

# PROPAGACIÓN IN VITRO DE SEMILLAS HORTÍCOLAS A TRAVÉS DE UN PROTOTIPO

<sup>1</sup>Citlali Cárcamo Juárez, Citlali\_carcamo1234@hotmail.com

\* Ximena Valera Romero, ximenavr\_4@hotmail.com

<sup>3</sup> Aarón Comunidad Villa, acv\_comunidad@hotmail.com

<sup>4</sup> Martín Palafox Rodríguez, martinpalafox@msn.com

## RESUMEN

La germinación in vitro actualmente es un método eficaz para la propagación de especies vegetales, sin embargo, es un procedimiento costoso. El implementar modelos de germinadoras permite realizar esta práctica con materiales accesibles y abajo costo. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la germinación in vitro de semillas de importancia agrícola en medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) a través de un prototipo. Se utilizaron semillas comerciales. Se realizaron dos ensayos con variación en las especies de semillas utilizadas, en el primer ensayo se utilizaron semillas de rábano (*Raphanus sativus*), zanahoria (*Daucus carota*), pepino (*Cucumis sativus*), y jitomate (*Solanum lycopersicum*). En el segundo ensayo se utilizaron semillas únicamente de rábano (*Raphanus sativus*). Para la desinfección, se realizaron inmersiones, en etanol al 10% durante 5 minutos; posteriormente se aplicó hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% durante 5 minutos en constante agitación y, finalmente tween 20 al 3% durante 5 minutos. Se evaluó la germinación de las semillas en dos germinadoras comerciales y un prototipo de germinadora automatizado, a través de un análisis morfométrico. Las semillas comenzaron a mostrar cambios a partir de los 5 días posteriores de la siembra. Se obtuvo desarrollo de radícula, hipocotileo y cotiledón. Los cultivos de rábano (*Raphanus sativus*) presentaron proliferación en todas las muestras experimentales, a diferencia de las semillas de zanahoria (*Daucus carota*), y jitomate (*Solanum lycopersicum*). Se concluye que el prototipo es viable para germinar semillas de rábano, sin embargo, aún requiere de grandes mejoras para cumplir con su propósito. Por otra parte, en comparación con la germinadora 1 y el prototipo, la germinadora que obtuvo un mejor rendimiento en cuanto a tiempo de germinación, tamaño y desarrollo de las plántulas fue la germinadora 2, en comparación con las semillas y plántulas de las dos cámaras de germinación.

## ABSTRACT

In vitro germination is currently an effective method for the propagation of plant species, however, it is a costly procedure. The implementation of germination models allows this practice to be carried out with accessible materials and at low cost. The present work had the objective of evaluating the in vitro germination of seeds of agricultural importance in Murashige & Skoog (MS) culture media through a prototype. Commercial seeds were used. Two trials were conducted with variation in the seed species used, in the first trial seeds of radish (*Raphanus sativus*), carrot (*Daucus carota*), cucumber (*Cucumis sativus*), and tomato (*Solanum lycopersicum*) were used. In the second trial, only radish (*Raphanus sativus*) seeds were used. For disinfection, seeds were immersed in 10% ethanol for 5 minutes, then 5% sodium hypochlorite (NaClO) was applied for 5 minutes under constant agitation, and finally 3% tween 20 was applied for 5 minutes. Seed germination was evaluated in two commercial germinators and a prototype of an automated germinator, through a morphometric analysis. Radicle, hypocotyl and cotyledon development was obtained. The cultures of radish (*Raphanus sativus*) showed proliferation in all experimental samples, unlike the seeds of carrot (*Daucus carota*) and tomato (*Solanum lycopersicum*). It is concluded that the prototype is viable for germinating radish seeds, however, it still requires major improvements to fulfill its purpose. On the other hand, in comparison with germinator 1 and the prototype, the germinator that obtained a better performance in terms of germination time, size and development of the seedlings was germinator 2, in comparison with the seeds and seedlings of the two germination chambers.

## PALABRAS CLAVE

Cultivo  
Agricultura  
Biotecnología

## KEYWORDS

Crop  
Agriculture  
Biotechnology

<sup>1,2</sup> Instituto Tecnológico Superior de Zacapoaxtla/Estudiantes

<sup>3,4</sup> Instituto Tecnológico Superior de Zacapoaxtla /Docentes

## I. INTRODUCCIÓN

La producción masiva de plantas de manera convencional, no ha resultado eficiente en los últimos años, debido al incremento de sequías, desarrollo de nuevas plagas, falta de nutrientes, entre otros factores. Una solución que se ha implementado es la micropropagación, específicamente la germinación in vitro de semillas de importancia agrícola. El término propagación in vitro, hace referencia al cultivo de semillas, dentro de un frasco de vidrio enriquecido con medio de cultivo MS (Murashige & Skoog). Entre los parámetros que deben controlarse se encuentran: la asepsia, el pH, la temperatura y la humedad principalmente (Castillo, 2004).

