades sustantivas, la Institución forma parte del registro de Centros Públicos de

Investigación reconocidos por la Ley de Ciencia y Tecnología. Actualmente cuenta con siete Campus en diferentes regiones agroecológicas del país, localizados en: Champotón, Campeche; Montecillo, Estado de México; Cholula, Puebla; Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí; Cárdenas, Tabasco; y Manlio Fabio Altamirano y Amatlán de los Reyes, en Veracruz.

El objetivo del servicio social fue apoyar en general todas las actividades para la producción de plantas *in vitro* con la calidad para ser utilizadas como portainjertos de variedades mejoradas en el laboratorio de biotecnología del Colegio de Postgraduados.

II. DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS

Las actividades que desarrollé durante seis meses de mi servicio social fue siguiendo las indicaciones de mi asesor externo Dr. Gregorio Arellano Ostoa, Coordinador de Fruticultura y responsable de laboratorio de biotecnología del Colegio de Postgraduados, las actividades realizadas fueron dentro del laboratorio como en el invernadero con base al tiempo y a los requerimientos del proyecto como primera etapa.


FORMATO DE CVU ACADEMICO	
	DATOS GENERALES: Nombre: GREGORIO ARELLANO OSTOA Categoría: PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO Campus: MONTECILLO Correo: arellano@colpos.mx
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES	
NO	
ACTIVIDADES DE DOCENCIA, CAPACITACIÓN Y ACTUALIZACIÓN	
<ul style="list-style-type: none">• CURSOS REGULARES: PROPAGACIÓN IN VITRO DE FRUTALES FRU-638; SEMINARIO DE AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN FRU-682• ACTUALIZACIÓN DOCENTE: (Texto)• MAESTRÍAS TECNOLÓGICA (PROFESIONALIZANTE), DIPLOMADO O ESPECIALIZACIÓN: (Texto)	

Imagen 1. Datos de asesor externo obtenido en web del Colegio de Postgraduados.

2.1 Actividades en laboratorio de biotecnología

Yasuda con carbón o sin carbón activado. La preparación de medio de cultivo, para el caso de Yasuda, es medio que tiene muchas ventajas porque se puede modificar la cantidad de cada uno de sus elementos que lo componen, es decir, se van agregando cada uno de los elementos tal como son micro y macro nutrientes, fitohormonas, etc. y de acuerdo a la experiencia del investigador y lo que mejor se ajuste para cada caso de proyecto, además de agregarle otros elementos como el

carbón activado el cual proporciona otras propiedades como acelerar la germinación y mayor números de brotes de las explantes entre otras propiedades.

2.1.2 Protocolo para la preparación de medio de cultivo Yasuda:

Para 1 litro de medio de cultivo

Cisteína = 10 ml

BA 1 ml

ANA = 0.1 ml

PPM = 1 ml

Micronutrientes = 10 ml

EDTA = 10 ml

Vitaminas = 10 ml

Agar = 7 g

Azúcar = 30 g

pH = 5.7

Preparación de medio de cultivo Yasuda, en un vaso de precipitado de capacidad de 2 litros, se agrega agua destilada a 700 ml y posteriormente se agregaron todos los demás elementos, la cantidad establecida, al completar la cantidad de todos los elementos se aforó el vaso para un litro con agua destilada. Se utilizó un agitador magnético para mezclar homogéneamente todos los componentes como el carbón activado. Después de agregar todo se tuvo que adecuar el pH a 5.7 posteriormente se tuvo que calentar en horno de microondas para poder vaciar en tubos o frascos, ya que se gelifica y eso imposibilita el llenado de tubos, después se llevó a esterilizar en autoclave, al terminar el proceso y enfriar el autoclave, los frascos y tubos se acomodaron en la campana de flujo laminar, como finalización el medio adquiere temperatura ambiente y después se utilizó para establecer los explantes.



Imagen 2. Fotos de preparación del medio de cultivo Yasuda.

