**Datos de identificación del programa de formación**

|  |  |
| --- | --- |
| Programa de formación. | Propagación masiva de material vegetal. |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Competencia. | 270401103- Propagar material vegetal según técnica y tipo de especie. | Resultados de aprendizaje. | 270401103-1. Preparar material de propagación según parámetros de calidad y especie vegetal.  270401103-2. Aplicar técnicas de propagación a plantas según características morfológicas. |

|  |  |
| --- | --- |
| Número del componente formativo. | 3 |
| Nombre del componente formativo. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Breve descripción. | El componente formativo tres (3) aborda el proceso de propagación de material vegetal, estableciendo condiciones precisas de asepsia en la implementación. Entre los aspectos determinantes, resaltan la clasificación específica del material vegetal, define métodos de propagación, uso de equipos y herramientas, interpretación de condiciones de nutrición vegetal, preparación medios de cultivo y definición de protocolos de seguimiento al cultivo. |
| Palabras clave. | Métodos de propagación, nutrición, medio de cultivo, asepsia, esterilización. |

|  |  |
| --- | --- |
| Área ocupacional. | 2 – ciencias naturales, aplicadas y relacionadas. |
| Idioma. | Español. |

**Tabla de contenidos**

**Introducción**

**1.**  Propagación de material vegetal.

**1.1.** Determinación de material.

**1.2.** Sustratos de propagación.

**1.3.** Métodos de propagación.

**1.4.** Equipos y herramientas de propagación.

**1.5.** Mecanismos de seguimiento.

**1.6.** Gestión de higiene y residuos de propagación.

**2.** Inicio del ciclo de cultivo *in vitro.*

**2.1** Introducción de los tejidos seleccionados al medio de cultivo.

**2.2** Multiplicación de brotes y generación de subcultivos.

**3.** Nutrición Vegetal.

**3.1.** Micronutrientes y macronutrientes.

**3.2.** Vitaminas, carbohidratos, aminoácidos y gelificantes.

**3.3.** Reguladores de crecimiento.

**4.** Unidades de expresión de las sustancias en preparación de cultivo.

**4.1.** Elementos a utilizar, cálculos de producción de sustancias, nomenclatura y propiedades de componentes.

**4.2.** Aplicación de fórmulas para disolución.

**Introducción**

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Bienvenidos al tercer componente formativo del programa técnico en Propagación masiva de material vegetal del SENA, denominado Preparación de materiales y técnicas de propagación, en el cual se identificarán los mecanismos más apropiados y el tipo de alistamiento de laboratorio requerido. Para iniciar el desarrollo del componente se presenta lo correspondiente a propagación de material vegetal. En segundo lugar, se presenta el inicio del ciclo de cultivo *in vitro* y luego de nutrición vegetal. Finalmente se presentan las unidades de expresión de las sustancias en preparación de cultivo. Inicie este recorrido observando el video de introducción del componente formativo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/scientific-handling-cultures-petri-dishes-bioscience-1673480248  Imagen:222116\_i1. |

**Guion de video introductorio.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Video spot animado. | | | |
| Nota. | La totalidad del texto locutado para el video no debe superar las 500 palabras aproximadamente. | | | |
| Título. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. | | | |
| Escena. | Imagen. | Sonido. | Narración (voz en *off*). | Texto. |
| Escena 1. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Requerimientos técnicos para el establecimiento del cultivo”. | NA | El éxito del proceso de propagación de material vegetal *in vitro,* depende de la definición apropiada del conjunto de técnicas a utilizar para el desarrollo los diferentes procesos requeridos, con cada tipo de especie vegetal que se pretenda propagar; la selección de esto, se encuentra directamente relacionada con una comprensión plena de los diferentes aspectos de interés.  En este mismo sentido, resulta fundamental entender los requerimientos técnicos para el establecimiento del cultivo, puesto que, cualquier aspecto o característica obviada, puede significar un proceder inapropiado y desencadenar situaciones anómalas en el ensayo respectivo que, potencialmente, llevan al fracaso del ejercicio o, en su defecto, en reducciones de beneficios o resultados finales obtenidos, expresado en la pérdida de ejemplares o de algunos de los recursos relacionados, inclusive, la disminución en los rendimientos productivos de las plántulas, entre otros. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Escena 2. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Proceso de propagación del material vegetal”. | NA | El panorama proporcionado por este componente, permite identificar como aspectos centrales, una profundización en elementos centrales de la micropropagación *in vitro* de material vegetal, que se establecen como condiciones estructurales del ejercicio productivo.  Los aspectos señalados corresponden a la comprensión del proceso de propagación del material vegetal o micropropagación propiamente dicha, la forma en la que debe iniciarse el proceso y los mecanismos o condiciones de nutrición vegetal a tener en cuenta, así como algunos de los planteamientos centrales asociados a la preparación del medio de cultivo. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Escena 3. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Generación de subcultivos”. | NA | Para lograr avanzar en este grupo de elementos, se requiere establecer actividades de aprendizaje que aborden situaciones como la determinación del material vegetal a seleccionar, la identificación oportuna de la importancia de los sustratos de propagación, así como los diferentes métodos disponibles y los equipos indispensables para la operación, todo esto en el marco de la gestión de apropiada de la higiene y disposición de residuos. En este mismo sentido, es vital el reconocimiento de la forma apropiada de introducir los tejidos al medio de cultivo para la generación de subcultivos. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Escena 4. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Dinámicas nutricionales de las vitro plantas”. | NA | Una vez comprendidas estas bases fundamentales, es imperativo comprender las dinámicas nutricionales de las vitro plantas, en términos de requerimientos para la micropropagación en cuanto a micronutrientes, macronutrientes, vitaminas, carbohidratos y aminoácidos, así como el trascendental papel de los gelificantes y los reguladores de crecimiento, siendo esta mezcla un apartado álgido, puesto que su composición determina la viabilidad del cultivo, razón por la cual debe entenderse sus características fundamentales, como elementos a utilizar, proporciones, nomenclatura y aplicación de fórmulas para lograr una elaboración óptima para las exigencias particulares. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Escena 5. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Preparación de los diferentes materiales y componentes del ejercicio de micropropagación”. | NA | En este sentido, el tránsito por este componente permite una comprensión del conjunto de conocimientos garantes de la posibilidad de preparación de los diferentes materiales y componentes del ejercicio de micropropagación, guardando coherencia con los diferentes parámetros de calidad y requerimientos asociados a las especies implicadas, desde la aplicación de técnicas acordes con las características morfológicas de las mismas. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Escena 6. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/petri-dishes-samples-microorganisms-laboratory-refrigerator-1992931763  Imagen: 222116\_i2.  Insertar en primer plano una persona con bata de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede tener un instrumento como se muestra en la figura y en lo posible narrando el texto citado.    https://www.shutterstock.com/es/image-photo/woman-scientist-covid19-virus-antibody-sample-2197855603  Imagen: 222116\_i3. | NA | A partir de estos argumentos, se invita al aprendiz a explorar los contenidos del componente, en una experiencia de aprendizaje que le proporcionará las herramientas necesarias para la comprensión oportuna de la producción de material vegetal *in vitro*. | Preparación de materiales y técnicas de propagación. |
| Nombre del archivo. | 222116\_v1. | | | |

