



**“Inducción *in vitro* de brotes en callo o en yemas laterales de tallo de
Loeselia mexicana”**

TESIS

Para obtener el grado de
Especialista en Biotecnología

PRESENTA

Rubén Lince Luna

Asesor:

Dr. Francisco Cruz Sosa

Co-Asesor

M. en C. María de Lourdes Martínez Cárdenas

Lector:

Dra. Angélica Román Guerrero

Ciudad de México

Octubre, 2017

7 de diciembre de 2017

El Jurado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la comunicación idónea de los resultados

"Inducción *in vitro* de brotes en callo o en yemas laterales de tallo de *Loeselia mexicana*"

Que presentó:

Rubén Lince Luna

Codirección:

Dr. Francisco Cruz Sosa



M. en C. María de Lourdes Martínez Cárdenas



Lector:

Dra. Angélica Román Guerrero



AGRADECIMIENTOS

En estas líneas quiero expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Francisco Cruz Sosa por la orientación, el seguimiento y supervisión continúa en la realización del presente trabajo.

Especialmente agradecerle a la M. en C. Ma. de Lourdes Martínez Cárdenas por haber mostrado especial interés, en la elaboración del proyecto, por su tiempo y dedicación, además por la confianza en mí depositada y sobre todo por el ánimo infundido que continuamente me brindó.

Quiero hacer extensa mi gratitud a las compañeras Lizet Aguirre Alberto, Ruth Mireya García Ramírez y Nancy Camacho López del laboratorio de Genética Evolutiva por las sugerencias recibidas y su ayuda en la parte experimental para la obtención de los resultados.

También quiero agradecer infinitamente la compañía y todo el apoyo recibido por parte de mis Padres, hermanas y familiares, quienes siempre me motivan para concluir con mis metas.

Índice General

Índice de figuras	i
Índice de cuadros	ii
Resumen	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Auxinas	3
2.2. Citocininas	4
2.3. Efecto in vitro de auxinas y citocininas en conjunto	10
III. JUSTIFICACIÓN	5
IV. HIPÓTESIS	6
V. OBJETIVOS	7
5.1. Objetivo general	7
5.2. Objetivos particulares	7
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	8
6.1. Material Vegetal	8
6.2. Preparación del medio de cultivo (Para yemas laterales)	8
6.3. Inducción de callo	9
VII. RESULTADOS	10
7.1. Inducción de callo	10
7.2. Esquejes	11
7.3. Tratamientos con y sin carbón activado	12
VIII. DISCUSIÓN	14
IX. CONCLUSIONES	17
X. PERSPECTIVAS	18
XI. REFERENCIAS	19