2.1.2 Protocolo para la elaboración de medio MS:

Para 1 litro de medio de cultivo MS
Murashige Skoog 4.5 g
ANA 0.1 ml
BA 1 ml
Agar 7 g
Azúcar 30 g
pH =5.7

El medio de cultivo Murashige Skoog (MS) es el más utilizado debido a que contiene gran parte de los nutrientes esenciales que requieren las plantas para crecer, para la preparación de medio MS, en un vaso de precipitado se agregó agua destilada hasta 700 ml, posteriormente se agregaron todos los elementos mencionados, de igual forma se agregó o sin carbón activado, u otro elemento como ácido ascórbico, en algunos casos fue necesario agregarlo, el investigador decidía, después se tuvo que completar el vaso con agua destilada a 1 litro y homogeneizar adecuadamente con agitador magnético. Finalizando con el ajuste de pH 5.7 como óptimo, a continuación se llevó al autoclave para su esterilización, después esperar a que se enfriara el autoclave terminando su proceso, como siguiente, se almacenó en una campana de flujo laminar que estaba disponible siempre, después de uno o dos días se hizo el establecimiento de explantes de aguacate y manzano como otras especies de plantas.



Imagen 3. Fotos de preparación de medio de cultivo MS.

2.1.3 Desinfección y establecimiento de explantes de aguacate y manzano *in vitro*.

Para llevar a cabo el establecimiento de aguacate o manzano, antes se siguió un protocolo de desinfección, para este caso, se seleccionaron partes adecuadas de las plantas madres, es decir, partes con mayor número de yemas axilares, para tener mayor éxito en los brotes, con los tallos vegetales seleccionados cortados, se llevó a cabo el deshoje y el lavado con jabón líquido para quitar excesos de polvo y otros agentes extraños. Posteriormente se cortaron en fragmentos de aproximadamente 4 cm ó 5 cm tamaño que es el que funciona mejor, después se

llevó al agitador magnético con 2 g de bactericida y 2 g fungicida en un litro de agua común se agitó por 40 min, a continuación se llevó al limpiador ultrasónico ya preparado con nanopartículas de plata, twin y agua esteril, éste funciona mediante longitudes de ondas ultrasónicas lo que permite limpiar objetos con formas irregulares, se puso en funcionamiento durante 20 minutos. Después se enjuagaron con agua esteril para quitar exceso de desinfectantes y se reposó en agua en matraz y tapado con papel aluminio para evitar contaminación.

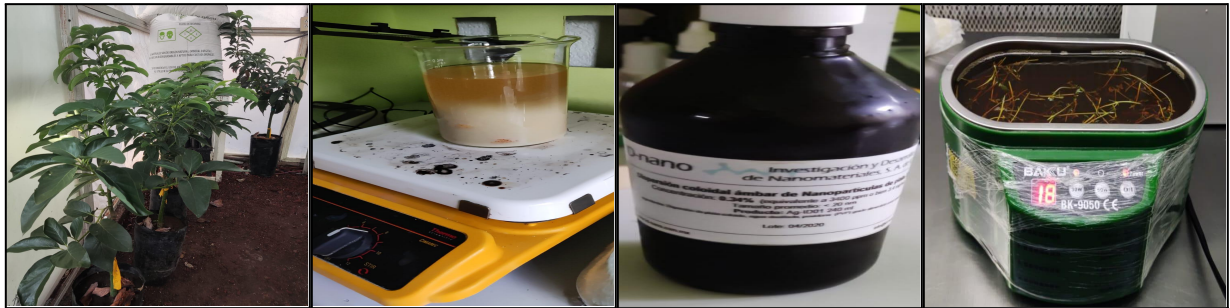


Figura 4. Fotos de procesos de desinfección de explantes de aguacate y manzano.