**Desarrollo de contenidos**

1. Propagación de material vegetal.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Para comprender el proceso de propagación de material vegetal, debe partirse de las diversas condiciones que ilustran su practicidad para el establecimiento de iniciativas productivas que garanticen la reproducción de material vegetal comparativamente ventajoso en términos de rendimiento, derivado de la posibilidad que ofrece la multiplicación vegetativa de clonación de los recursos genéticos seleccionados; en tal sentido, se establece la necesidad de profundizar en los aspectos centrales de la consolidación del ensayo a realizar; entre estos se encuentran la determinación de material vegetal, el establecimiento de sustratos de propagación apropiados, definición de los métodos de propagación pertinentes, identificación de equipos y herramientas necesarias, mecanismos de seguimiento del proceso y gestión apropiada de la higiene y asepsia en el laboratorio. A continuación, se aborda cada uno de estos apartados en detalle.    https://www.shutterstock.com/image-vector/isometric-concept-laboratory-exploring-new-methods-1579356031  Imagen:222116\_i4. |

* 1. Determinación de material.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | *Slider* imagen. | |
| Introducción. | Para dar inicio a lo correspondiente con la propagación de material vegetal, se presentan elementos destacados en la determinación de éste. | |
| En primer lugar, el tipo de tejido a utilizar se identifica como el paso inicial para el proceso de propagación y desde esto se determina el tipo de producto que se puede llegar a obtener. En concordancia, el medio de cultivo de la propagación inicial, también se establece la necesidad de constituir un sustrato que promueva la multiplicación celular, sin desarrollar la organogénesis o embriogénesis. | | https://www.shutterstock.com/image-photo/plant-tissue-culture-528054538  Imagen:222116\_i5. |
| Además del tejido descrito anteriormente, es importante considerar los siguientes aspectos en el procedimiento de propagación *in vitro*: el medio que es inoculado inicialmente, deberá ser ubicado en un agitador orbital; la velocidad debe mantenerse entre 30 y 150 revoluciones por minuto, garantizando el mantenimiento de los tejidos celulares sin decantarse y posibilitando altas tasas de multiplicación celular. | | Agitador orbital, Advanced 5000  Imagen:222116\_i6. |
| Un cultivo en suspensión celular permite el incremento de los agentes biológicos relacionados, debido tanto a división como a elongación asociada a la asimilación de nutrientes que se encuentran presentes en el medio. En el cultivo tienen lugar diferentes fases cuyo objetivo radica en promover la proliferación celular y evitar la senescencia de los tejidos. | | https://www.shutterstock.com/image-photo/scientist-holding-petri-dish-virus-bacteria-79142404  Imagen:222116\_i7. |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto. |
| Dando continuidad a lo relacionado con la determinación del material para la realización de la propagación *in vitro*, se procede a reconocer el proceso de consolidación del cultivo. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Rutas / pasos horizontales. | |
| Introducción**.** | En el proceso de consolidación del cultivo *in vitro* Suárez-Padrón (2020) postula las fases reposo, exponencial, lineal, desaceleración y estacionaria. El significado e implicaciones de cada una de las mismas, es el siguiente: | |
| Paso 1. | Fase de reposo.  Esta fase ocurre cuando las células son transferidas a un medio de cultivo para dar inicio al crecimiento requerido; el medio al cual es transferido el material, debe ser un medio fresco, presentando disponibilidad de nutrientes y pH bajo; al tratarse de un medio fresco, no cuenta con material celular residual que pueda afectar el crecimiento y desarrollo de los tejidos emergentes. | Imagen:222116\_i8. |
| Paso 2. | Fase exponencial.  En esta fase, luego de la adaptación celular a las condiciones del nuevo medio, se procede a un aprovechamiento de las condiciones del entorno para el fomento de la división celular a su máxima velocidad. | Imagen:222116\_i9. |
| Paso 3. | Fase lineal.  En esta fase aún se conserva la división celular, pero de forma reducida, en comparación con la fase anterior y las células generadas incrementan su talla, reduciendo el espacio y disponibilidad de nutrientes. | Imagen:222116\_i10. |
| Paso 4. | Fase desaceleración.  En esta fase la expansión y aumento de talla celular se limitan, debido a la reducción de la disponibilidad de nutrientes y superpoblación celular. | Imagen:222116\_i11. |
| Paso 5. | Fase estacionaria.  Esta fase se traduce en la detención total de la división celular; también se presenta una reducción en el volumen celular y, debido al estrés celular por la superpoblación y baja disponibilidad de nutrientes, se empieza a sufrir muerte celular y senescencia. | Imagen:222116\_i12. |

* 1. Sustratos de propagación.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | *Slider* imagen. | |
| Introducción. | Una vez realizada la determinación del material para la realización de la propagación *in vitro*, se describen los sustratos de propagación. | |
| En los elementos expuestos con anterioridad, se encuentra el medio de cultivo, que resulta crucial para la consolidación del proceso. El medio no solo es el sustrato de soporte para el ex plante, es también la fuente de energía para el material vegetal. Sus características son variables y dependen tanto del tipo de tejido a desarrollar (porciones de hojas, callo, células, entre otros), como de la morfogénesis deseada (cultivo de meristemos, organogénesis, embriogénesis somática, entre otras) (Suárez-Padrón, 2020). | | Imagen:222116\_i13. |
| Tanto los requerimientos nutricionales de órganos y tejidos, así como su metabolismo, posterior a la separación de los mismos de la planta madre, son aún situaciones que presentan unas posibilidades de comprensión relativamente poco conocidas; esta condición ha llevado a interpretar aquellas necesidades, de manera similar a las condiciones exigidas por la planta completa, tal es el caso de las formulaciones nutrimentales disponibles en el contexto técnico actual, que integran un conjunto de macroelementos y microelementos, así como componentes complementarios que varían en proporciones dependiendo del tipo de ex plante y la vía morfogenética que se pretende desarrollar. | | Morfogenesis  Imagen:222116\_i14. |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto. |
| En relación con los sustratos de propagación, se presenta a continuación aspectos destacados con la preparación del medio de cultivo. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Rutas / pasos horizontales. | |
| Introducción. | La preparación del medio de cultivo, debe seguir un conjunto de pasos que, han de garantizar un sustrato óptimo en términos de distribución de cantidades y proporciones de los constituyentes, adecuada consistencia y nivel de pH, acorde con el proceso implementado, todo esto en condiciones de asepsia que impida posibles procesos de contaminación accidental del cultivo. A continuación, se describen cada uno de los pasos. | |
| Paso 1. | Adición de componentes.  En el caso del primer paso, asociado a la adición de componentes, se debe diluir azúcar, mioinositol, tiamina y reguladores de crecimiento. Las proporciones que se manejan de forma estandarizada corresponde a 0,5 litros de agua por cada (1) litro de medio de cultivo para diluir estos componentes, posteriormente, se aumenta la cantidad de agua hasta los 0,9 litros después de la adición de los componentes anteriormente señalados; la forma apropiada en la cual debe realizarse este proceso, es utilizando barra magnética en plato giratorio, en aras de lograr la dilución homogénea de la totalidad de los componentes. | Imagen: 222116\_i15. |
| Paso 2. | Ajuste de pH.  El ajuste de pH, permite lograr una solubilidad apropiada de sales en el medio, así como para otros aspectos de notable relevancia, como lo son la dureza y la asimilación de los reguladores de crecimiento; debe ser llevado cabo medición del pH, previo a la esterilización del medio; dicha medición tiene que ubicarse en un rango entre 4,5 y 6,0, propendiendo por un grado medio de 5,7. | ph marihuana  Imagen: 222116\_i16. |
| Paso 3. | Adición del agar.  La adición del agar proporciona estructura física de contacto al tejido (en el caso de medios que impliquen consistencia semisólida); es importante mencionar que la adición del agar debe suceder de forma posterior a la medición del pH, pues una posible adición previa a la medición, podría afectar el instrumento de medición (potenciómetro) hasta averiarlo. | Imagen: 222116\_i17. |
| Paso 4. | Esterilización.  En cuanto a la esterilización, esta sucede en un Autoclave, bajo una presión de 1,05 kg/cm2 y a una temperatura de 121°C, siendo el tiempo de sometimiento a dichas condiciones relativo al volumen de medio trabajado; la tabla 1 presenta una relación de dichas variables. En compuestos sensibles al calor, se puede esterilizar mediante filtración (exclusiva para medios líquidos), que implica un proceso de filtración por membranas con poros de 0,22 µm; el objetivo con este proceso de tamizado es eliminar la posible presencia de microorganismos como bacterias, hongos y virus. | Imagen: 222116\_i18. |
| Paso 5. | Distribución.  Finalmente, el último paso a considerar es la distribución, que puede ser realizado de forma previa o posterior a la esterilización del medio y, se encuentra definida por las características físicas del mismo y el material de los recipientes potencialmente utilizables; los recipientes plásticos, no soportan el sometimiento a condiciones de alta temperatura de la esterilización, razón por la cual, la distribución se realiza después de dicho proceso. Por otro lado, cuando se utilizan recipientes de vidrio, la distribución puede realizarse antes de la esterilización. | Erlenmeyer 2000 mL borosilicato 3.3 VIDRIO ALEMÁN - Grupo Didacta  Imagen: 222116\_i19. |