ÍNDICE DE FIGURAS

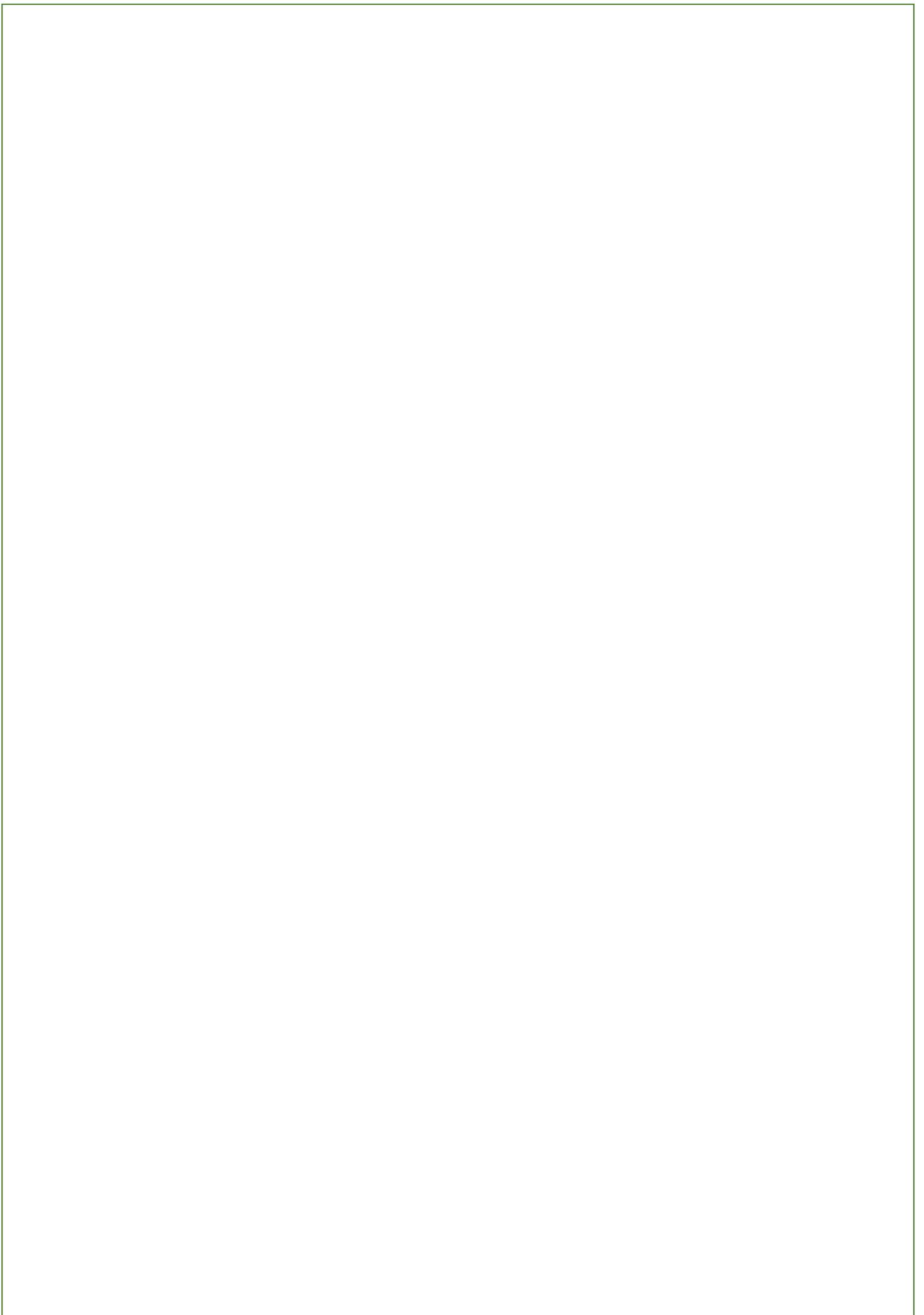
Figura 1. Callo de <i>L. mexicana</i> (proveniente de resiembra)	10
Figura 2. Callo obtenido de la combinación KIN 1 mgL ⁻¹ + 2,4-D 2 mgL ⁻¹ en la semana 2. Microscopio estereoscópico	12
Figura 3. Esqueje con respuesta en la combinación KIN 2 mg L ⁻¹ con 2,4-D 1 mg L ⁻¹ , sin carbón activado en la semana 4	13

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Combinaciones para callo KIN y ANA en mg L ⁻¹	9
TABLA 2. Tratamientos con diferentes concentraciones KIN/ANA mg L ⁻¹	10
TABLA 3. Respuesta en los esquejes por tiempo de desinfección (%)	11
TABLA 4. Tratamientos realizados con CA, con y sin fungicida	13

RESUMEN

Loeselia mexicana comúnmente conocida como "espinosilla", es utilizada con fines medicinales para tratar desórdenes gastrointestinales, nervios, ansiedad, rubeola, sarampión, varicela, fiebre pueril, tos y ronquera, entre otros padecimientos; además tiene aplicación en productos de uso personal como jabón y champú para el control de caspa y la caída de cabello. Por tales motivos, es una planta con importancia comercial y que debido a la sobreexplotación y a que no existen cultivos comerciales puede estar a corto o largo plazo en peligro de extinción. Se colectaron tallos jóvenes de plantas ubicadas en el cerro "El Teuhtli". Para su cultivo *in vitro*, se utilizó medio MS, suplementado con combinaciones de reguladores de crecimiento vegetal: cinetina y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (KIN + 2,4-D), ácido naftalenacético y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (ANA + 2,4-D) y bencilaminopurina y ácido naftalenacético (BAP + ANA); se agregó una mezcla antioxidante de ácido ascórbico y ácido cítrico (1 mg L⁻¹ cada uno) más fungicida previo a la desinfección y se hicieron medios con y sin carbón activado. Se calculó el promedio de la contaminación por esqueje y del callo. Se trabajaron 25 callos resembrándolos en medio fresco. Se realizaron dos resiembras cada dos meses, en la primera se obtuvieron 39 frascos con callo, en la segunda resiembra quedaron 25 frascos con callo. El material conservado se resembró en medio de cultivo MS con combinaciones de KIN + ANA. Para los esquejes, el medio de cultivo usado fue sin carbón activado, con la combinación KIN 2 mg L⁻¹ y 2,4-D 1 mg L⁻¹ y con fungicida previo a la toma de muestra y antes de la siembra fue la que dio la mejor respuesta. Los tiempos de desinfección y la concentración de los reactivos que no dañaron los esquejes fueron: jabón 10 min, hipoclorito de sodio 0.6% 10 min, etanol 5 min y fungicida. Los esquejes produjeron callo sin carbón activado adicionado al medio y en los callos resembrados aumentó el peso fresco de la biomasa.



