

- importancia de la micropropagación para la restauración y conservación de especies nativas endémicas

- Conservación de la biodiversidad:
permite multiplicar rápidamente plantas en peligro de extinción, ayudando a mantener la diversidad genética y preservar especies que podrían desaparecer.

- Restauración de hábitats:
con esta técnica, se pueden producir grandes cantidades de plantas nativas que son fundamentales para restaurar ecosistemas degradados. Esto contribuye a la recuperación de la flora y fauna local.

- Acelera el proceso:

A diferencia de la propagación convencional, la micropropagación permite obtener un número considerable de plantas en un corto periodo, lo cual es esencial en proyectos de restauración que requieren una respuesta rápida.

- eliminación de patógenos:

Al cultivar las plantas in vitro, se reduce el riesgo de enfermedades y plagas que podrían afectar el crecimiento y desarrollo de las especies.

- adaptabilidad:

micropropagadas pueden ser adaptadas a condiciones específicas del entorno donde se van a reintroducir lo que aumenta las probabilidades de éxito en su establecimiento.

- Aplicaciones de la micropropagación en la restauración ecológica y la conservación de especies nativas endémicas.

Las principales aplicaciones de la técnica de cultivo de células tejidas y órganos vegetales son en los campos de micropropagación: obtención de plantas libres de patógenos, preservación de germoplasma, mejoramiento genético, biosíntesis de metabolitos e investigación básica en áreas como la genética, fisiología y bioquímica.

- Ventajas y aplicaciones de la micropropagación en la restauración y conservación de especies.

Ventajas de la micropropagación:

- Producción rápida que permite obtener grandes cantidades de plantas en un corto periodo de tiempo.

- Uniformidad Genética: las plantas producidas son genéticamente idénticas a la planta madre lo que asegura uniformidad en características deseables, como resistencia a enfermedades.

- Eliminación de patógenos: al cultivarse in vitro, se reduce el riesgo de enfermedades y plagas, lo que resulta en plantas más sanas y vigorosas.

- Conservación de especies: facilita la preservación de especies en peligro.

- adaptabilidad: se pueden seleccionar y cultivar variedades que sean más adaptadas a condiciones específicas del entorno donde se reintroducirán.

- Facilidad de transporte: las plantas microporogación suelen ser más pequeñas y fáciles de transportar, lo que implica su distribución en proyectos de restauración.

- principios fisiológicos y bioquímicos de la microporogación.

Fisiológicos:

- totipotencia celular: esto permite que a partir de una pequeña porción de tejido se pueden obtener nuevas plantas.

- diferenciación celular: durante este proceso las células pueden diferenciarse en diferentes tipos de tejidos (como raíces, tallos y hojas).

- regeneración adventicia: esto permite obtener nuevas plantulas a partir de partes como hojas o tallos.

- crecimiento in vitro: las condiciones controladas del cultivo in vitro (como luz, temperatura y humedad).

Favorecen un crecimiento óptimo, lo que resulta en plántulas sanas, sanas y robustas

Bioquímicos =

- Hormonas vegetales: estas hormonas influyen en procesos como la formación de raíces (auxinas) y la producción de brotes (citoquininas).

- Composición del medio de cultivo: para el cultivo in vitro contienen nutrientes esenciales (nitrógeno, fósforo, potasio), azúcares y vitaminas que son necesarios para el crecimiento celular y la regeneración.

Metabolismo Secundario: lo que puede influir en características como el sabor o la resistencia a enfermedades en las plantas producidas.

- Inmunidad inducida: el estrés controlado durante el cultivo in vitro puede activar mecanismos de defensa en las plantas, resultando en una mayor resistencia a patógenos una vez que se reintroducen al ambiente natural.

Establecimiento y manejo de un laboratorio de micropropagación

• Diseño y construcción de un laboratorio de micropropagación

- Requisitos generales

1. Ubicación: El laboratorio debe estar ubicado en un área con acceso controlado y lejos de fuentes de contaminación

2. Tamaño: El tamaño dependerá del número de personas que trabajaran en el laboratorio y del tipo de micropropagación que se realiza.

3. Ventilación: Debe tener una buena ventilación para evitar la acumulación de etanol y otros químicos

4. Iluminación: La iluminación debe ser suave y no emitir radiación UV que pueda dañar las plantas.

- Áreas del laboratorio

1. Área de recepción y preparación de material vegetal

2. Área de esterilización y limpieza

3. Área de micropropagación (invernaderos o cuartos de crecimiento)

4. Área de observación y manipulación de cultivos

5. Área de almacenamiento de materiales y suministros

- Equipamiento

1. Mesas de trabajo estériles

2. Lámparas de seguridad (para evitar contaminación)

3. Autoclave o esterilizadora
4. incubadoras e invernaderos
5. microscopios
6. Equipos de medición (pH, temperatura, humedad)
7. Sistemas de iluminación y control de temperatura

- Consideraciones de bioseguridad

1. Uso de ropa protectora (bata, guantes, mascarilla)
2. protocolos de esterilización y desinfección
3. Control de acceso y manipulación de material vegetal

- Instalaciones especiales

1. Sistema de agua destilada o purificada
2. Sistema de extracción de aire
3. Sistema de control de temperatura y humedad.

• Equipos y materiales necesarios para la micropropagación

- Equipos

1. Autoclave o esterilizadora: para esterilizar materiales y equipos.
2. incubadoras e invernaderos: para controlar la temperatura, humedad y luz de los cultivos.
3. Microscopio: para observar las células y tejidos en cultivo
4. Lámparas de seguridad: para evitar la contaminación en el área de trabajo.
5. Mesas de trabajo estériles: para manipular los cultivos en un ambiente limpio

6. Equipo de medición (pH, temperatura, humedad) para controlar las condiciones de cultivo
7. Sistemas de iluminación y control de temperatura, para simular las condiciones de crecimiento naturales

Materiales

1. Medios de cultivo: soluciones nutritivas para el crecimiento de las plantas (Agua, sales minerales, azúcares,)
2. Contenedores de cultivo: Frascos, tubos, placas de petri
3. Cuchillos y escalpelos: para la manipulación de los tejidos vegetales
4. Pinzas y fórceps: para la manipulación de los cultivos
5. Mascarillas y guantes: para evitar la contaminación y proteger al operador
6. Ropa protectora: batas, gorros, tapabocas etc.
7. Etanol y desinfectantes: para la limpieza y desinfección de los equipos y superficies.
8. Papel de filtro y membranas: para la esterilización y filtración de los medios de cultivo
9. Registros y etiquetas: para la identificación y seguimiento de los cultivos

• técnicas de esterilización y asepsia

- Esterilización

1. calor húmedo (en autoclave de vapor)
2. calor seco (en horno de esterilización) flama directa
3. incineración
4. Aire caliente
5. ebullición
6. vapor
7. Tindalización
8. radiación. radiación ionizante, (radiación no ionizante)

- Asepsia

1. lavado quirúrgico de manos
2. uso de barreras físicas: Guantes, Gorro, mascarilla y bata
3. Uso de material estéril.
4. Limpieza y desinfección de piel previa a los procedimientos.

• Manejo de residuos de laboratorio

1. medios de cultivo y plantas contaminadas: autoclavar o esterilizar antes de desecar
2. Agar y materiales de soporte: desecar en contenedores adecuados
3. Envases y materiales desechables
4. Residuos químicos (etanol, hipoclorito etc.)

• preparación de medios de cultivo y condiciones de crecimiento

- Selección del medio de cultivo adecuado para la especie vegetal que se va a micropropagar
- preparación de los componentes del medio de cultivo (agua destilada, sales minerales, azúcares, vitaminas)
- esterilización del medio de cultivo según sea necesario
- adición de reguladores de crecimiento (hormonas, etc) según sea necesario

condiciones de crecimiento

- Temperatura: mantener una temperatura adecuada para la especie vegetal (generalmente entre 20-25 °C)
- Humedad: mantener una humedad relativa alta (50-70%)
- Luz: proporcionar la cantidad y calidad de luz adecuada para la especie vegetal (luz natural o artificial)
- Agitación: proporcionar agitación suave para prevenir la sedimentación de las células
- CO₂: mantener un nivel adecuado de CO₂ (generalmente entre 1000-2000 ppm)

Selección y preparación de material vegetal

• Factores a considerar en la selección de material vegetal

- Tipo de tejido
- edad del tejido
- calidad del tejido
- Genotipo
- Compatibilidad con el medio de cultivo
- capacidad de regeneración
- Reactividad a los reguladores de crecimiento
- Estabilidad genética
- sanidad de patógenos

• Métodos de recolección y transporte de material vegetal

- seleccionar plantas sanas y vigorosas en su habitat natural.
- Corte de tejidos
- recolección de semillas
- Extracción de meristemos

- Transporte

- frascos estériles - para evitar la contaminación
- Bolsas de plástico
- cajas de transporte
- transporte en hielo seco

- Métodos de conservación

- Refrigeración
- Congelación
- Desección
- Conservación en medios de cultivo

• Superficie de desinfección y preparación de explantes

- Selección de material vegetal
- preparación inicial: lava los explantes bajo agua corriente para eliminar suciedad polvo y residuos superficiales.
- desinfección superficial: detergentes y agua corriente, Alcohol etílico, hipoclorito de sodio, Agua destilada esteril.
- preparación final: recorte del explante, estabilización en el medio de cultivo

• Criterios para la selección de especies nativas endémicas para micropropagación

- estado de conservación: especies que estén en peligro de extinción o que sean vulnerables.
- Endemismo: especies que sean endémicas de una región o ecosistemas específico
- Distribución geográfica
- hábitat: especies que crecen en campo en bosques secos o húmedos

• Factores a considerar para la viabilidad de la microporopagación

- la calidad de los explantes
- medio de cultivo debe de tener los nutrientes esenciales, hormonas de crecimiento (como auxinas y citoquininas).
- condiciones Ambientales como la temperatura, humedad y luz son determinante para el crecimiento in vitro
- desinfección (se hace para prevenir la contaminación)
- Adaptación a condiciones exteriores
- estudio de desarrollo de la planta madre

• Medios de cultivo y sus componentes

- agua: el agua utilizada en la preparación de medios de cultivo debe ser destilada y desionizada o bidestilada
- macronutrientes: los macronutrientes son elementos esenciales que la planta los requiere en cantidades del orden de gramo/litro (C, H, N, O, S, Mg, Ca, K, P)
- micronutrientes: los micronutrientes son elementos esenciales que la planta requieren en cantidades del orden de Mg/litro (Fe, Mo, Ni, Cu, Zn, Mn, B)
- carbohidratos: Azúcares como la fructosa, glucosa, celobiosa, maltosa, rafinosa y galactosa
- vitaminas: Esta constituida por tiamina (vitamina B1) ácido nicotínico (niacina) y piridoxina (vitamina B6)

• Asepsia y control de contaminación

El mantenimiento de la asepsia y el control de la contaminación son vitales para el éxito de la micropropagación, ya que cualquier contaminación no solo puede arruinar un experimento, sino que también puede llevar a la pérdida de materiales vegetales valiosos y recursos invertidos. Un control estricto en estos aspectos asegura la viabilidad y calidad de cultivo, permitiendo la producción eficiente de plantas en grandes cantidades, libre de patógenos y con uniformidad genética.