* 1. Métodos de propagación.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Una vez determinados los materiales y los sustratos de propagación, se procede a la determinación de métodos de micropropagación más pertinentes para el proceso que se pretende desarrollar, partiendo del reconocimiento de la necesidad de cumplimiento estricto de los diferentes requerimientos de laboratorio para el logro del objetivo; entre estas exigencias, se destaca el manejo controlado de las condiciones ambientales, mediante una infraestructura acorde con el cumplimiento de dichas garantías de producción (Vences-Contreras, 2016).    Imagen:222116\_i20. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Pestañas o *tabs* horizontales. | |
| Introducción. | En la micropropagación del material vegetal, se reconocen tres métodos aplicables, dependiendo de la especie, variedad y los objetivos de operación, estos son: la micropropagación a partir del cultivo de ex plantes con meristemos pre existentes, la organogénesis y la embriogénesis somática. A continuación, se presenta cada uno de estos de forma específica. | |
| Micropropagación a partir del cultivo de ex plantes con meristemos pre existentes. | Micropropagar material vegetal desde ex plantes con meristemos preexistentes, es una técnica que permite reproducir tallos nuevos, sea desde meristemos terminales o meristemos axilares, continuando con el proceso de enraizamiento respectivo. La ocurrencia de la micropropagación referenciada sucede por la inducción del crecimiento de las yemas que se encuentran en el ex plante, crecimiento que es la resultante de la supresión de la dominancia apical de este, producto del surgimiento en altas proporciones de proteínas en el sustrato.  Este tipo de técnica es de mayor utilización para la producción de cultivos *in vitro*, puesto que garantiza un alto potencial de estabilidad genética y notables tasas de efectividad, en la más amplia gama de materiales vegetales objeto de propagación. Los estados que presenta este tipo de micropropagación son acondicionamiento de plantas madre, establecimiento del cultivo estéril *in vitro*, multiplicación del propágulo, enraizamiento y adaptación a condiciones *ex vitro.* | LA DIFERENCIACIÓN CELULAR ASOCIADA A LA CARACTERIZACIÓN DE PLANTAS  MEDICINALES  Imagen: 222116\_i21. |
| Organogénesis. | En cuanto a la técnica denominada organogénesis (conocida también como caulogénesis), se fundamenta en la formación de tallos nuevos, de origen adventicio, desde ex plantes que no presentan meristemos preexistentes y puede ocurrir mediante dos formas distintas (directa e indirecta), siendo una condición que depende del proceso morfogenético definido por las condiciones de determinación y competencia celulares en el ex plante. La organogénesis directa sucede cuando el brote emerge de meristemos caulinares cuya formación ocurre de células presentes en el ex plante y que no pasan por la fase celular de tejido tipo callo; la organogénesis indirecta, por el contrario, si encuentra su origen en tejido celular tipo callo desarrollado desde el ex plante. | T7: Preparación, iniciación y aclimatación  Imagen: 222116\_i22. |
| Embriogénesis somática. | La tercera técnica, denominada embriogénesis somática, se enfoca en la generación de tejido embrionario desde células distintas al zigoto, los cuales se conocen como embriones somáticos, siendo un proceso que, en plantas angiospermas sucede al integrarse gameto femenino con gameto masculino en el saco embrionario, para posteriormente establecer un continuo de divisiones celulares y diferenciación de las mismas que concluye con el establecimiento de un embrión cobijado por el tejido cubierta de la semilla; para las condición *in vitro*, el inicio del proceso de embriogénesis sucede desde células somáticas, siendo el resultado, un embrión que carece de la protección de tejido cubierta propio de las semillas. | Embriogenesis Somatica by Bryan Anthony Marin Valdivia  Imagen: 222116\_i23. |

* 1. Equipos y herramientas de propagación.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Teniendo en cuenta los requerimientos técnicos para llevar a cabo el proceso de micropropagación del tejido vegetal *in vitro*, así como las condiciones controladas del entorno inmediato que se han descrito anteriormente, el laboratorio en el cual se han de llevar a cabo las diferentes actividades relacionadas, debe contar con una dotación instrumental acorde con los distintos procedimientos de interés, puesto que su presencia y acción es complementaria.  Este tipo de dotación instrumental puede clasificarse en tres categorías específicas, a saber: equipos, utensilios y reactivos.    Imagen: 222116\_i24. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Tarjetas *Avatar* | |
| Introducción. | A continuación, se presentan algunos de los equipos destacados para la determinación de la dotación instrumental, incluyendo su función. | |
| Autoclave.  Su función consiste en la esterilización de instrumentos. | | Imagen: 222116\_i25. |
| Horno microondas.  Su función consiste en la esterilización de instrumentos. | | Imagen:222116\_i26. |
| Estufa de secado.  Su función consiste en el secado de instrumentos. | | Imagen:222116\_i27. |
| Medidor de pH.  Su función consiste en la medición del pH de sustrato. | | Imagen:222116\_i28. |
| Plato giratorio.  Su función consiste en la dilución de componentes. | | Imagen:222116\_i29. |
| Cámaras de flujo laminar.  Su función consiste en la asepsia del aire. | | Imagen:222116\_i30. |
| Micropipetas.  Su función consiste en la transferencia de materiales. | | Imagen:222116\_i31. |
| Balanzas.  Su función consiste en la medición de proporciones. | | Imagen:222116\_i32. |
| Termómetro.  Su función consiste en la medición de temperatura. | | **Imagen:** 222116\_i33. |
| Destilador o filtro del agua**.**  Su función consiste en la purificación de agua. | | Imagen:222116\_i34. |
| Microscopio.  Su función consiste en el reconocimiento de estructuras celulares. | | Imagen:222116\_i35. |
| Agitador orbital.  Su función consiste en la preparación de sustancias. | | Imagen: 222116\_i36. |
| Medidor de humedad relativa.  Su función consiste en la medición de condiciones ambientales. | | Imagen:222116\_i37. |
| Aire acondicionado.  . | | Imagen:222116\_i38. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Infografía interactiva punto caliente. | |
| Texto introductorio. | Otra categoría fundamental en la dotación de instrumentos, son los utensilios. En la imagen se encuentran utensilios reconocidos como aquellos de relevancia fundamental en el proceso de micropropagación. | |
| Imagen: 222116\_i39. | | |
| Código de la imagen. | 222116\_i39. | |
| Punto caliente 1. | Cristalería. | Al hacer clic en el punto 1. |
| Punto caliente 2. | Pinzas quirúrgicas. | Al hacer clic en el punto 2. |
| Punto caliente 3. | Espátulas. | Al hacer clic en el punto 3. |
| Punto caliente 4. | Guantes. | Al hacer clic en el punto 4. |
| Punto caliente 5. | Barras magnéticas. | Al hacer clic en el punto 5. |
| Punto caliente 6. | Soportes. | Al hacer clic en el punto 6. |
| Punto caliente 7. | Marcadores. | Al hacer clic en el punto 7. |
| Punto caliente 8. | Bisturís. | Al hacer clic en el punto 8. |
| Punto caliente 9. | Cuchillos. | Al hacer clic en el punto 9. |
| Punto caliente 10. | Tabla de cortar. | Al hacer clic en el punto 10. |
| Punto caliente 11. | Tijeras. | Al hacer clic en el punto 11. |