I. INTRODUCCIÓN

Loeselia mexicana (Lam.) Brand, es una planta angiosperma que pertenece a la familia Polemoniaceae, se caracteriza por ser de tipo arbustivo y de crecer como vegetación secundaria en lugares con bosque de pino-encino y en zonas que fueron perturbadas. Se encuentra distribuida desde el territorio sur de Estados Unidos, hasta el sur de la República Mexicana. Esta especie comúnmente conocida como "espinosilla", es utilizada con fines medicinales (Rojas *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 2005) y se emplea en las fiebres puerperales, contra disentería, bilis, dolor e inflamación del estómago, tifoidea, bronquitis, gripe, ronquera y tos. Por vía de administración tópica, se aplica contra la caspa y caída del pelo, rubéola, sarampión y varicela. El cocimiento de las ramas y flor se utiliza en afecciones renales, como diurético y purgante. También se emplea como una especie de jabón para la limpieza (CONABIO, 2016).

El uso y manejo de la espinosilla como remedio casero para tratar diferentes enfermedades, puede resultar en la disminución de las poblaciones silvestres de *L. mexicana*. El cultivo *in vitro* de tejidos y células vegetales, es una herramienta muy importante en aspectos relacionados con la recuperación de especies y su propagación. También ayuda a establecer una herramienta para estandarizar las características que permitan usar comercialmente a esta especie sin necesidad de intervenir o alterar su población silvestre.

Los reguladores de crecimiento vegetal o fitoreguladores, juegan un papel importante en las técnicas de cultivo *in vitro*, ya que son estos los que pueden acelerar los procesos de desdiferenciación o rediferenciación de ciertas células

totipotenciales, sobre todo en meristemos. Las hormonas y reguladores del crecimiento vegetal que se han descrito son las auxinas, las giberelinas, las citocininas, el etileno y el ácido abscísico. (Stewart, 2008).

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 AUXINAS

Las auxinas, cuyo significado en griego es 'crecer' son un grupo de hormonas vegetales naturales que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento de plantas, que estimulan la elongación. La forma predominante en las plantas son el ácido indolacético (IAA), el ácido 4-cloro-indolacético (4-Cl IAA), ácido fenilacético (PAA), ácido indol butírico (IBA) y el ácido indol propiónico.

Aunque las auxinas se encuentran en toda la planta, las más altas concentraciones se localizan en las regiones meristemáticas en crecimiento activo y están implicadas en la regulación de un número de procesos fisiológicos (Taiz y Zeiger, 2010):

- Promueven el crecimiento y diferenciación celular, y por lo tanto en el crecimiento en longitud de la planta,
- Estimulan el crecimiento y maduración de frutas,
- floración,
- senectud,
- geotropismo,
- Retardan la caída de hojas, flores y frutos jóvenes
- dominancia apical

Efectos en *cultivo in vitro*

- Estimulan el enraizamiento *in vitro*
- Permiten la elongación de la célula:
- Promueven la síntesis de etileno

2.2 CITOCININAS

Las citocininas son hormonas vegetales naturales que estimulan la división celular en tejidos no meristemáticos. Inicialmente fueron llamadas quininas, sin embargo, debido al uso anterior del expresión para un grupo de compuestos en la fisiología animal, se adaptó el término citocinina (citocinesis o división celular).

Las citocininas extraídas en plantas son la zeatina (ZEA), la dihidrozeatina y la isopentenil adenina (IPA); la cinetina (KIN), la bencilaminopurina (BAP), y la citocinina tiazurón (TDZ), se han sintetizado de manera artificial.

Los efectos generales de las citocininas en plantas incluyen:

- estimulación de la germinación de semillas
- estimulación de la formación de frutas sin semillas
- ruptura del letargo de semillas
- mejora de la floración
- alteración en el crecimiento de frutos
- ruptura de la dominancia apical.
- inducción de la formación de brotes

Efectos en *cultivo in vitro* (Salisbury y Ross, 1992):

- Promueven la división celular
- Promueven a formación de órganos

2.3 EFECTO *IN VITRO* DE AUXINAS Y CITOCININAS EN CONJUNTO

En cultivo *in vitro*, la combinación de reguladores de crecimiento vegetal más utilizada es ANA y BAP; también han sido efectivas las auxinas, tales como IBA y 2,4-D, y las citocininas como 2iP, KIN, ZEA y TDZ (Levitus *et al.*, 2010).

En equilibrio, las dos hormonas pueden producir raíces y yemas, por lo tanto, una plantita incipiente. Alterando ligeramente las concentraciones relativas de auxina y citocinina se puede modificar el desarrollo de las células indiferenciadas de los cultivos de tejidos.

Una concentración más o menos igual de las dos hormonas, hace que las células sigan indiferenciadas, formando masas de tejido llamadas callos.

Cuando la concentración de auxina es superior, el tejido indiferenciado organiza raíces y con una concentración superior de citocinina, se forman yemas.