La técnica de propagación in vitro permite una rápida propagación de plantas en cualquier época del año, además puede ser una alternativa para la conservación de plantas en peligro de extinción (Pizarro, 2012). El éxito depende en gran medida del medio adecuado complementado con fitoreguladores (Rodríguez et al., 2004). La técnica requiere de un ambiente en condiciones controladas que solo se pueden obtener dentro de una germinadora o en un cuarto de crecimiento con luz artificial, a una temperatura promedio de 25°C, una intensidad de 25 a 35  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ seg}$  con un fotoperiodo de 12 a 16 horas de luz (Garciglia, 2019).

Aunado a lo anterior, las condiciones que se requieren para mantener los especímenes en condiciones de calidad y de asepsia, se realiza en equipos especializados, con costos muy elevados, requieren de mantenimiento constante, en muchos de los casos las reparaciones tardan mucho tiempo, debido a que las piezas se tienen que adquirir fuera del país; consumen gran cantidad de luz, además ocupan gran volumen, dificultan su transporte y limpieza. Por otra parte, se presentan situaciones de que no existe almacenamiento de datos obtenidos en un lapso de tiempo; el investigador tiene que realizar monitoreo de manera directa y continua, lo cual conlleva a que interrumpa otras actividades. Para el desarrollo de cultivos in vitro, se puede poner en práctica la biotecnología, con el propósito de mejorar diversas variedades, recurriendo a métodos más sencillos, como el uso de un prototipo automatizado para los cultivos in vitro y germinación de semillas hortícolas, debido a que no requiere de costos elevados para su mantenimiento, además los materiales necesarios son de fácil acceso e inclusive se pueden reciclar. En este contexto, para el prototipo se diseñó un programa en el que investigador pueda obtener datos de ciertas variables desde cualquier dispositivo móvil y sin importar el lugar donde se encuentre. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo de investigación fue la evaluación de la germinación in vitro de semillas de importancia agrícola en medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) a través de un prototipo.

## II. METODOLOGÍA

El proyecto de investigación se desarrolló en el laboratorio de bioquímica y biotecnología, ubicado en la unidad de prácticas del Instituto Tecnológico Superior de Zacapoaxtla. El municipio de Zacapoaxtla, está ubicado Entre los paralelos 19° 43' y 19° 58' de latitud norte; los meridianos 97° 31' y 97° 39' de longitud oeste; altitud entre 900 y 2 800 m. en la Sierra Nororiental del estado de Puebla. (INEGI 2010).

### *Material vegetal*

La cantidad de semilla de rábano (*Raphanus sativus*), pepino (*Cucumis sativus* L.), jitomate (*Solanum lycopersicum*) y zanahoria (*Daucus carota*) utilizada fue de 2.8 gr.

### *Preparación de medios de cultivo líquido:*

Se pesaron 1.05 gramos de Medio Murashige & Skoog (MS), 3.7 gramos de sacarosa, 0.024 gramos de Kinetina y 0.245 gramos de Tiamina; para ello se utilizó una balanza analítica. Posteriormente, se midieron 245 ml de agua destilada en una probeta de 500 ml para diluir los reactivos sólidos, se colocaron en un Matraz Erlenmeyer de 250 ml, después se le añadió el agua destilada. La solución se homogenizó en una plancha de calentamiento a una temperatura 22.5 °C a 300 rpm durante 15 minutos. Se midió el pH, para verificar que estuviera en un rango de 5.6 a 5.8. Para evitar la contaminación por hongos o bacterias que pudieran afectar al medio se agregó 1 microlitro de antibiótico de eritromicina a cada frasco de vidrio, además para que la semilla tuviera un buen desarrollo, se le agregó 0.5 mililitros de benciloaminapurina. Se lavaron los frascos con jabón y agua, desinfectándolos con hipoclorito de sodio (NaClO). Se agregaron 20 ml del medio a cada frasco. Para cada unidad experimental se le colocó un puente de papel filtro de aproximadamente 7 cm de diámetro, para retener las semillas, con la finalidad de que estos pudieran estar en contacto con el medio de cultivo. Se cerraron los frascos con las tapas para cultivo in vitro; posteriormente se procedió a la esterilización en autoclave durante 20 minutos. La campana de flujo laminar se desinfectó 20 minutos antes de iniciar la siembra con alcohol etílico al 70%, para eliminar residuos y algunos contaminantes. Posteriormente, se encendió el UV durante 15 minutos, en seguida se encendieron los mecheros, así como el flujo y la luz.