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Infografía estática. |
| Texto introductorio. | Dando continuidad a los aspectos a considerar en la dotación de instrumentos se encuentran los reactivos. En la siguiente imagen se destacan algunos reactivos a considerar. |
| Imagen: 22211640. | |
| Código de la imagen. | 222116\_i40. |

.

* 1. Mecanismos de seguimiento al proceso.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Una vez realizado el reconocimiento de los métodos de propagación, se van a abordar los mecanismos de seguimiento al proceso. Al respecto se puede indicar que cada proceso emprendido con fines de cumplir un objetivo, requiere del establecimiento metódico de los diferentes procedimientos implicados en su materialización; la naturaleza de cada temática define las necesidades de monitoreo y control de cada uno de los pasos, de manera que asegure el logro de cada constituyente, para alcanzar una construcción conjunta y armónica del camino que oriente al cumplimiento de una meta.    Imagen:222116\_i41 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | *Slider* presentación. | |
| Introducción. | Proporcionando continuidad al seguimiento al proceso, se puede indicar que, en la micropropagación, al tratarse de un conjunto de procedimientos que exigen el cumplimiento de diversas situaciones garantes de la manipulación apropiada de los tejidos y el control de las condiciones ambientales, requiere de un monitoreo y control estricto, tal como se describe a continuación. | |
| El monitoreo debe ser capaz de proporcionar respuestas a las situaciones emergentes de cada fase o subproceso, en aras del mantenimiento de las condiciones garantes del crecimiento y desarrollo del material vegetal; por tal motivo, el tipo de seguimiento a realizar sobre el cultivo generado debe tener la capacidad de interpretar asertivamente todo lo que ocurre en el establecimiento productivo, para lo cual se hace indispensable la construcción y uso de indicadores desde el comportamiento de variables determinantes para el proceso. | | Imagen:222116\_i42. |
| Entre las variables determinantes para el proceso, se puede asumir aquellas asociadas al crecimiento del material vegetal en suspensión celular por mm2, asociadas al aumento de volumen (precipitados celulares) y asociadas al incremento de peso (frascos con tejidos); lógicamente, para realizar un apropiado proceso de seguimiento desde la interpretación de las variables referenciadas anteriormente, es necesario establecer un punto de referencia, relativo a la medición en el momento cero del proceso o momento en el que específicamente inicia el ensayo. | | Imagen:222116\_i43. |
| En el caso específico del crecimiento en suspensión celular, debe realizarse la identificación a través de microscopio, realizando tinción celular con azul de metileno. La lectura es llevada a cabo mediante la colocación previa de fondo milimetrado y desarrollando conteo de células por milímetro cuadrado. | | Camara de contaje Neubauer improved  Imagen:222116\_i44. |
| En cuanto al aumento de peso, la forma de realizar la lectura de esta variable es mediante el registro del valor de masa (fresca) presente por unidad de muestra; es de aclarar que, previo a la realización del pesaje, es necesario separar el material vegetal del medio de cultivo utilizando un filtro, mientras se enjuaga con agua destilada y luego, se elimina la humedad en la cámara de flujo. | | Imagen:222116\_i45. |
| Finalmente, la variable relacionada con el incremento de volumen, se reconoce como uno de los métodos se seguimiento de mayor uso en los procesos de crecimiento celular; este consiste en el decantado celular desde contenido mezclado de cultivo y tejidos, registrando la cantidad en mm2 de células obtenidas. | | Imagen:222116\_i46. |

* 1. Gestión de higiene y residuos en la propagación.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Entre todos los elementos referenciados con anterioridad, es la asepsia la piedra angular del proceso de micropropagación de material vegetal *in vitro*, debido a que las condiciones ambientales artificiales generadas, aunadas con la disponibilidad nutricional y ausencia de agentes antagónicos, permite que la presencia de cualquier organismo microbiano encuentre un entorno óptimo para el establecimiento y proliferación; un episodio de contaminación de este tipo, puede causar la pérdida, sea parcial o total, del tejido cultivado. La amenaza por agentes microbianos es permanente, pero el momento más álgido es durante el establecimiento del explante en el medio.    Imagen:222116\_i47. |