III. JUSTIFICACIÓN

En Quminet.com (2016 • Quiminet <http://www.quiminet.com/productos/loeselia-mexicana-38186208503/ofertas.htm>), se menciona que existen 15 proveedores de *L. mexicana*. En el 2015 el precio por pieza fue de \$300.00, no se indica a que se refiere el término “pieza”; solo dos de estas empresas ofrecen la planta, no se dice si la cultivan y las otras compañías no mencionan qué ofrecen como producto. Lo anterior hace pensar que la planta se colecta silvestre de las comunidades donde crece de forma natural y que puede haber una sobreexplotación que llevará a las comunidades vegetales a disminuir y llegar a estar en los listados de amenazada.

Una de las ventajas del cultivo *in vitro*, radica en que es un proceso que no requiere de nuevo material biológico de campo cuando ya se tienen tejido u órganos bajo reproducción continua, por lo que el cultivo de tejidos vegetales es una herramienta que se puede aplicar como alternativa de conservación (Guillén *et al.*, 2015). Aguirre (2016), logró producir callos y raíces a partir de tallos usando las concentraciones de cinetina 3, 5 y 7 mg L⁻¹, en combinación con ANA a una concentración de 3 mg L⁻¹, con cinco replicas por cada combinación. El variar las concentraciones de los fitoreguladores utilizadas por Aguirre (2016), podría ser útil para obtener brotes y regenerar plantas a partir de callo, además de probar otras combinaciones y concentraciones para promover la formación de brotes a partir de tallo.

IV. HIPÓTESIS

Las proporciones en las combinaciones de auxinas/citocininas provocarán diferentes respuestas en un tejido o callo, si se combinan ANA y KIN en distintas concentraciones, se podrán obtener respuestas como obtención de brotes o raíces aplicadas a callo y esquejes de tallo.

V. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Inducir la formación de brotes de *Loeselia mexicana* a partir de tallos o callos obtenidos *in vitro*.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Promover diferenciación para regenerar plantas a partir de callo obtenido *in vitro*, con KIN y ANA en diferentes concentraciones.
- Promover el desarrollo de brotes en meristemas laterales de tallo de la planta de *L. mexicana* agregando KIN con 2,4-D y BAP con ANA en diferentes concentraciones.
- Promover la formación de raíz en los brotes obtenidos del tallo o callo con AIB o AIA.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 MATERIAL VEGETAL

Se colectaron tallos jóvenes de plantas ubicadas en el cerro "El Teuhtli", San Gregorio, Delegación Xochimilco, en la Ciudad de México. Las coordenadas son: 19° 13' 44" N y 99° 2' 55" S

6.2 PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO (Para yemas laterales)

Se utilizó medio MS sólido (Murashige y Skoog, 1962). Con las siguientes combinaciones de reguladores del crecimiento vegetal: KIN con 2,4-D o ANA y BAP con 2,4-D o ANA; se les agregó ácido ascórbico y ácido cítrico (1 mg L⁻¹ cada uno) como una mezcla antioxidante.

Las concentraciones de KIN y BAP usadas fueron 1, 2, 3, 4 o 5 mg L⁻¹. Para las auxinas ANA y 2,4-D se ocuparon las concentraciones 1, 2 o 3 mg L⁻¹, con cinco replicas por cada combinación.

Se agregó 30 g L⁻¹ de sacarosa, el pH se ajustó a 5.8 y se añadió Phytigel al 0.4 % se calentó hasta disolver el gelificante, en algunos medios se agregó carbón activado al 2%; se vertieron 30 mL del medio de cultivo en frascos de 100 mL y se esterilizó en autoclave a 1.2 atm por 20 min junto con materiales de disección requeridos para la siembra.

Para desinfectar los esquejes se utilizaron diferentes tiempos de lavado, con fungicida comercial (CAPTAN) al 1% en peso, con jabón comercial líquido al 1%,

etanol al 70% e hipoclorito de sodio al 0.6% (Cloralex al 10%) con enjuagues con agua destilada esterilizada entre ellos.

Se sembraron dos esquejes por frasco con treinta repeticiones. Se incubaron en una cámara de crecimiento a 25 °C de temperatura y fotoperiodo de 8 h luz al día.

Debido al tiempo que se lleva la siembra para cada una de las combinaciones, se realizó una siembra por combinación con todas las concentraciones.

En la siembra 6, se colectó en campo la planta completa, aclimatándola, y 36 h antes del corte de los tallos se agregó a la tierra y hojas Captan 20 g L⁻¹.