Para el establecimiento de explantes de aguacate y manzano, primeramente se realizó una limpieza de la campana de flujo laminar con alcohol al 70% y una solución de hipoclorito al 10%, después, se encendió la luz ultravioleta de la campana por 15 minutos, para obtener una superficie esteril y así tener menos contaminación en los cultivos. Después, ya con los materiales previamente esterilizados como pinzas, bisturí y hojas, se continuó con el establecimiento, se siguió con el sellado de frascos y tubos de ensayo y finalizando con el etiquetado de los mismos. Cabe mencionar que todo este proceso llevó mucho tiempo, y desde la preparación del medio hasta el establecimiento fueron varias repeticiones.

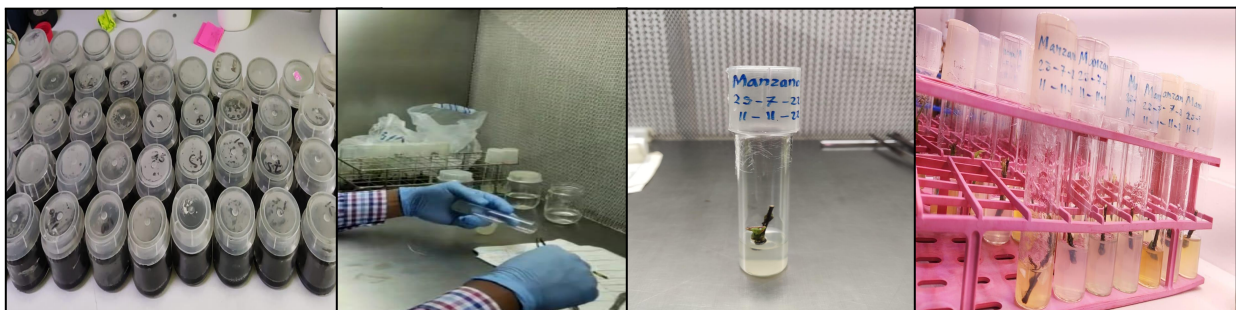


Imagen 5. Fotos de establecimiento de explantes de aguacate y manzano.

2.1.4 Evaluación del estado de salud de los explantes e identificación de algún daño ocasionado por algún patógeno.

Para esta actividad, se requirió de una buena observación de los tubos y frascos para poder identificar posible contaminación de los cultivos. Como resultados después de la evaluación se encontraron muchos tubos y frascos con proliferación de hongos y otros con bacterias, esto se debió a que los explantes provenían del campo, en el ambiente existen muchos microorganismos y a pesar del protocolo de desinfección realizada sobrevivieron, además de otros factores como condición de el laboratorio. También, importante mencionar que para el caso del aguacate tiene como particular problema de oxidación tal como ocurre con su fruto, esto por la combinación de oxígeno y con una enzima denominada polifenol oxidasa. Por esta razón muchos explantes no tuvieron brotes, se terminó por repetir nuevamente.



Imagen 6. Fotos de evaluación del estado de salud de los explantes.

2.1.5 Evaluación del crecimiento de los cultivos establecidos.

Esta actividad fue de las más fáciles ya que solo era observar y verificar que no estuviera contaminado y si existía alguno era retirarlo de la cámara de incubación esto con la finalidad de evitar propagación de tal microorganismo. Posteriormente si los brotes tenían éxito, como ejemplo sin contaminación y sin oxidación, sólo se mantenía en observación hasta el momento adecuado para hacer un subcultivo, es decir, que de la planta que se logró obtener de manera inocua *in vitro* se pasa a otro medio de cultivo nuevo para seguir con el objetivo del proyecto.



Imagen 7. Fotos de evaluación del crecimiento de los brotes de cultivos.

2.1.6 Verificar el buen funcionamiento de las lámparas del cuarto de incubación.

Esta actividad consistió en observar si funcionaban correctamente las lámparas, ya que aunque funciona con el sistema de automatización suele pasar que de pronto deja de funcionar, entonces, cuando pasó solo fue avisarle a la persona encargada para activar el sistema nuevamente. La iluminación es uno de los factores más importantes ya que las plantas requieren luz de calidad para su óptimo desarrollo. Y otras de las lámparas dentro del laboratorio algunas dejaron de funcionar, sin embargo, pude resolver el problema sin mayor complicación.