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Acordeón tipo 1. |
| Introducción. | Recordando la condición de artificialidad propia del cultivo *in vitro*, cualquier tipo de organismo microbiano se identifica como potencial agente contaminante del material vegetal y, por lo tanto, una amenaza para la producción proyectada. Se reconocen entre estos, bacterias, hongos y virus. A continuación, algunos elementos asociados a posibles condiciones indicadoras de contaminación por cada uno de este tipo de agentes en un cultivo *in vitro*. |
| Imagen:222116\_i48. | |
| Bacterias.  Son los agentes más comunes en los cultivos *in vitro* y ocasionan en los tejidos vegetales síntomas como no uniformidad de crecimiento, necrosis localizada, tasas modestas de multiplicación de brotes, baja capacidad de enraizamiento y hasta la muerte del explante. | |
| Hongos.  Son reconocidos como agentes con actuación externa al explante, con algunos casos excepcionales en los cuales ciertas especies afectan el tejido vascular del material en formación; el crecimiento del micelio puede cubrir con rapidez al explante y ocasionar la muerte de sus tejidos. | |
| Virus.  Organismos que pueden llegar a generar enfermedades en las plantas, mediante el desplazamiento a través del sistema vascular; requieren de una célula hospedera. Se configura como uno de las afectaciones más intensas a las que puede someterse el material vegetal, puesto que la contaminación relacionada no es eliminable por medio de desinfecciones superficiales del explante; encuentra expresión en el crecimiento lento, capacidad limitada de enraizamiento, generación de tonalidad amarilla en las hojas, entre otros. | |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Además de los organismos microbianos que se presentan como amenazas para el cultivo *in vitro*, también se presentan otros elementos que también deben ser considerados, debido a la fragilidad manifiestas del material vegetal; tal es el caso de los ataques por artrópodos, entre los que se destacan algunos arácnidos, ácaros y *trips*, así como hormigas que además de generar un impacto mecánico directo, pueden facilitar el ingreso de algunos de los mencionados microorganismos al espacio controlado.  Los artrópodos  Imagen: 222116\_i49. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Tarjetas *Avatar* | |
| Introducción. | Resulta fundamental, en este sentido, reconocer las principales fuentes de contaminación de este tipo de espacios: el material vegetal, el aire y el operario; respecto a cada uno de estos, debe comprenderse el papel que juega en el esquema de afectación posible, para determinar desde esto las formas apropiadas de gestionar el riesgo implícito en cada escenario productivo. | |
| Material vegetal.  En términos del material vegetal, la presencia de insectos y microorganismos en plantas en sus condiciones naturales, puede transformarse en una amenaza para el cultivo *in vitro* (vitro patógenos); estos pueden encontrarse en cavidades de tallos y órganos del material vegetal, desde el cual se toma el explante, ubicación que puede dificultar su eliminación en el procedimiento de desinfección. | | Imagen: 222116\_i50. |
| Aire.  En cuanto al aire, resulta natural la presencia de sólidos suspendidos, así como diferentes microorganismos (bacterias, hongos y virus); por tal motivo, es indispensable contar con un mecanismo garante del sostenimiento de la calidad del aire, reduciendo las posibilidades de contaminación. | | Imagen: 222116\_i51. |
| Operario.  Finalmente, el papel del operario u operarios que, al igual que las superficies vegetales, cuenta con una con una flora en interacción con la epidermis y que en el escenario de un cultivo *in vitro*, podría contaminar el material vegetal, incluso, con producto del mismo proceso de renovación de la piel puede llegar a contaminar el cultivo o con la saliva expulsada al hablar. | | Imagen: 222116\_i52. |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto. |
| En el siguiente video se presentará la técnica estéril para la micropropagación *in vitro*. |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Video spot animado. | | | |
| Nota. | La totalidad del texto locutado para el video no debe superar las 500 palabras aproximadamente. | | | |
| Título. | Técnica estéril para la micropropagación *in vitro.* | | | |
| Escena. | Imagen. | Sonido. | Narración (voz en *off*). | Texto. |
| Escena 1. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio.    Imagen: 222116\_i54.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Técnica estéril”. | NA | Frente al delicado panorama de asepsia requerido para el logro de un proceso exitoso de micropropagación *in vitro*, existe la posibilidad de recurrir al uso de la técnica estéril, procedimiento ampliamente conocido y posicionado en el panorama productivo relacionado. A través del uso de esta técnica, puede identificarse posibles factores de riesgo, y generar los mecanismos para neutralizar o reducir los elementos amenazantes, mediante el uso de agentes químicos, procedimientos de manejo y calibración de equipos utilizados. A continuación, se referencian los componentes de esta. | Técnica estéril para la micropropagación *in vitro.* |
| Escena 2. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio.    Imagen: 222116\_i54.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Desinfestación superficial”. | NA | Desinfestación superficial: consiste en la eliminación de la incidencia de los posibles agentes contaminantes que puedan presentarse en superficies de explantes o tejidos vegetales; este procedimiento se inicia en la misma planta madre e incluye, controles fitosanitarios, uso de antibióticos y cosecha apropiada de explantes. | Técnica estéril para la micropropagación *in vitro.* |
| Escena 3. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio    Imagen: 222116\_i54.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Indexación”. |  | Indexación: fundamentada en el diagnóstico asertivo de planta madre, trazando como objetivo central, la identificación de posibles contaminantes sistémicos vinculados a sus tejidos; entre las formas más comunes, eficientes y oportunas para realizar esto, se reconoce la toma de muestras de material (porciones de órganos), para luego generar su establecimiento de los mismos en medio de cultivo, con mezclas de formulación específica que permitan detectar los posibles agentes microbianos de interés. |  |
| Escena 4. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio    Imagen: 222116\_i54.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Cultivo de meristemos”. | NA | Cultivo de meristemos: debido a la posibilidad de ausencia tanto de virus como de viroides en este tipo de tejido, por cuenta de la necesidad de dichos microorganismos de la presencia de tejidos vasculares (conductos para su desplazamiento), los meristemos apicales se configuran como una fuente de material vegetal óptimo para propagar, debido a su alta probabilidad de no conservación de los mencionados agentes patógenos. Debido a esta condición, este tipo de cultivo es quizás el de mayor utilización en el entorno productivo. | Técnica Estéril para la micropropagación *in vitro.* |
| Escena 5. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio.    Imagen: 222116\_i54.  Destacar algunas de las palabras del texto. Se sugiere que vayan apareciendo, se aumente el tamaño y desaparezcan.  “Ambiente estéril”. | NA | Ambiente estéril: se enfoca en la utilización apropiada de mecanismos y condiciones que reducen la posibilidad de contaminación del material vegetal y de los medios de cultivo base; estos consisten en el uso de las cámaras de flujo laminar, como espacio que se convierte en un garante de alta eficiencia para evitar la contaminación por vía aérea.  Tanto herramientas como materiales a usar en la cámara de flujo laminar, necesariamente deben ser esterilizados previamente con etanol al 70 %; los operarios también deben guardar estrictamente las medidas de prevención, pues el mismo cuerpo puede convertirse en vehículo de agentes patógenos, por tal motivo deben generarse protocolos de higiene personal que incluyan lavado de manos, batas limpias, no hablar mientras se encuentra en la cámara, entre otros.  Al final, debe limpiarse la totalidad de recipientes y herramientas usados con detergente o bactericida, realizando doble enjuague con agua potable y un tercero con agua destilada, escurriendo y secando al aire para, finalmente, almacenar en sitio cerrado. | Técnica Estéril para la micropropagación *in vitro.* |
| Escena 6. | Incluir la siguiente imagen de fondo.    Imagen: 222116\_i53.  Insertar en primer plano una persona con traje de limpieza de laboratorio que vaya teniendo movimiento, puede estar desinfectando el laboratorio.    Imagen: 222116\_i54. | NA | Todo este conjunto de aspectos referenciados, establecen un esquema de obligatorio cumplimiento para lograr el apropiado desarrollo de los procedimientos requeridos en el laboratorio, en aras del logro de los objetivos de producción determinados para el ensayo de micropropagación de material vegetal *in vitro*. | Técnica Estéril para la micropropagación *in vitro.* |
| Nombre del archivo. | 222116\_v2. | | | |

1. **Inicio del ciclo del cultivo in vitro**

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Luego del reconocimiento del proceso de la micropropagación de material vegetal, se continúa presentando un contenido introductorio a la temática general de propagación *in vitro*, exponiendo el panorama asociado a las diferentes fases generales de esta técnica de reproducción asexual del material vegetal. En este recorrido, se proporcionan elementos relacionados con las condiciones y procedimientos básicos de introducción de los tejidos a los medios de cultivo, la correspondiente multiplicación de brotes necesaria para el logro de nuevos individuos y, finalmente, un recorrido por los aspectos requeridos para el sostenimiento de los explantes y su consolidación.    Imagen:222116\_i55. |