6.3 PROLIFERACIÓN DE CALLO

Se contó con callos previamente obtenidos por Aguirre (2016), que se resembraron en medio de cultivo MS con KIN 5 mg L⁻¹ y ANA 3 mg L⁻¹ y carbón activado al 2% para mantener y aumentar la masa fresca del callo y se repitió la resiembra cada dos meses para incrementar la biomasa. El material conservado se resembró en combinaciones de KIN y ANA de acuerdo con la tabla 1:

Tabla 1 Combinaciones para callo KIN y ANA en mg L⁻¹

KIN	5	6	7	5	5
ANA	3	3	3	1	0

Se revisaron los cultivos *in vitro* cada tercer día para detectar la posibilidad de contaminación o bien, las respuestas a los reguladores del crecimiento vegetal tal como la aparición de brotes o raíz, así como el aumento del peso fresco del callo.

VII. RESULTADOS

7.1 PROLIFERACIÓN DE CALLO

Se resembraron 25 callos en medio de cultivo fresco (Fig. 1). Se realizaron dos resiembras cada dos meses de las cuales se obtuvieron 39 callos, de la segunda resiembra se obtuvieron 25 callos, los demás se descartaron al presentar oxidación.



Figura 1 Callo de L. mexicana (proveniente de resiembra)

Segunda resiembra: cinco callos por tratamiento. Los resultados se presentan en la tabla 2

Tabla 2 Tratamientos con diferentes concentraciones KIN/ANA mg L⁻¹

KIN : ANA	OBSERVACIONES
5 : 3	Se observó un aumento de biomasa y un tono café. Se contaminó un frasco (hongo)
6 : 3	No hubo aumento de biomasa Se contaminaron dos frascos (hongo)
7 : 3	No hubo aumento de biomasa Se contaminaron dos frascos (hongo)
5 : 1	No hubo aumento de biomasa Se contaminó un frasco (hongo)
5 : 0	No hubo aumento de biomasa Se contaminó un frasco (hongo)

7.2 ESQUEJES

TRATAMIENTOS PARA LA DESINFESTACIÓN

De los 150 esquejes que se sometieron a la desinfestación, se registró la contaminación cada tres o cinco semanas según la sobrevivencia, los resultados se muestran en la tabla 3 (contaminados, sobrevivientes y oxidados).

Tabla 3 (%) Respuesta en los esquejes por tiempo de desinfección

Tratamiento	Et OH, NaCl O min	NaClO , Et OH, min	% CONTAMINACIÓN		% Desección n del explante	% total mortalida d	% Explante s vivos
			Seman a 3	Seman a 5			
1	10, 5		27.69	38.4	56.92	95.02	4.68
2	10, 5		73.33	88.66	11.33	99.99	0.01
3		5,10	80	0	16	96	4
4		10,10	73.33	0	26.66	99.99	0.01

En la tabla 3 puede observarse que los explantes cultivados con los tratamientos 1 y 2 se desinfectaron con los mismos tiempos de hipoclorito de sodio al 0.6% y etanol al 70%, de estos explantes después de cinco semanas debido a la alta contaminación observada y muerte por desecación se tuvo una sobrevivencia del 4.68%. En la segunda siembra la contaminación fue más agresiva, sin embargo, sobrevivieron hasta la quinta semana.

En el tratamiento tres se modificó el orden de lavado y hubo una sobrevivencia de 4% en la semana tres, de estos con la combinación KIN/2,4-D se obtuvo el 1.3% de callo con los siguientes tratamientos: KIN 1 mg L⁻¹ con 2,4-D 2 mg L⁻¹, KIN 2 mg L⁻¹ con 2,4-D 1 mg L⁻¹ y KIN 1 mg L⁻¹ con 2,4-D 1 mg L⁻¹. Después de la semana tres no hubo sobrevivencia de los esquejes ya que llegó al 96% de mortalidad.

En el tratamiento 4 se aumentó el tiempo con NaClO, no se obtuvo respuesta del esqueje, el porcentaje de mortalidad en la semana 3 fue de 99.99% debido a lo agresivo del proceso de desinfección.



Figura 2 Callo obtenido de la combinación KIN 1 mgL⁻¹ / 2,4-D 2mgL⁻¹ en la semana dos. Microscopio estereoscópico.

7.3 TRATAMIENTOS CON Y SIN CARBÓN ACTIVADO

El tratamiento 1, con la combinación KIN 2 mg L⁻¹ y 2,4-D 1 mg L⁻¹ fue el que tuvo la mejor respuesta en las siembras anteriores (tabla 3); se decidió tomar este orden y tiempos de lavados para las siguientes siembras. Además, se agregó fungicida previo a la desinfección, los medios de cultivo se prepararon con o sin carbón activado. Se calculó el porcentaje de la contaminación por esqueje y producción del callo (Tabla 4).

En los tratamientos de la tabla 4, los medios de cultivo se prepararon con y sin carbón activado; el tratamiento 5 se elaboró sin carbón activado y la planta madre estuvo en condiciones de invernadero.



Figura 3 Esqueje con respuesta en la combinación KIN 2 mg L⁻¹ con 2,4-D 1 mg L⁻¹, sin carbón activado en la semana 4

Tabla 4 Tratamientos realizados con CA, con y sin fungicida.