Imagen 8. Fotos de verificación de luces en el cuarto de incubación.

2.1.7 Lavado de frascos, tubos de ensayo y limpieza en general periódicamente en el laboratorio.

El lavado de frascos y tubos de ensayo fue una de las actividades que me mantuvo activo siempre, ya que salían muchos, al detectar frascos o tubos contaminados los llevé a inactivar en el autoclave, para después ser lavados, y así se pudieran usar nuevamente para repetir o usarlos en otro proyecto. El aseo dentro del laboratorio, fue algo muy a menudo que puse en práctica ya que se tenía el problema de sobre contaminación, por tal motivo por tres semanas continuas se trapeó con desinfectante diariamente, posteriormente solo fue cada tercer día, como resultado se redujeron las contaminaciones aunque había más factores problemáticos por resolver.



Imagen 9. Fotos de frascos contaminados, autoclave y lavado.

2.2 Actividades en invernadero

2.2.1 Limpieza de invernadero y almacén para tener óptimas condiciones de trabajo.

Las primeras actividades que realicé fue limpieza y acomodo en el invernadero, ya que después de una larga pandemia se dejó de trabajar, por tal motivo muchos trabajos y materiales se quedaron en el abandono por lo cual hubo que acomodar todo. Otra de mis actividades fue acomodar todo en el interior del laboratorio de biotecnología así como el inventario y verificación de materiales que aún servían y los que no se desecharon.



Imagen 10. Fotos posterior a la limpieza que se realizó en el invernadero.

2.2.2 Trasplante de plantas madre de aguacates y manzano en el invernadero.

Esta actividad que se planeó desde el principio, cumplí con mi parte de realizar el trasplante con lo que se tenía a la mano, se llevó a cabo el lavado de las macetas con jabón líquido e hipoclorito, al terminar se acomodaron para secarse posteriormente se iba a hacer el trasplante de todas las plantas, pero no hubo sustrato y hasta la fecha de mi último día de servicio social no se consiguió.



Imagen 11. Fotos de lavado de macetas y trasplantes de plantas.

2.2.3 Mantener vivas las plantas madres de aguacate y manzano en invernaderos mediante riego periódicamente y fertilización foliar.

Esta actividad tenía mucha importancia ya que debido a las características del invernadero que gran parte de su estructura está formado por vidrio, lo que intensifica los rayos del sol con esto se incrementa la temperatura a niveles muy elevados por lo que el riego tenía que ser constante, regaba tres veces por semana ya que de no regar así las plantas de aguacate se presentaban marchitez. También, aprovechando los días que iba a regar igual aproveché en aplicar fertilizante de forma foliar con atomizador. Así también, estuve observando la salud de las plantas, es decir, si presentaban sintomatología de algún patógeno.



Imagen 12. Fotos de riego y fertilización de todas las plantas en invernadero.

2.2.4 Aclimatación de diferentes especies de plantas.

Esta actividad fue de las últimas que realicé en colegio, para llevar a cabo la aclimatación de las plantas se tuvo que esterilizar el sustrato en el autoclave, compuesto de peat moss y perlitas, ya con el sustrato frío y preparado, a continuación se lavaron las charolas con jabón líquido e hipoclorito, después se humedece el sustrato y se llenaron las cavidades de las charolas, se continuó con el trasplante de plantas obtenidas de forma *in vitro* en el laboratorio de biotecnología, estas plantas fueron *Calibanus*, de esta forma se rescataron las sobrevivientes, ya que por pandemia no se les dió seguimiento al proyecto. Para finalizar esta actividad, al terminar de trasplantar se tuvieron que tapar con plástico, ya que las estomas de las plantas obtenidas de *in vitro* siempre están abiertas, por factores y condiciones del laboratorio, después se fue perforando poco a poco el plástico para que de esa manera las plantas se fueran adaptando a las condiciones del invernadero. Para este caso, *Calibanus* no hubo mayor problema para adaptarse, inmediatamente se pudo observar el color verde brillante que tomaron las hojas de las plantas, debido a la resistencia que tiene a partir de su evolución genética obtenida de forma silvestre.