* 1. Introducción de los tejidos seleccionados al medio de cultivo.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| La propagación *in vitro* de material vegetal, integra un conjunto de procesos que deben ser meticulosamente desarrollados para lograr el objetivo de producción; el paso inicial de esto es la introducción de los tejidos al medio seleccionado.    Imagen:222116\_i56. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | *Slider* imagen | |
| Introducción. | Para establecer un proceso de propagación vegetal *in vitro*, es necesario comprender la necesidad de contar con un medio de cultivo apropiado para el desarrollo de las fases implicadas. | |
| Para la técnica de cultivo *in vitro*, el medio de cultivo funciona como sustrato, pero también como fuente energética, fundamental para el desarrollo de los tejidos. | | Cómo germinar de forma sencilla semillas in vitro - PortalFruticola.com  Imagen:222116\_i57. |
| Los medios de cultivo son la combinación de diferentes componentes, que varían proporcionalmente de acuerdo con las características del tejido que se pretende desarrollar, sean yema, porciones de hoja, células, porciones de tallo, entre otros, y por el proceso morfogenético que se desea seguir (cultivo de meristemos, organogénesis o embriogénesis somática). | | Micropropagación de plantas - Bioplan In Vitro  Imagen:222116\_i58. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Tarjetas *Avatar* | |
| Introducción. | A partir de lo anterior, se describe la siguiente composición descriptiva de un medio de cultivo. | |
| Agua.  El 95 % de cualquier medio de cultivo es agua, así como solvente de todos los solutos, la cual debe estar en alto grado de pureza. | | Imagen: 222116\_i59. |
| Minerales.  Son los elementos inorgánicos importantes para el desarrollo de la planta, que consisten en macro y microelementos. | | Imagen:222116\_i60. |
| Compuestos orgánicos.  Constituido por carbohidratos, fuentes energéticas, reguladores de crecimiento y suplementos. | | Imagen:222116\_i61. |
| Mecanismo de soporte.  Estos son, básicamente, agentes gelatinizantes que proporcionan cierta dureza al medio de cultivo. | | Imagen: 222116\_i62. |
| Preparación del medio de cultivo.  También se conoce como la elaboración propiamente dicha de la mezcla, conservando pH apropiado, consistencia y asepsia. | | Generación de plantas de frambuesas in vitro - PortalFruticola.com  Imagen: 222116\_i63. |

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Rutas / Pasos verticales 1. |
| Introducción. | Luego de la definición de todo lo señalado hasta el presente punto, se procede a introducir el material vegetal *in vitro*; para el desarrollo de esto se debe: |
| Imagen:222116\_i64. | |
| Botón 1. | Paso 1.  Elegir la planta madre. |
| Botón 2. | Paso 2.  Extraer los fragmentos de planta madre, obteniendo los ex plantos requeridos, sean yemas, trozos de hojas, raíces o semillas. |
| Botón 3. | Paso 3.  Desinfectar el material vegetal, que puede lograrse a través del uso de agua esterilizadas por un tiempo prudencial (5 -15 minutos). |
| Botón 4. | Paso 4.  El periodo promedio de germinación o regeneración de tejidos, sucede entre los 7 y 15 días. |

* 1. Multiplicación de brotes y generación de subcultivos.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Posterior a la fase de introducción de los tejidos al medio, se da inicio al proceso de micropropagación a partir de explantes con meristemos terminales y axilares; esto se traduce en la producción de nuevos tallos. Tras la obtención de los nuevos brotes, estos deben cultivarse en un nuevo medio, generando divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros medios recipientes adecuados. Es importante resaltar que estas actividades deben ser realizadas en condiciones que garanticen la asepsia; esto se posibilita en cámaras de flujo laminar.    Imagen:222116\_i65. |

1. **Nutrición vegetal**

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| El elemento central de la formación de las nuevas plantas producidas del proceso de micropropagación, es la condición nutricional; el explante, a diferencia de las plantas consolidadas en proceso de desarrollo, aún no es un organismo autótrofo pues es incapaz de realizar fotosíntesis, depende del suministro apropiado de nutrientes que facilite la conformación de los diferentes órganos garantes de la autonomía como individuo; en tal sentido, el medio de cultivo se configura como el espacio que permite dicha consolidación, siendo la demanda nutricional celular para la diferenciación muy similar a la demanda nutricional de la planta plenamente constituida.  Técnicas de cultivo celular y medios-ibiantechnologies  Imagen:222116\_i66. |

* 1. Micronutrientes y macronutrientes.

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Tarjetas conectadas. |
| Introducción. | El medio de cultivo, la composición de su mezcla varía de acuerdo con el genotipo del material vegetal y a los objetivos promotores del ensayo en construcción (Suárez-Padrón, 2020). |
| Cambiar las palabras “Macronutrients” y “ Micronutrients” por “Macronutrientes” y “Micronutrientes” respectivamente.  Imagen:222116\_i67. | |
| Imagen:222116\_i68. | Micronutrientes.  El concepto hace referencia al nivel de concentración de ciertos elementos requeridos por parte del material vegetal para la formación de las plantas; entre estos se encuentran hierro (Fe), manganeso (Mn), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Boro (B) y Molibdeno (Mo), siendo el primero el mayormente requerido y, en su conjunto, son relevantes para el desarrollo de procesos asociados a la fotosíntesis, regulación hormonal y crecimiento celular. |
| Imagen:222116\_i69. | Macronutrientes.  Grupo constituido por los conocidos elementos mayores que son Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Azufre (S), siendo todos protagonistas en el proceso de consolidación y crecimiento de las estructuras celulares, siendo necesario manejar de manera apropiada el balance de los mismos en la solución, debido a que por excesos o por defectos, se puede ocasionar daños irreversibles a los ejemplares vegetales en formación, por ejemplo, la vitrificación por nitrógeno. |

* 1. Vitaminas, carbohidratos, aminoácidos y gelificantes.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Tarjetas *Avatar.* | |
| Introducción. | Continuando con la descripción de la nutrición celular se describen a continuación las vitaminas, carbohidratos, aminoácidos y gelificantes. | |
| Vitaminas.  En plantas superiores, las vitaminas contribuyen en el crecimiento y desarrollo, así como en la catalización de reacciones enzimáticas; la vitamina B1 (tiamina) es quizás la más utilizada, debido a su relevancia en la conversión del ácido pirúvico a acetil CoA, que interactúa con el ciclo de Krebs. También se reconoce la relevancia de otras vitaminas, como es el caso del ácido nicotínico (fundamental para la coenzima NAD y la síntesis de ADN); la vitamina B6 (piroxina), implicada en la transformación de energética de los nutrientes y la respiración; el ácido pantoténico, resulta fundamental para la coenzima A; la biotina, fundamental para el transporte de CO2 y; el ácido fólico, determinante en el transporte de unidades de carbono (Ramos *et al*, 2021). | | Imagen: 222116\_i70. |
| Carbohidratos.  Monosacáridos y disacáridos se presentan como las principales fuentes de carbono en cultivos *in vitro*; en ese sentido, la formación del nuevo ejemplar debe ser promovida desde la utilización de carbohidratos, en un proceso que estimula el desarrollo de la capacidad de realizar fotosíntesis, siendo la sacarosa el azúcar de mayor uso como fuente de energía por las plantas. | | No incluir el texto, solo la imagen.  Imagen: 222116\_i71. |
| Aminoácidos.  Son la fuente de nitrógeno para las células, debido a que son de más fácil integración metabólica que el nitrógeno inorgánico; la adición de compuestos de aminoácidos se limita al momento de formación del callo, a razón de ser un estimulante de proliferación celular con relevante importancia en el desarrollo de tejido vegetal. | | Imagen: 222116\_i72. |
| Gelificantes.  Son sustancias que pueden o no hacer parte del medio de cultivo, su presencia responde a las necesidades del tipo de explante, así como de los objetivos de producción. En casos en el cual se utilizan células en suspensión, por ejemplo, no se incluyen gelificantes, debido a que dicho medio contiene un importante contenido de complejo nutriente - hormonas de crecimiento y necesita un alto nivel de movilidad para la producción de oxígeno requerido para el crecimiento celular. | | Imagen: 222116\_i73. |

* 1. Reguladores de crecimiento.