Tratamiento	Semana	Carbón activado	% contaminación	% Muerte total	% callo	% Vivos
1	6	+	36.66	100	0	0
2	6	+	45	100	0	0
3	6	+	43.33	80	0	20
4	6	+	58.33	100	0	0
	6	-	40	81.67	18.33	18.33
5	5	-	51.66	80	18.33	20

Siembras en color oro: con fungicida.

Los tratamientos del 3 al 5 (tabla 4) con y sin carbón activado en el medio de cultivo fueron tratados con fungicida en el explante. La mortalidad de los explantes fue menor en la siembra 3, por lo cual se decidió tratar los esquejes con Captán al 10%. La contaminación se redujo y se pudo obtener callo con el 18.33% de los explantes. En el tratamiento 5, se trató a la planta con Captán al 20% en el riego 3 días antes de cortar los esquejes y además a estos mismos se les dio el tratamiento con el fungicida de la misma forma que en la siembra 4. La contaminación por hongo se erradicó pero se presentó contaminación por bacterias, sin embargo se obtuvo la misma cantidad de respuesta y mayor número de esquejes vivos.

VIII. DISCUSIÓN

La contaminación más frecuente cuando se tienen plantas madre silvestres para los explantes es la presencia de hongos. Los hongos comúnmente están asociados con las plantas silvestres sin ser patógenos, habitualmente pueden estar formando micorrizas y su presencia se extiende desde el suelo al interior de la planta y puede ser hasta estructuras distales (Camargo-Ricalde, *et al.* 2012). Dado lo anterior, si hay presencia de hongo en el tejido tomado como explante, éste desarrollará más rápido que la respuesta que pueda dar el explante mismo, así se requiere de realizar no solo una desinfección sino una verdadera desinfección, de tal forma que se elimine la contaminación y se dañe lo menos posible al explante para que pueda dar una respuesta al cultivo *in vitro*.

Al comparar los tiempos de lavado en la tabla 3 en cada siembra, se observó que la contaminación no disminuyó con mayor tiempo de exposición al NaClO y provocó la mortandad de los esquejes. En los tratamientos 1 y 2, con los mismos tiempos y orden de los desinfectantes, se presentó contaminación y baja sobrevivencia sin respuesta de los esquejes. En los tratamientos 3 y 4 se invirtieron el orden de los desinfectantes y se usaron dos tiempos con NaClO, obteniendo alto porcentaje de contaminación y los explantes no sobrevivieron después de la semana 3, probablemente por la acción oxidante y corrosiva del NaClO como primer reactivo.

Al analizar el porcentaje de mortalidad no se observa diferencia entre los cuatro tratamientos pero debido a que el tiempo de vida fue mayor en las dos primeras, se optó por dejar los tiempos y el orden de desinfectantes de las siembras 1 y 2 para los posteriores experimentos y se prefirió sembrar en un medio con carbón activado para evitar la oxidación.

Se hicieron repeticiones con la combinación KIN 2 mgL⁻¹ /2,4-D 1 mgL⁻¹ que fue la que produjo una respuesta positiva y con el tiempo de lavado donde se registró la mayor sobrevivencia y que fue la menos agresiva para el esqueje.

Los callos obtenidos a partir de esquejes en el tratamiento 3, se resembraron en la misma combinación ya que ésta generó mayor cantidad de biomasa para poder utilizarlo con diferentes reguladores del crecimiento vegetal que pudieran inducir al brote.

Debido a la prevalencia de contaminación, se utilizó el fungicida (CAPTAN) para disminuirla y tratar de erradicarla a partir de la tercera siembra, de tal forma que esto implica una desinfección. En la tabla 4, se observa que la contaminación disminuye hasta un 51.66% al mantener la planta en condiciones de invernadero y tratada con Captán.

En los tratamientos sin carbón activado se observó callo, como en el trabajo de Aguirre (2016), se ensayaron dos siembras sin carbón activado y se les agregó una mezcla antioxidante (ácido cítrico y ácido ascórbico) con la cual se observó que en tratamiento 4 y 5 (tabla 4) se obtuvo 18.3 % de callo y 20 % de

sobrevivencia respectivamente.

En la siembra 5, se logró la erradicar el crecimiento de hongos en los cultivos, sin embargo, hubo presencia de bacterias, puede ser que éstas estuvieran presentes en el tejido pero se desarrollaron debido al aumento de temperatura (38 °C) en la cámara de crecimiento provocada por un desajuste en el aire acondicionado. Se aconseja agregar algún antibiótico en el medio de cultivo.

Comparando los resultados de este trabajo con los de Aguirre (2016), único que se conoce hasta el momento para el género *Loeselia*, se confirmó que los tiempos de desinfección menos agresivos para el esqueje fueron los mismos que los nuestros; utilizar el fungicida y adicionar la mezcla de antioxidantes al medio de cultivo permitió aumentar la biomasa del callo, controlar la contaminación de los esquejes y la coloración y friabilidad de los callos.