Imagen 13. Fotos de los procesos de aclimatación de plantas obtenidas en laboratorio.

CONCLUSIÓN

Al finalizar mi periodo de servicio social acorde a lo establecido inicialmente, cabe mencionar que las actividades que se describieron solo son una parte de todo lo que realicé durante mi estancia en el colegio, de igual forma siempre estuve a la mejor disposición de servir y apoyar en todo momento en cualquier otra actividad que se requiriera de mi apoyo dentro del área biotecnología.

En conclusión se obtuvieron resultados favorables después de varias repeticiones, sin embargo, debido al tiempo limitado ya no pude dar seguimiento al proyecto, hasta el tiempo que estuve en el laboratorio, se logró hacer un subcultivo de plantas de aguacate como manzano, pero eso significó sólo una parte del proyecto, se requiere de más tiempo para completar todo y finalizar.

En el Colegio de Postgraduados, fue como regresar a la casa de estudios de donde egreé por lo que valoré mucho la oportunidad, me llevo mucho aprendizaje, he fortalecido conocimientos previos y adquirido experiencia en el área de biotecnología vegetal, hoy tengo expectativas a futuro no muy lejano desarrollarme profesionalmente en esta área de presentarse la oportunidad.

IV. DESCRIPCIÓN DEL VÍNCULO DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS CON LOS OBJETIVOS DE FORMACIÓN DEL PLAN DE ESTUDIOS.

Con base al objetivo general establecido en el plan de estudios, una parte del objetivo es: formar profesionales con capacidad científica para desarrollar las técnicas y transferencia de tecnologías en los sistemas agrícolas regionales. La biotecnología está ligada en todo momento al ámbito agronómico para que el egresado pueda desarrollarse profesionalmente. El objetivo general del módulo “Manejo sustentable del potencial productivo de los genotipos en los sistemas agrícolas” es: Que el alumno analice el potencial productivo del germoplasma vegetal con fines agrícolas y sea capaz analizar las bases fisiológicas de los genotipos con relación al rendimiento.

La mayor parte del contenido de este módulo se basó en genética en general de las plantas, sin embargo, se nos presentó un poco de lo que es la biotecnología vegetal, suficiente para tener una amplia panorama y expectativas futuristas en el área. Cabe mencionar que en esta área es un mundo de posibilidades, para el desarrollo de metodologías biotecnológicas, se puede conseguir la transformación genética de los cultivos, como también lograr una diversidad biológica, la biotecnología es clave en los bancos de germoplasma vegetal que es conservación *ex situ*, mediante la técnica de micropropagación donde se puede generar una nueva planta a partir de tallos, hojas, semillas.

La biotecnología vegetal, definitivamente está íntimamente relacionada a la carrera de Agronomía, esta es una de las áreas donde los egresados pueden desarrollarse profesionalmente. Específicamente como por ejemplo; tiene gran importancia en el área de la fruticultura en el campo mexicano. Ya que por medio del uso de micropropagación vegetal se puede dar la obtención de un frutal con mayor rendimiento, esto a base de la técnica mencionada, se pueden acelerar muchos procesos para la obtención de nuevas plantas a partir de una, con excelente calidad, para diferentes enfoques, donde de forma como la convencional sería muy complejo. En esta época en la que estamos viviendo, las tecnologías son clave para mejorar el campo agrícola, para lograr la obtención de mayor producción para cubrir las necesidades alimenticias del ser humano en general.

En el Colegio de Postgraduados, donde realicé mi servicio social estuve apoyando en la obtención nuevas plantas de aguacate y manzano con ciertas características de adaptabilidad y resistencias, como primera parte del proyecto era conseguir plantas de excelente calidad de forma *in vitro* para posteriormente seguir con la siguiente etapa, sin embargo, por la disponibilidad de tiempo solo puede estar presente en la primera etapa del proyecto.