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Acordeón tipo 1. |
| Introducción. | Dando continuidad a lo relacionado con la nutrición vegetal se presentan a continuación los reguladores de crecimiento. |
| Imagen: 222116\_i74. | |
| Proceso de diferenciación celular.  El logro del proceso de diferenciación celular es el garante del éxito de la micropropagación de material vegetal; la configuración de esto proporciona al ex plante la posibilidad de consolidarse como un individuo autónomo y realizador de fotosíntesis; en dicha transformación es vital abordar el crecimiento y su regulación como aspectos indispensables para la producción vegetativa. | |
| Concepto de reguladores de crecimiento.  Teniendo la necesidad de brindar soporte vital al tejido vegetal y cierto proceso de tutorado para el desarrollo óptimo de los ejemplares nuevos, es fundamental asumir el concepto de “reguladores de crecimiento” o, en otras palabras, hormonas vegetales; este corresponde a las características del tipo de explante implicado y los objetivos de desarrollo relacionados. | |
| Orgánicos y sintéticos.  Los reguladores de crecimiento pueden ser orgánicos o sintéticos y, en el cultivo in vitro, se adicionan a los medios de cultivo. Entre estos se identifican auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno, poliaminas, brasinoesteroides, ácido jasmónico y antioxidantes (Ramos *et al*, 2021). | |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| Una vez presentados los reguladores de crecimiento, a continuación, se describirán aspectos relacionados con las unidades de expresión de las sustancias en preparación de cultivo. |

1. **Unidades de expresión de las sustancias en preparación de cultivo**

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| El desarrollo de formulaciones que permitieran obtener el medio de cultivo ideal ocupó gran parte de la atención de la investigación en este campo de la biotecnología durante la segunda mitad del siglo XX; este interés permitió la generación de diversas fórmulas, orientadas para diferentes propósitos, pero en su mayoría fundamentadas en la inserción de sales en cantidades relativamente bajas (Suárez-Padrón, 2020).  PDF) Manual de Biotecnología Vegetal  Imagen: 222116\_i75. |

* 1. Elementos a utilizar, cálculos de producción en sustancias, nomenclatura y propiedades de componentes.

|  |
| --- |
| Cuadro de texto. |
| En el año de 1962, Toshio Murashige y Floke K. Skoog mientras investigaban requerimientos minerales en el tabaco, obtuvieron una combinación de sales, con altos contenidos de nitrato y amonio, que permitieron alcanzar tasas de crecimiento vegetal de hasta 25 veces más, que las combinaciones usadas tradicionalmente hasta ese momento. El rendimiento sin precedentes de esta formulación, ha permitido que en la actualidad siga siendo el principal medio de cultivo utilizado en el mundo. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Carrusel de tarjetas | |
| Introducción. | Los componentes del medio de cultivo, regularmente son agua, minerales, compuestos orgánicos y materiales complementarios de soporte; las características generales de cada uno de estos constituyentes se reseñan a continuación. | |
| Imagen: 222116\_i76. | | |
| Agua.  Representa el 95 % del medio y es solvente de todos los solutos adicionados al medio; debe contar con un alto grado de purificación, para lo cual se recurre a mecanismos como destilación, desionización y ósmosis inversa. | | Imagen:222116\_i77. |
| Minerales.  Son los elementos inorgánicos requeridos para el desarrollo de la planta (macro y microelementos), entre los que se encuentran Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Magnesio, Azufre, Calcio, Cloro, Sodio, Manganeso, Zinc, Boro, Cobre, Molibdeno, Cobalto, Hierro (Flórez - Hernández *et al*, 2017). | | Imagen:222116\_i78. |
| Compuestos Orgánicos.  Compuestos orgánicos conformados por moléculas de átomos de carbono, entre los que se encuentran carbohidratos o fuentes energéticas, vitaminas, reguladores de crecimiento y suplementos pertinentes. | | Imagen:222116\_i79. |
| Mecanismo de soporte.  Existen dos estados posibles de consistencia, que son el líquido y el semisólido; el primero regularmente está conformado por la formulación disuelta en agua, el segundo, corresponde a medios con cierta dureza generada por gelatinizantes, siendo el agar el más utilizado por el grado de dureza e inactividad iónica, que facilita la movilización de nutrientes hacia los tejidos en formación. | | Imagen:222116\_i80. |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto con imagen. |
| El cálculo de la cantidad de cada componente del medio de cultivo, es otro de los elementos cruciales del proceso; regularmente se expresan en unidades de masa; sin embargo, esto puede no reflejar siempre las diferencias en estructura molecular entre algunos de los componentes, esto debido a que la acción concreta depende de la cantidad de moléculas en el medio, más no del peso del mismo; esta condición se convierte en un factor crítico en los reguladores de crecimiento.  Para superar esta posible dificultad, debe realizarse el cálculo de cantidades de componentes en unidades molares, recurriendo a las siguientes fórmulas de conversión (Suárez-Padrón, 2020):  - Molar (M) = gL-1 / peso molecular.  - Minimolar (mM) = mgL-1 / peso molecular.  - Micromolar (μM) = μgL-1/ peso molecular.    Imagen:222116\_i81. |

* 1. Aplicación de fórmulas para disolución.

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Infografía estática. |
| Texto introductorio. | El desarrollo de las mezclas de nutrientes y elementos complementarios para la consolidación de un medio de cultivo apropiado, se constituye como la base para la generación de las condiciones óptimas de propagación vegetativa; no existe un único método o combinación, se reconocen diversas opciones resultantes de procesos de investigación biotecnológica; los más destacados, se referencian en la siguiente tabla. |
| Imagen: 222116\_i82. | |
| Código de la imagen. | 222116\_i82 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | | Pestañas o *tabs* verticales. |
| **Introducción** | | Continuando con el planteamiento de Suárez-Padrón (2020), se reconocen tres tipos de formas de preparar los medios de cultivo, las cuales son: |
| Imagen:222116\_i83. | | |
| Tipo 1. | Pesaje de cada componente al momento de preparación de la fórmula.  Es un método complejo, debido a las dificultades de pesaje de algunos componentes, como es el caso de los micronutrientes. | |
| Tipo 2. | Preparación de soluciones madre (*stock*).  Este método consiste en realizar una preparación en altas concentraciones, para luego tomar muestras proporcionales a las necesidades y diluirlas en agua. | |
| Tipo 3. | Formulaciones premezcladas obtenidas en el mercado.  Este último método proporciona especificidad en las medidas, pero su uso es limitado por concepto del costo económico asociado. | |