IX. CONCLUSIONES

El tratamiento con la combinación y las concentraciones de los reguladores del tratamiento vegetal de KIN 5mgL^{-1} + ANA 3 mg L^{-1} fue la que logró la mayor producción de biomasa de callo en fresco.

El tratamiento más favorable para que en el material biológico disminuyera la contaminación y la oxidación fue cuando se utilizaron las condiciones de concentración de los reactivos en un tiempo determinado de: jabón 4 gotas por litro durante 10 min, hipoclorito de sodio al 0.6% por 10 min y etanol al 70% 5 min.

La combinación de reguladores del tratamiento vegetal que dio la mejor respuesta para la inducción de callo fue KIN 2 mgL^{-1} + 2,4-D 1mg L^{-1} .

La adición de un fungicida a los esquejes y a la planta es un factor importante para evitar la contaminación, sobre todo cuando la planta se colecta en campo.

Se sugiere agregar algún antibiótico para prevenir el desarrollo de bacterias oportunistas.

No es necesario adicionar carbón activado al medio de cultivo para reducir la oxidación de los explantes.

X. PERSPECTIVAS

Se recomienda tener plantas en condiciones de invernadero para asegurar que estén libres de patógenos y tener material biológico aséptico.

Tener tiempos y concentraciones para la desinfección más que desinfestación del material vegetal adecuada para evitar la contaminación y la oxidación.

Inducir la promoción de brotes, raíz o embriogénesis somática en los callos obtenidos, a base de cambios en los reguladores de crecimiento, sus combinaciones y concentraciones. A partir de los cuales se pueden regenerar plantas para ofrecerlas a la industria farmacéutica y cosmética colaborando de esta manera a la conservación de la especie.

XI. REFERENCIAS

Aguirre Alberto L. 2016. Micropropagación de *Loeselia mexicana*. Reporte Proyecto de Investigación. Biología Experimental UAM Iztapalapa.

Arizaga S. (2007). Estudio y Colección Viva de Plantas Medicinales Nativas y Formación de un Banco de Germoplasma del Estado de Michoacán. Informe final. Centro de Investigaciones en Ecosistemas, UNAM-Campus Morelia, pp. 16.

Azofeifa A. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. Rev. Agronomía Mesoamericana 20 (1): 153-175.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: Espinosilla. Universidad Nacional Autónoma de México.

Brand A. (1907). Polemoniaceae. 5. *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand. Das Pflanzenreich 27[IV, 250]: 174 Disponible en: <http://bibdigital.rjb.csic.es/ing/Libro.php?Libro=1758> (Revisado: 10-septiembre-2016)

Camargo-Ricalde S L, Montaña N M, De la Rosa-Mera C J y Montaña Arias S A. 2012. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria, Volumen 13 Número 7 • ISSN: 1067-6079.

Castillo, Silvia, *et al.* (2004). Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D.F., México). Boletín de la Sociedad Botánica de México: Sistemática y Florística, 74: 51-75. 29

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2010). Plantas medicinales de la Farmacia Viviente del CEFOFOR: usos terapéuticos tradicionales y dosificación.

SEMARNAT, México, 64-65 pp.

CONABIO, *Loeselia mexicana*

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polemoniaceae/loeselia-mexicana/fichas/ficha.htm> (revisado 2 junio 2016, 13:40 h.)

Guillén, S., Martínez, A., Martínez, H., Martínez, J. (2015). Organogénesis y embriogénesis somática de *Beaucarnea inermis* (Asparagaceae), una especie amenazada del noreste de México. *Botanical Sciences*, 93 (2): 110.

Gonzalez, A.M, Raisman, J.S., Aguirre, M. (1999). Hormonas de las plantas: auxinas. <http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/biologia/intrbiol/auxinas.htm> (revisado enero, 2017)

Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., Mroginski, L. (2010). *Biología y Mejoramiento Vegetal II*. 2da edición. Ed. INTA, Argentina, pps: 351-376.

Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Biologia Plantarum*, 15: 473-497.

Pérez, S., Pérez, C., Zavala, M. (2005). A study of the antidiarrheal properties of *Loeselia mexicana* on mice and rats. *Journal of Phytomedicine*, 12: 670-674.