*Figura 1*

*Preparación de medios de cultivo líquido con MS.*



Figura 2

Medios de cultivo líquido con puentes de papel filtro.



### Desinfestación y siembra de semillas

Para iniciar esta fase fue indispensable estimular la semilla mediante un ligero lijado. Posteriormente, se colocaron las semillas con agua destilada durante la noche anterior a la realización de la siembra in vitro.

Para la desinfección de las semillas, se utilizaron 3 matraces de aforación de 50 ml, en donde el primero de ellos se agregó 25 ml de hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ), en el segundo se hizo una preparación agregando 3 ml de Tween (Polisorbato 20) y en el último de ellos 10 ml de alcohol, los cuales fueron aforados con agua destilada. Se vertió cada solución en un vaso de precipitado de 50 ml y en cada uno de ellas se realizó un lavado de las 48 semillas de rábano (*Raphanus sativus*) durante 5 minutos.

Se pusieron 4 semillas por cada frasco de forma espaciada. De igual forma en condiciones de asepsia se cerraron los frascos, cuidando que el medio no tuviera contacto con el ambiente.

Finalmente, se identificó el lote de medio de cultivo preparado indicando el nombre de la especie, además se agregaron los nombres de las estudiantes y fecha de preparación.

Figura 3

Siembra de semillas en condiciones de asepsia.



### Establecimiento de cultivo

Se distribuyeron las muestras experimentales en cada una de las germinadoras, dentro de laboratorio de botánica (germinadora 1 y 2), y el laboratorio de electrónica analógica se colocó el prototipo. En la cámara de germinación 1, se pusieron 3 unidades experimentales a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , en la germinadora 2 el mismo valor de unidades a evaluar, a una temperatura de  $27^{\circ}\text{C}$ , por último, en el prototipo se colocaron un total de 6 unidades experimentales, se distribuyeron en 3 niveles, con un rango de temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ -  $28^{\circ}\text{C}$ . Se realizaron 2 réplicas del mismo experimento, cada una de ellas evaluada a los 7 días.

Figura 4

Germinadora 1



Figura 5

Germinadora 2





Figura 6  
Desarrollo de prototipo para la germinación de semillas hortícolas.



### III. RESULTADOS

De acuerdo a las dos pruebas realizadas a partir de la investigación, en la primera repetición se sembraron semillas de rábano (*Raphanus sativus*), zanahoria (*Daucus carota*), pepino (*Cucumis sativus*), y jitomate (*Solanum lycopersicum*), de las cuales solamente las semillas de rábano germinaron. En donde se observó que en las 3 características morfológicas (Tabla 1) creció en un rango promedio de 0.6 a 0.8 cm de longitud en radícula, desarrollo de 1.08 a 1.3 cm promedio correspondiente a hipocótilo y un rango entre 0.4 a 0.5 cm de longitud del cotiledón.

En la germinadora 1 y 2 crecieron del mismo tamaño, en el prototipo se observó crecimiento inferior al obtenido en las cámaras de germinación.

En la segunda repetición se realizó solamente con semillas de rábano (*Raphanus sativus*) durante una semana se observó que en las 3 características morfológicas (Tabla 2) la radícula creció en un rango de 0.5 a 1.6 cm promedio, el hipocótilo creció en promedio de 0.1 a 1.9 cm y el cotiledón creció en un rango de 0.3 a 1.7 cm, en las 3 para las germinadoras que se utilizaron durante el experimento. En la germinadora 1 hubo variación de crecimiento en los ejemplares con color verde intenso y se percató que una semilla no se logró germinar. En la germinadora 2 hubo variabilidad de crecimiento, mismo color verde intenso y el grosor de radícula fue la misma.

En el prototipo hubo gran variación en crecimiento, destacando un aspecto de color amarillento en las plantas y la

mayoría de las semillas no lograron germinar dentro de los 3 niveles colocados, por lo tanto, en el nivel 2 se observó que la mayoría de plántulas no germinaron y solo hubo escaso desarrollo en los niveles 1 y 3.

Tabla 1

Resultados de medidas morfológicas de los ejemplares de semilla de rábano (*Raphanus sativus*), zanahoria (*Daucus carota*), pepino (*Cucumis sativus*), y jitomate (*Solanum lycopersicum*) de cada germinadora

Nº de germinadora	Nº de muestra	Descripción	Radícula (cm)	Longitud de hipocótilo (cm)	Longitud de cotiledón (cm)	Observaciones
1	Frasco 1	Medio líquido al 100%. Rábano	0.8	1.3	0.4	Verde intenso, radícula ancha.
1	Frasco 2	Medio líquido al 100%. Pepino	0	0	0	Semillas sin germinar
1	Frasco 3	Medio líquido al 100%. Zanahoria	0	0	0	Semillas sin germinar
1	Frasco 4	Medio líquido al 100%. Rábano	0.8	1.2	0.5	Verde intenso, radícula ancha.
2	Frasco 5	Medio líquido al 100%. Jitomate	0	0	0	Semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 6	Medio líquido al 100%. Jitomate	0	0	0	Nivel 1. Semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 7	Medio líquido al 100%. Pepino	0	0	0	Nivel 2. Semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 8	Medio líquido al 100%. Rábano	0.6	1.08	0.4	Nivel 3. Verde intenso, radícula ancha.

Tabla 2

Resultados de medidas morfológicas de los ejemplares de semilla de rábano (*Raphanus sativus*) de cada germinadora.

Nº de germinadora	Nº de muestra	Descripción	Radícula (cm)	Longitud de hipocótilo (cm)	Longitud de cotiledón (cm)	Observaciones
1	Frasco 1	Medio líquido al 100%. Rábano	1.3	0.6	0.5	Verde intenso, radícula ancha.
1	Frasco 2	Medio líquido al 100%. Rábano	1.6	0.1	0.7	Verde intenso, radícula ancha, 1 semilla sin germinar
1	Frasco 3	Medio líquido al 100%. Rábano	1.2	0.5	0.8	Verde intenso, radícula ancha
2	Frasco 4	Medio líquido al 100%. Rábano	0.9	1.5	0.6	Verde intenso, radícula ancha
2	Frasco 5	Medio líquido al 100%. Rábano	0.5	1.7	0.7	Verde intenso, radícula ancha
2	Frasco 6	Medio líquido al 100%. Rábano	0.6	1.9	0.6	Verde intenso, radícula ancha
Prototipo	Frasco 7	Medio líquido al 100%. Rábano	0.5	0.7	0.8	Nivel 1, color amarillo, 2 semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 8	Medio líquido al 100%. Rábano	0.6	1.08	1.05	Nivel 1, color amarillo, radícula ancha 3 semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 9	Medio líquido al 100%. Rábano	0	0	0	Nivel 2, no germinó ni una semilla.
Prototipo	Frasco 10	Medio líquido al 100%. Rábano	0.7	1.6	1.7	Nivel 2, color amarillo, radícula delgada 3 semillas sin germinar
Prototipo	Frasco 11	Medio líquido al 100%. Rábano	0.5	0.5	0.4	Nivel 3, Color amarillo pálido, radícula delgada, 1 semilla sin germinar
Prototipo	Frasco 12	Medio líquido al 100%. Rábano	0.6	0.5	0.4	Nivel 3, color verde claro, radícula ancha, 2 semillas sin germinar.

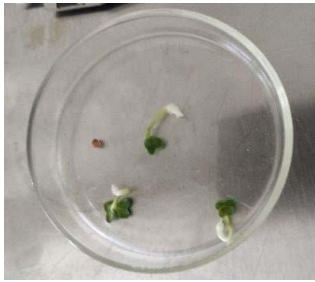


Figura 7  
Ejemplares de la germinadora 1. Segundo ensayo



Figura 8  
Ejemplares de la germinadora 2. Segundo ensayo



Figura 9

Ejemplares de la germinadora 3. Segundo ensayo

#### IV. CONCLUSIONES

En el primer ensayo lograron germinar 4 plántulas de rábano (*Raphanus sativus*) de un total de 12 plántulas, a base de cultivo líquido, en un frasco de los 3 colocados en la germinadora 3 (prototipo); Se lograron germinar semillas de rábano, esto debido a que el tiempo de germinación de esta semilla es menor al de las demás. Se logró evaluar la germinación in vitro de semillas de importancia agrícola en medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) a través de un prototipo. El prototipo cuenta con las características necesarias para germinar in vitro semillas de rábano en medios de cultivo Murashige & Skoog (MS), el equipo se encuentra en proceso de automatización para factores de temperatura y humedad, para lo cual, se está desarrollando un software que permita controlar las variables anteriormente mencionadas.

En comparación con la germinadora 1 y el prototipo, la germinadora que obtuvo un mejor rendimiento en cuanto a tiempo de germinación, tamaño y desarrollo de las plántulas fue la germinadora 2, en comparación con las semillas y plántulas de las dos cámaras de germinación. Durante la pandemia por el COVID-19, uno de los principales problemas a los que se enfrentó durante la investigación; fue que en las primeras reuniones con los docentes se llevaron a cabo en línea, para tal motivo la comunicación no era fluida, debido a problemas con la red; además de tener medidas un poco más restrictivas en cuanto al acceso a laboratorios, esto debido a que se buscaba evitar aglomeraciones de maestros y alumnos. Por otra parte, las semillas y algunos materiales de laboratorio no se encontraban fácilmente disponibles, debido a que los distribuidores tuvieron inconvenientes en ventas o envíos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baron, J., Vanegas, S. C. y Rocha, C. E. (2020). Gestión del ambiente del invernadero mediante un microcontrolador electrónico para el cultivo de vegetales. *Revista ESPACIOS*. ISSN, 798, 1015. Disponible en: <https://www.revistaespacios.com/a20v41n19/a20v41n19p01.pdf>
- Barragan, S. G., Ramos, O.H., Villalobos, G.L.L., Llamas, S.Z., Ortega, C.A., y Garibay, J.M. (2006). Diseño mecánico de un prototipo de sembradora de semillas de maíz. *Revista Chilena de Ingeniería*, 14(2), 130-134.
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. INIA, Uruguay. Disponible en: <http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Díaz, A. (2014). Biotecnología en todos lados: En los alimentos, en la medicina, la agricultura, la química... ¡y esto recién empieza! Disponible en: <https://books.google.es/books?id=XN-DwAAQBA-J&pg=PT5&ots=423oZNBcGs&dq=biotecnolog%C3%ADa%20en%20la%20agricultura&lr&hl=es&pg=PT15#v=onepage&q&f=false>
- Flores, L.A., Robledo, A.P. y Jimarez, M.J. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento in vitro de orquídeas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(6), 1315-1328.
- Garciglia, S.R. (2019). La propagación de plantas in vitro, un éxito biotecnológico. *Saber Más*. Disponible en: <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/75-numero-10/153-la-propagacion-de-plantas-in-vitro-un-exito-biotecnologico.html>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010, Zacapoaxtla, Puebla. Disponible en: [https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexico-cifras/datos\\_geograficos/21/21207.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexico-cifras/datos_geograficos/21/21207.pdf)
- Izquierdo, A. (2014). *Biotecnología*. Ciudad de México, México: ProMéxico
- Lozanda, W. R. (2016). Diseño y construcción de un germinador de semillas para consumo humano (Doctoral dissertation, Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Tecnología Mecánica). Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71399377.pdf>
- Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. (2010) Boletín Estadístico Tecnológico (4). Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bet\\_biotecnologia.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bet_biotecnologia.pdf)
- Muñoz, M.A. (2012). *Biotecnología*. Bernal, Buenos Aires: Universidad Nacional de Quilmes.
- Perea, M. (2009). *Manual de cultivo de tejidos vegetales in vitro*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- Pizarro, C. F. (2012). *Micropropagación. Manual de prácticas*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Edo. México. Disponible en: [http://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/micropropagacion\\_manualprac.pdf](http://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/micropropagacion_manualprac.pdf)
- ProMéxico. (2017). *Panorama actual de la Industria Biotecnológica en México*. Disponible en: <https://ethic.com.mx/docs/estudios/Panorama-Biotecnologia-Mexico.pdf>
- Rodríguez, Ana J., Rodríguez, Arlene., Quintero, S., Torres, María de los A., y Fundora, Zoila. (2004). Influencia de los medios de cultivo en la micropropagación de plátano (*musa spp.*) y malanga (*xanthosoma sagittifolium schott.*). *Cultivos Tropicales*, 25 (1), 23-26.
- Terry Alfonso, E., Ruiz Padrón, J., Tejeda Peraza, T., & Reynaldo Escobar, I. (2014). Efectividad agrobiológica del producto bioactivo Pectimorf® en el cultivo del Rábano (*Raphanus sativus L.*). *Cultivos Tropicales*, 35(2), 105-111. Recuperado en 26 de julio de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000200014&lng=es&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000200014&lng=es&tlng=en)
- Wilches, A. (2010). La biotecnología en un mundo globalizado. *Revista colombiana de Bioética*. 5(2), 164-169.
- Zurita, W.V., Gómez, J.E., Mendoza, E.A., Hernández, A.G., Granados, M.E., y García, J.J. (2014). Establecimiento de un método eficiente de germinación in vitro y micropropagación del cirimo (*tilia mexicana Schlecht.*) (*tiliaceae*). *Polibotánica*, 1(38), 129-144