**Síntesis**

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Síntesis. |
| Propagación masiva de material vegetal.  Síntesis: Preparación de materiales y técnicas de propagación. | |
| Introducción. | La micropropagación *in vitro* de material vegetal, proporciona notables oportunidades de eficiencia productiva; sin embargo, su éxito depende del apropiado alistamiento de locaciones y dotaciones, también de la interpretación oportuna de las necesidades nutricionales, así como el desarrollo de procedimientos específicos que permitan garantizar una manipulación apropiada de todos los elementos relacionados, pues la más mínima falencia, puede generar un fracaso parcial o total. |
| Propagación de material vegetal según requerimientos específicos    Selección método de propagación  Elaboración de medio de cultivo  Cultivo de material vegetal  Nutrición vegetal  Establecimiento del cultivo  Micropropagación vegetal  Macronutrientes.  Micronutrientes.  Vitaminas, carbohidratos, aminoácidos, gelificantes.  Fase de reposo.  Fase exponencial.  Fase lineal.  Fase desaceleración.  Fase estacionaria.  Meristemos pre existentes.  Organogénesis.  Embriogénesis somática.    Técnica estéril | |

|  |
| --- |
| Cuadro de texto. |
| La comprensión de los diferentes elementos que competen a la propagación del material vegetal, no se limita a la adopción mecánica y reiterada de un tipo de procedimientos a desarrollar en el laboratorio, debe adentrarse el ejercicio sobre la interpretación apropiada de las formas, en las cuales se propende por el establecimiento del cultivo *in vitro* y la promoción del crecimiento como condiciones determinantes para sentar las bases del éxito productivo del proceso. Hemos llegado al final de este componente formativo.  Recuerde explorar los demás recursos que se encuentran disponibles, para ello diríjase al menú principal en el cual encontrará la síntesis, la actividad didáctica, material complementario, entre otros. |

**Actividad interactiva.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Actividad didáctica.  Completar la frase | | |
| Con el fin de retomar los aprendizajes de este componente formativo, debe desarrollar la actividad propuesta, que consiste en completar los espacios en las siguientes frases, relacionadas con el tema. | | Imagen:222116\_i84. | |
| Las fases del cultivo *in vitro* que Suárez-Padrón (2020) postula son \_\_\_\_\_\_\_\_, exponencial, lineal, \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ y estacionaria. | | Reposo y desaceleración. | Imagen:222116\_i85. |
| En el cultivo *in vitro*, el sustrato es un elemento crucial, puesto que no solo funciona como sustrato de soporte para la propagación, también es \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ para el material vegetal. | | Fuente de energía. |
| La dotación instrumental del laboratorio puede clasificarse en las categorías de equipos, utensilios y \_\_\_\_\_\_\_\_\_. | | Reactivos. |
| Las \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ son los agentes más comunes en los cultivos *in vitro* y ocasionan en los tejidos vegetales, síntomas como no uniformidad de crecimiento, necrosis localizada, tasas modestas de multiplicación de brotes, baja capacidad de enraizamiento y hasta la muerte del explante. | | Bacterias. |
| Las principales fuentes de contaminación de los espacios de cultivo de micropropagación in vitro son el material \_\_\_\_\_\_\_, el \_\_\_\_\_ y el \_\_\_\_\_\_\_. | | Vegetal, aire y operario. |

**Retroalimentación para respuestas incorrectas (para cada pregunta):**

¡Incorrecto! Es necesario revisar nuevamente el tema.

**Material complementario.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Tipo de recurso. | Material complementario. | | |
| Tema | Referencia APA del material | tipo | Enlace |
| Medios de cultivo. | Hernández-Morales, R (27 de octubre de 2021). Medios de cultivo en propagación vegetal [Archivo de video]. You Tube. <https://www.youtube.com/watch?v=Kn5rvSDRCXA> | Video. | <https://www.youtube.com/watch?v=Kn5rvSDRCXA> |
| Establecimiento de cultivo *in vitro.* | Suárez-Padrón, I (2020). Cultivo de tejidos vegetales. Fondo editorial Universidad de Córdoba. Consultado en: <https://core.ac.uk/download/pdf/288339333.pdf> | Libro. | <https://core.ac.uk/download/pdf/288339333.pdf> |
| Técnicas de micropropagación. | Perea, M (2009). Cultivo de tejidos vegetales in vitro. Consultado de: <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkw__ZozfqclxwYy-Y> | Libro. | <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkw__ZozfqclxwYy-Y> |
| Orientaciones de laboratorio | Ruíz-Benítez, M. (2020). Biotecnología de plantas. Guía. Consultado de: <https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7983/Gu%C3%ADa%20de%20Biotecnolog%C3%ADa%20de%20plantas.pdf?sequence=1&isAllowed=y> | Guía. | <https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7983/Gu%C3%ADa%20de%20Biotecnolog%C3%ADa%20de%20plantas.pdf?sequence=1&isAllowed=y> |

**Glosario**

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Glosario. |
| Autoclave: | recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético, que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua a fin de esterilizar materiales e instrumentos quirúrgicos. |
| Célula somática: | células que conforman el crecimiento de los tejidos y órganos de un ser vivo pluricelular. |
| Competencia celular: | condición en la cual las células han retenido o adquirido la capacidad de diferenciación y organogénesis celular para formar nuevas estructuras. |
| Determinación celular: | grado de compromiso de la célula en su programación biológica para seguir un proceso morfológico controlado, sin verse afectado por estímulos externos. |
| Embriogénesis somática: | desarrollo de embriones a partir de células que no son producto de la fusión de gametos durante la fecundación. |
| Endofítico: | dentro de la planta. |
| Mioinositol: | sustancia que ayuda a las células a desarrollar las membranas y a generar respuesta frente a los mensajes que llegan del ambiente. |
| Propágulo: | biología es un tipo de germen, parte o estructura de un organismo, producido sexual o asexualmente, capaz de desarrollarse de manera separada para dar lugar a un nuevo organismo idéntico al que lo formó. |
| Regulador osmótico: | sustancias que disminuyen el potencial hídrico dentro de la célula para evitar la deshidratación. |
| Senescencia: | proceso iniciado como respuesta al estrés y daño ocurrido en una célula, y constituye una ruta alternativa de respuesta a la muerte celular programada |

**Referentes bibliográficos**

|  |  |
| --- | --- |
| Tipo de recurso. | Referencias bibliográficas. |
| Flores-Hernández, LA. Robledo-Paz, A. Jimarez-Montiel, MJ (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas, en: *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (8) (6) pp. 1315-1328. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v8n6/2007-0934-remexca-8-06-1315-en.pdf> | |
| Ramos, A. Cano, J. López, G. & Varguez, A (2021). Alcances y perspectivas del área de biotecnología vegetal del CIATEJ en el Sureste de México. ISNB-978-607-8734-24-5. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/354659004_Alcances_y_perspectivas_del_area_de_Biotecnologia_Vegetal_del_CIATEJ_en_el_Sureste_de_Mexico> | |
| Suárez-Padrón, I (2020). Cultivo de tejidos vegetales. ISNB-978-958-5104-09-9. Disponible en: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/2553#:~:text=El%20cultivo%20de%20tejidos%20vegetales,agr%C3%ADcola%20y%20la%20investigaci%C3%B3n%20vegetal>. | |
| Vences-Contreras, C (2016). Manual de prácticas. Unidad de aprendizaje: micropropagación vegetal. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrarias. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/64552/secme-12254.pdf?sequence=> | |