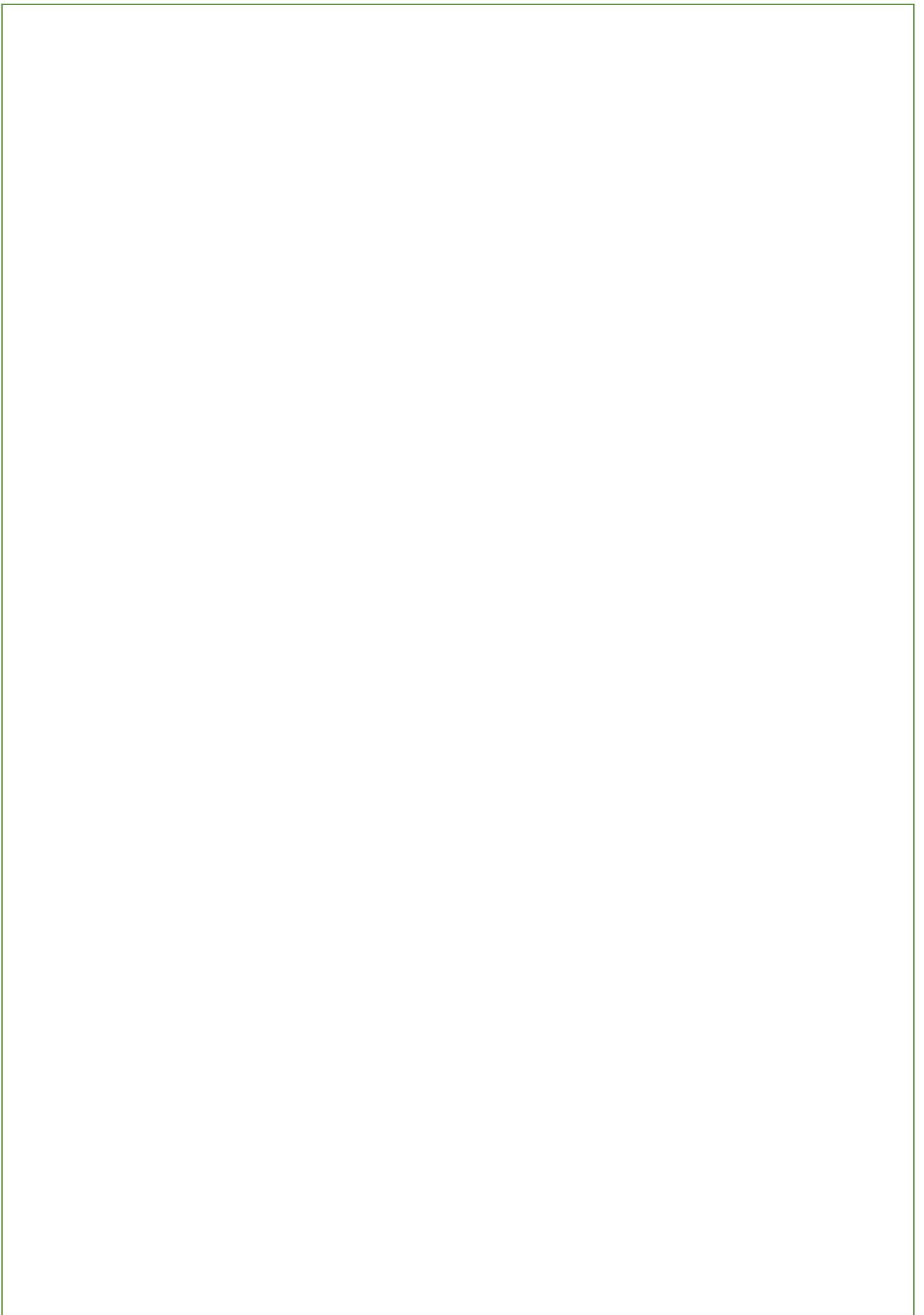
Rojas A., Rojas, J., Serrano, V., Pacheco, S. (1999). Spasmolytic activity of some plants used by the Otomi Indians of Queretaro (Mexico) for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytomedicine*, 6: 367-371.

Salisbury FB, Ross CW.1992. *Fisiología Vegetal*. Iberoamericana. México.423 -428 pp.

Stewart, C. N. (2008). *Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques, and Applications*. Ed. Wiley and Sons Inc., U.S.A., 416 pp.

Taiz L., Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer. U.S.A. 546 – 578 pp.

Quiminet<http://www.quiminet.com/productos/loeselia-mexicana-38186208503/ofertas.htm> [Consulta: 16_11_16]





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00188
Matrícula: 2163802268

INDUCCIÓN IN VITRO DE BROTES
EN CALLO O EN YEMAS
LATERALES DE TALLO DE
Loeselia mexicana

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 7 del mes de diciembre del año 2017 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. FRANCISCO CRUZ SOSA
MTRA. MARIA DE LOURDES MARTINEZ CARDENAS
DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO

siendo la primera asesora del alumno y lectora la segunda, de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

DE: RUBEN LINCE LUNA

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, se comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISSASI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

ASESOR

DR. FRANCISCO CRUZ SOSA

ASESORA

MTRA. MARIA DE LOURDES MARTINEZ
CARDENAS

LECTORA

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO