



Universidad de Jaén

María Cuesta Quero¹, Ángela García Peña¹, Lara Xijerez Rueda¹, Elena Mercado Ortega¹, Carla Moyano Segado¹, Manuel Parras Barranco¹, Mariana Orozco Romero¹, Ana Belén Rueda García¹, Ainhoa Sabaleta García¹, Alba Valero García¹, Eduardo Nebrera², Manuel José Rosell Sánchez¹ y Ana María Fernández Ocaña².

¹IES Ciudad de Arjona, Calle San Nicasio, 34, 23760 Arjona, Jaén, Spain

²Departamento de Fisiología Vegetal, Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén, Spain.



RESUMEN/INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS:

En este proyecto demostramos que las **plantas pueden cultivarse en frascos cerrados de cristal transparente, con soluciones nutritivas especiales y sin aparente presencia de O₂ ni CO₂**, salvo la que existiera en un recipiente cerrado. También se demuestra que las hormonas vegetales producen efectos muy llamativos en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

VENTAJAS:

La ventaja de esta forma de cultivo es la **obtención de clones de plantas libres de patógenos que pueden certificarse para su comercialización más allá de fronteras geográficas. Los cultivos in vitro permiten obviar los inconvenientes derivados de condiciones geográficas, climáticas y de tiempo de producción.**

METODOLOGÍA



PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Se preparó para todas las muestras el medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) que sólo se diferenció en cada caso en el tipo de hormona añadida a cada medio:

- ✓ **MEDIO CONTROL:** Es el medio base sin hormonas.
- ✓ **MEDIO A:** medio base + 750 ul de **ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA)** de 3 g/l. Produce raíces muy grandes y en cabellera
- ✓ **MEDIO B:** medio base + 100 ul de IBA de 3 g/l + 500 ul de **KINETINA** de 1 g/l. Produce brotes axilares por tanto, plantas con partes aéreas muy frondosas.
- ✓ **MEDIO C:** medio base + 750 ul de **ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3)** de 3 g/l. Produce plantas muy altas con entrenudos muy elongados.
- ✓ **MEDIO D:** medio base + 500 ul de **ÁCIDO 2,4 DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4D)** de 2 g/l. Induce la formación de callo en la base de los explantos.



Imagen 1, 2 y 3: Metodología de introducción del material vegetal in vitro. Preparación medios de cultivo.



MULTIPLICACION VEGETATIVA IN VITRO DE EXPLANTOS

- ✓ Utilizando diferentes plantas ornamentales crecidas in vitro, se llevó a cabo la **multiplicación vegetativa** de las mismas introduciendo **explantos procedentes de la misma especie en los cinco tipos de medios preparados** con la finalidad de ver la morfología de crecimiento en cada tubo.
- ✓ El trabajo se llevó a cabo en la **campana de flujo laminar, en condiciones extremas de asepsia** usando mascarilla y material de disección en todo momento.

Imagen 4, 5 y 6: Metodología de introducción del material vegetal in vitro. Campana de flujo laminar.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Se llevó a cabo un seguimiento durante 4 meses de los cultivos. Destacamos:



La presencia de contaminación y % de plantas contaminadas por grupo con respecto al total de plantas.

Durante el seguimiento se ha podido observar que la mayoría de las explantos que insertamos no estaban contaminadas; Estimamos un % de contaminación del 20%.



Morfología de crecimiento en cada tipo de medio con respecto al control.

Medio A

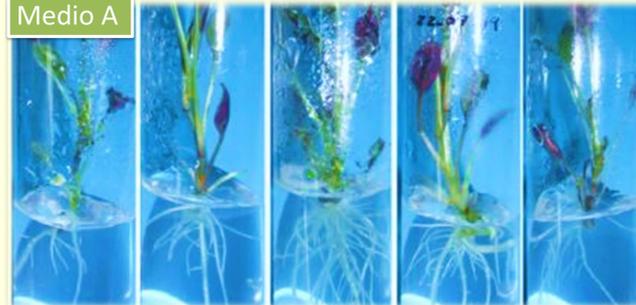


Imagen 5: Se observa el crecimiento de raíces en cabellera de los explantos introducidos en el medio A.

Medio B



Imagen 6: Se observa que el crecimiento de los explantos en presencia de citoquininas produce tantos más brotes axilares cuanto mayor es la concentración de citoquininas en el medio. En este caso la Citoquinina utilizada es Benclaminopurina.

Medio C



Imagen 7: Se observan dos plantas crecidas en medio control (a los lados) frente a una planta crecida en el medio C rico en GA3. Véase la longitud de los entrenudos y el desarrollo de la planta mucho mayor en dicho medio.

Medio D



Imagen 8: Se observan dos plantas crecidas en medio D con la hormona 2,4-D frente al control situado a la izquierda de la imagen. Se puede observar el crecimiento de un callo voluminoso a partir del cual comienzan a diferenciarse ya las raíces. C) Detalle del callo a los 45 días.

CONCLUSIONES



Se demuestra que las hormonas vegetales tienen efectos muy espectaculares sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas

Las plantas crecidas en el MEDIO A, con auxinas (IAA) mostraron un crecimiento de las raíces muy superior al de las plantas control. En el caso de las plantas introducidas en el MEDIO B (alta concentración de citoquininas) estas desarrollaron partes aéreas muy frondosas con poca raíz con respecto a las plantas control. Para las plantas crecidas en el MEDIO C, rico en giberelinas se pudo observar que las plantas crecieron en longitud dando lugar a plantas gigantes con entrenudos muy elongados con respecto al control. Por último plantas del MEDIO D (medio rico en 2,4-D) mostraron la formación de callos en la base del explanto.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández del Campo, F., Hernandez, L.E., Prácticas de Fisiología vegetal. Módulo avanzado de cultivo in vitro. Comisión docente de Fisiología Vegetal. Departamento de Biología. Universidad Autónoma de Madrid.
- Murashige, T. And Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Smith, R.H. Plant tissue culture. Techniques and Experiments. (1992). Academic press.
- Laguna-Ibarra, Y., Cueva-López, J., Tamariz-Angeles, C., & Olivera-Gonzales, P. (2019). Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento in vitro de *Senecio calvus* (Asteraceae), planta medicinal altoandina, endémica del Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(2), 111-121.