

Taller: Actualización y mejoras en los procesos de Bancos de Germoplasma de la Red de Centros de Conservación de Semillas

19 y 20 de enero de 2023



AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL



SNICS

SERVICIO NACIONAL DE
INSPECCIÓN Y CERTIFICACIÓN
DE SEMILLAS



2023
AÑO DE
Francisco
VILLA

EL REVOLUCIONARIO DEL PUEBLO

05

Conservación en Bancos de Germoplasma *in vitro*

5.1. Diagnóstico de las capacidades de los Centros de Conservación

M.C. Julio César Pérez de la Cerda
Subdirector de Control de Calidad



Contenido

01

Capacidad

02

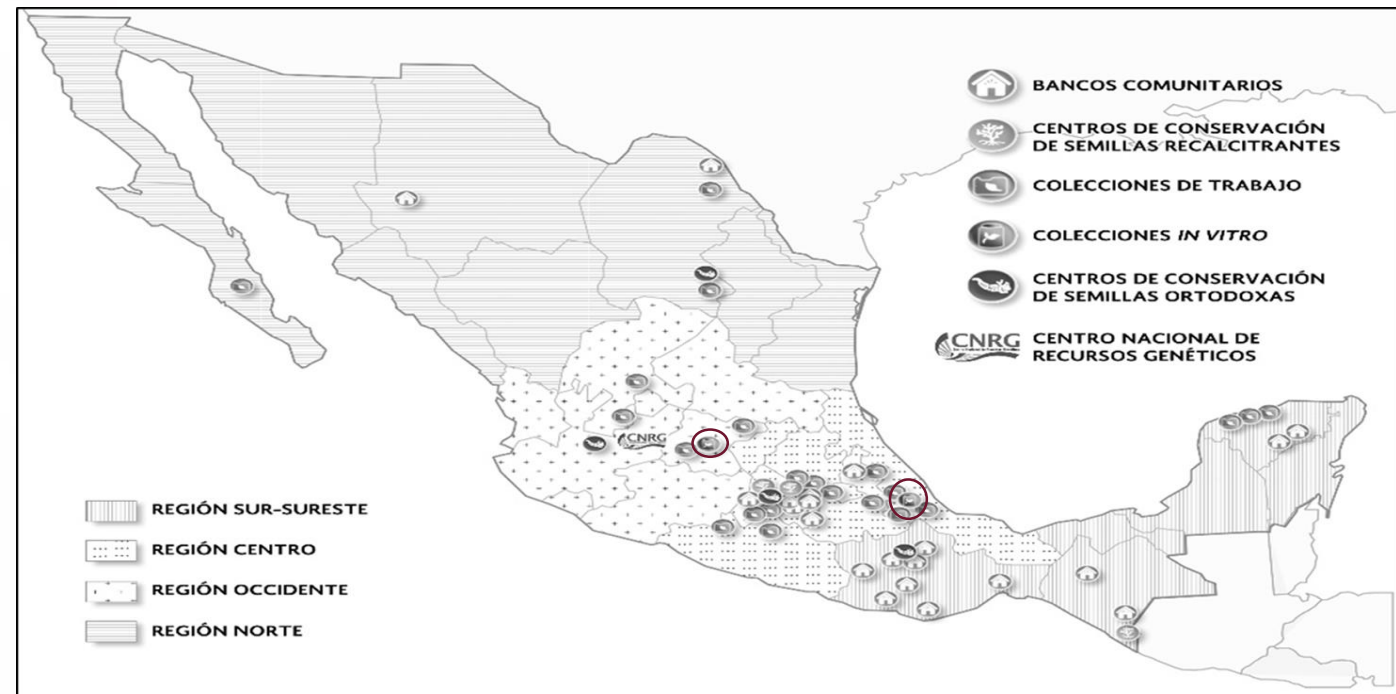
Accesiones resguardadas



01 Capacidad

Capacidad de los BG *in vitro*

Colección <i>in vitro</i>	Capacidad (m ³)	Utilizado (m ³)	Disponible (m ³)	Especies
Universidad Veracruzana	90	30	60	Orquídeas (vainilla)
Universidad de Guanajuato	35	18	17	Agaves y camote de cerro
Total	125	48	77	



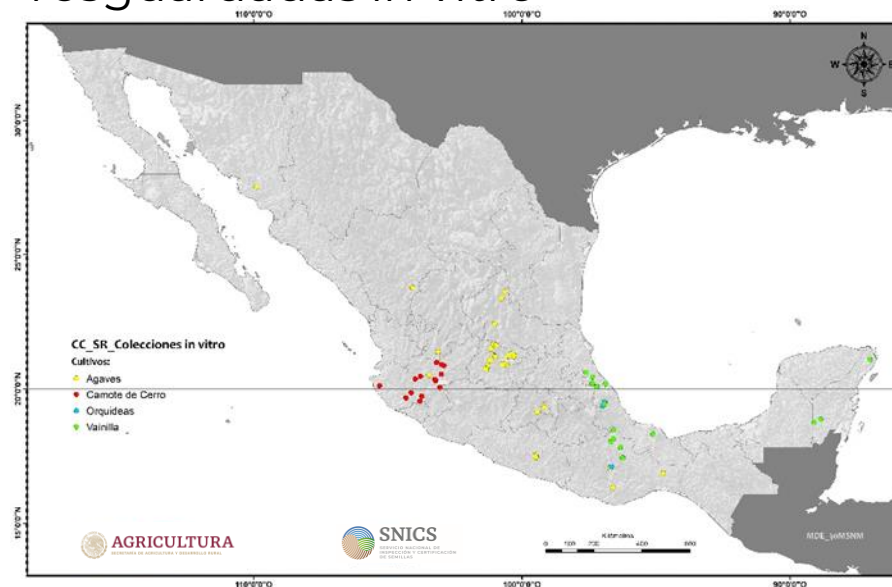
02 Acciones resguardadas

Número de accesiones resguardadas *in vitro*

Instancia	UG	UG	UV	UV
Centro de Conservación	Colección <i>in vitro</i> de Agaves	Colección <i>in vitro</i> de Camote	Colección <i>in vitro</i> de Orquídeas	Colección <i>in vitro</i> de Vainilla
No. de accesiones	72	90	75	51

- **Universidad Veracruzana: 126**
- **Universidad de Guanajuato: 162**

Distribución de las accesiones resguardadas *in vitro*



05

Conservación en Bancos de Germoplasma *in vitro*

5.2. Recepción (registro) de la muestra en el Banco de Germoplasma

Dra. Rebeca A. Menchaca García

Investigadora del CITRO-UV y
Encargada del BG *in vitro* de la UV



Contenido

01

Recepción de muestras

02

Diagnóstico y evaluación

03

Incorporación

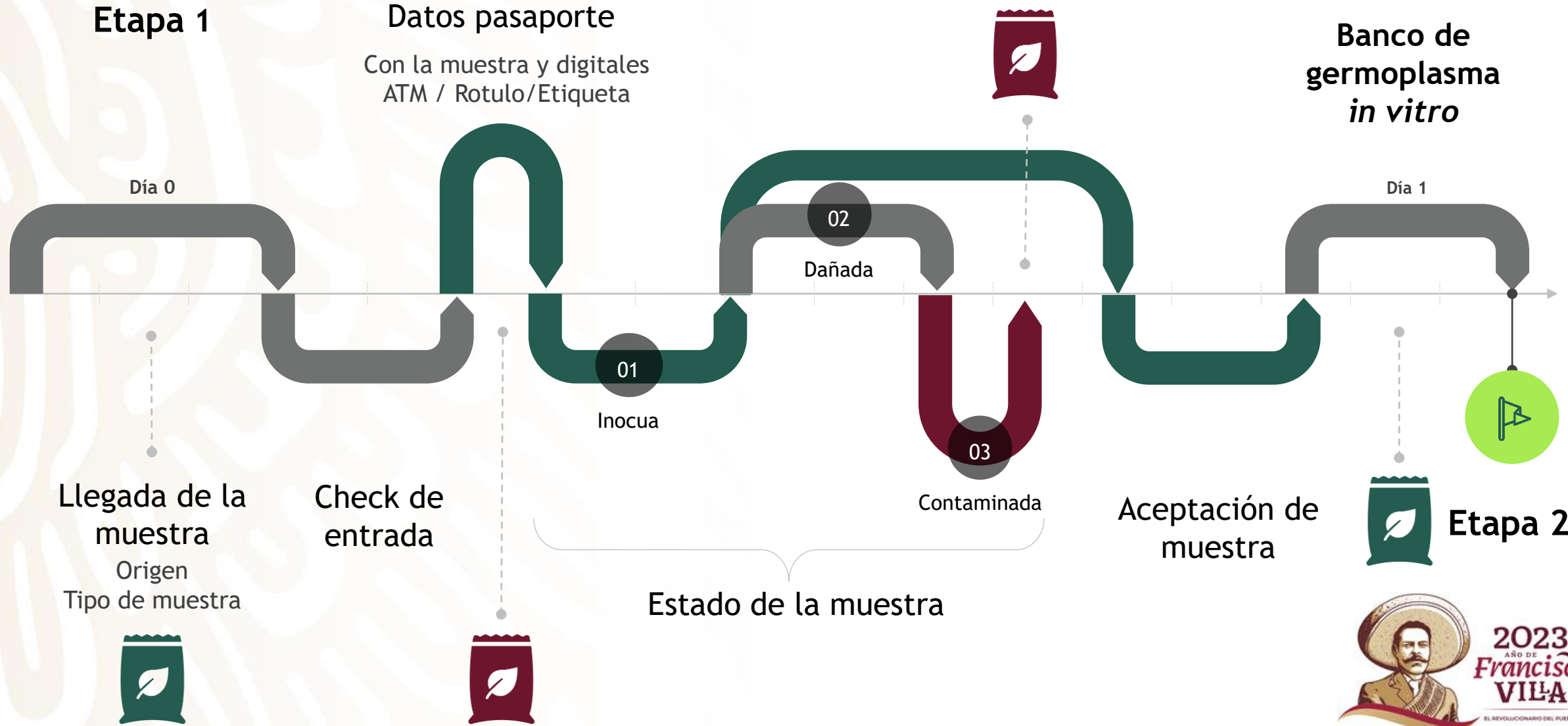


01 Recepción de muestras

Etapa 1

Datos pasaporte

Con la muestra y digitales
ATM / Rotulo/Etiqueta

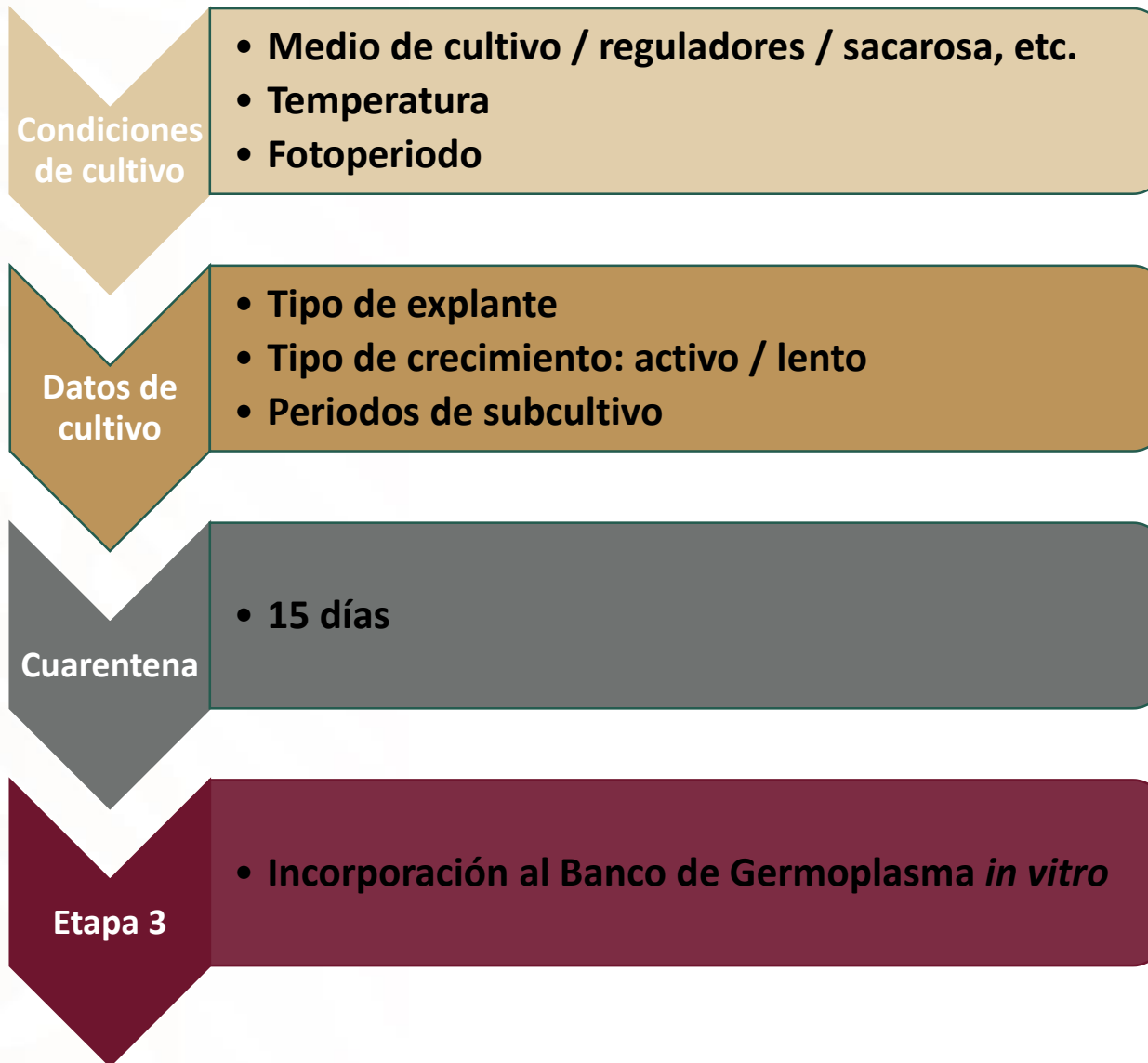




02 Diagnóstico y evaluación

Etapa 2

Check
técnico





03 Incorporación

Etapa 3

Cuarentena

- 15 días

Resguardo

- Captura de información en la base de datos del banco de germoplasma
- Rotulado / Asignación código QR

Bitacora de trabajo

- Fecha de llegada
- Fecha de último subcultivo
- Datos de cultivo



05

Conservación en Bancos de Germoplasma *in vitro*

5.3. Evaluación del contenido hídrico y para calcular el vigor y la viabilidad

Dra. Rebeca A. Menchaca García

Investigadora del CITRO-UV y
Encargada del BG *in vitro* de la UV



Contenido

01

Generalidades

02

Evaluación de contenido hídrico

03

Evaluación del vigor

04

Evaluación de la viabilidad





01 Generalidades



Estos factores son importantes de evaluar cuando se quiere conservar embriones o semillas mediante crioconservación a largo plazo



01 Generalidades

La crioconservación consiste en el almacenamiento a temperaturas ultra bajas como las del nitrógeno en fase líquida (-196°C).

A dichas temperaturas, la división celular y los procesos metabólicos de células entran en un estado de suspensión animada que les permite ser almacenados sin modificaciones o alteraciones durante un periodo ilimitado (Engelman, 2000; Santos, 2002).



02 Evaluación del Contenido Hídrico

Conocer los contenidos hídricos que presentan los distintos componentes de las semillas recalcitrantes es fundamental para su criopreservación eficaz

$$\%H = \frac{\text{Peso perdido}}{\text{Peso inicial}} (100)$$



02 Evaluación del Contenido Hídrico

Se recomienda llevar a cabo el secado a 80°C hasta alcanzar un peso constante. Cuando los tejidos se secan a 80 o C, el tiempo necesario para llegar al peso constante suele estar entre 24 y 48 horas

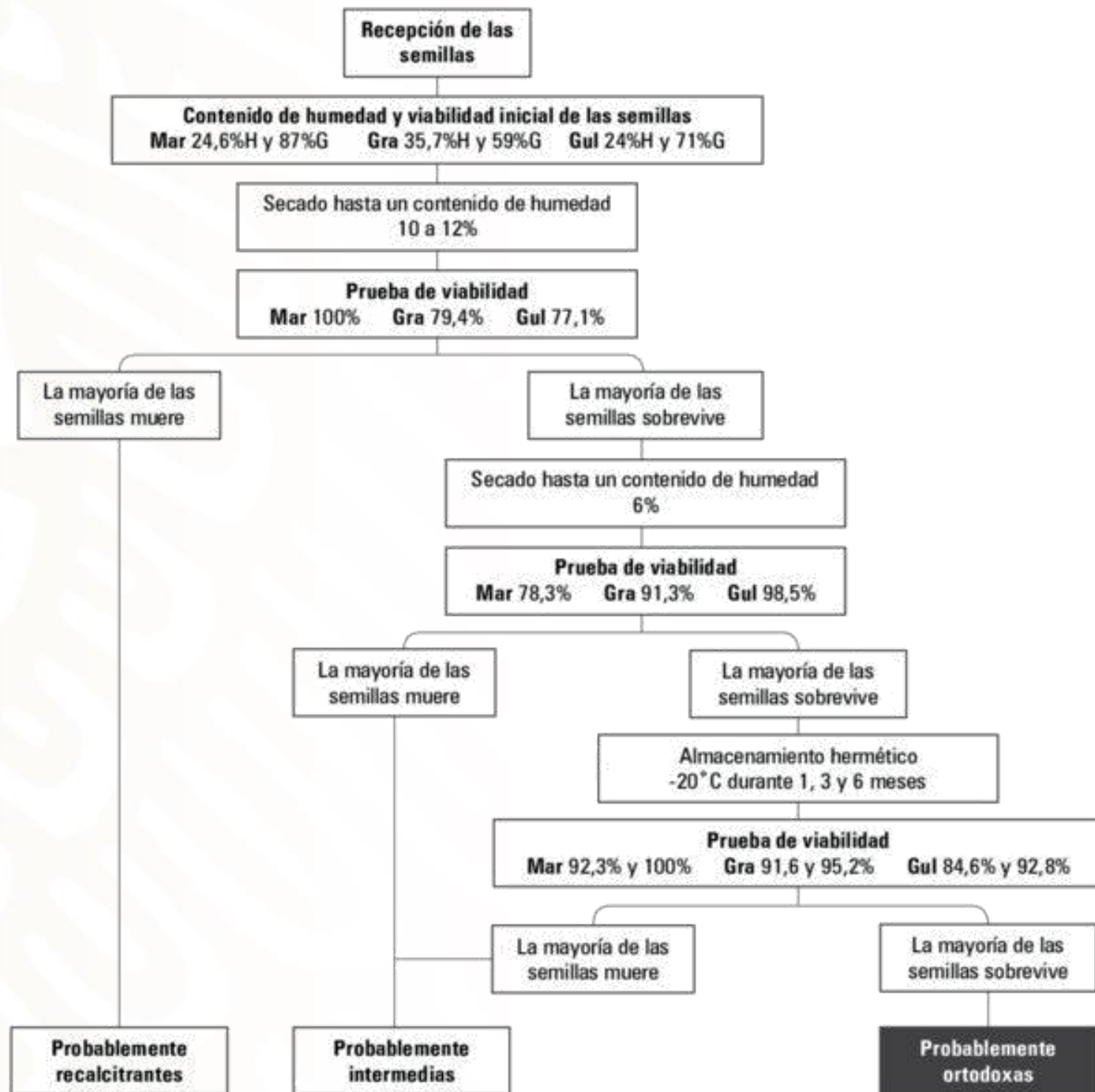
Durante la congelacion, se forman cristales de hielo, que tienen un grave efecto perjudicial sobre las células



02 Evaluación del Contenido Hídrico

La silica gel no se recomienda para secar semillas para crioconservación, por su desecación brusca





03 Evaluacion del Vigor

La **prueba de vigor** está relacionada con la capacidad de las semillas para germinar y producir una plántula normal condiciones ideales para la germinación.

Se contabilizan el porcentaje de plantulas normales a diferentes periodos de tiempo



Figura 4. Anormalidades en plántula de soja. Fuente Grupo de Trabajo Tecnología de Semillas, EEA (Oliveros INTA).

04 Evaluación de Viabilidad

Es la capacidad de germinar de una semilla cuando se coloca en condiciones favorables

Se evalúa contabilizando las semillas germinadas o bien con prueba de tetrazolio:

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{semillas teñidas}}{\text{semillas totales}}$$

04 Evaluación de Viabilidad



Semilla viable y no viable de *Glycine max* L. La coloración roja indica, la reducción del tetrazolio a formazan, debido a la actividad respiratoria de las células.

La función del tetrazolio permitirá que las células vivas se tiñan de un tono rojizo, lo cual indicará la capacidad potencial de germinación. De manera que, las células muertas no serán teñidas.

VIABILIDAD DE SEMILLAS DE ARROZ PROVENIENTES DE PLANTAS OBTENIDAS *in vitro*

Cuadro 1. Resultados de la prueba de germinación sobre papel de semillas de accesiones de arroz almacenadas y provenientes de plantas obtenidas *in vitro*^{a,b}.

Almacenamiento (años)	Plántulas			Semillas		Germinadas (%) ^c
	Normales	Anormales	Muertas	Duras/ latentes	Contaminadas	
12 años	180	18	57	0	45	70.58 a*
9 años	249	6	24	0	21	90.24 b
7 años	270	3	21	0	6	91.83 b
5 años	285	0	9	0	6	96.93 c
2 años	288	6	3	0	3	96.96 c
0 años	294	3	3	0	0	98.00 d
Control	294	0	0	6	0	98.00 d

a. Semillas empacadas en bolsas de plástico y conservadas a 4 °C y 34% de humedad relativa.

b. Conteo total en tres repeticiones de 100 semillas cada una.

c. El porcentaje de germinación se calculó con el número de plantas normales respecto al total de semillas (descartando las contaminadas).

* Valores seguidos de letras iguales en la misma columna no difieren en forma significativa ($P > 0.05$), según la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Cuadro 6. Efecto de la crioconservación en la germinación (cajas de Petri) y viabilidad de semillas de *S. lycopersicum* L. tomate Unapal–Maravilla con diferentes contenidos de humedad.

Contenido de humedad (%)	Suspensión en NL			
	Sin		Con	
	Viabilidad (%)	Germinación (%) Normal Relativa	Viabilidad (%)	Germinación (%) Normal Relativa
0 – 12 (9.9)	80 a*	76 a 95	75,5 a	71 a 94
8-10 (8.2)	64 b	60 b 93,7	70 b	62 ab 88,5
6-8 (6.5)	72 b	63 b 87,5	70 a	57 b 81,4
2-4 (2.4)	71 b	58 b 81,6	69 b	59 ab 85,5
Media	71,8 a	64,2 a 89,4	71,1 a	62,2 a 87,3

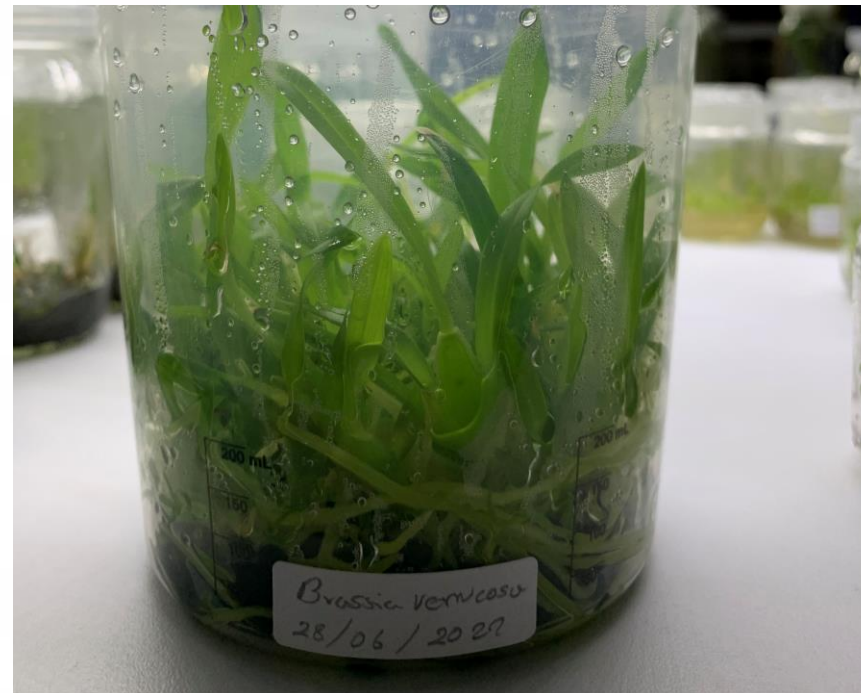
*. Promedios con igual letra en la misma columna no difieren significativamente al nivel de $P < 0.05$, según Duncan.

Cuadro 7. Efecto de la crioconservación en la viabilidad y emergencia (arena estéril) de semillas de *S. lycopersicum* L. tomate Unapal – Maravilla con diferentes contenidos de humedad.

Contenido de humedad (%)	Suspensión en NL			
	Sin		Con	
	Viabilidad (%)	Emergencia (%)	Viabilidad (%)	Emergencia (%)
10-12 (9.96)	80 a*	74	75,5 a	61
8-10 (8.20)	64 b	68	70 b	68
6-8 (6.46)	72 b	66	70 a	60

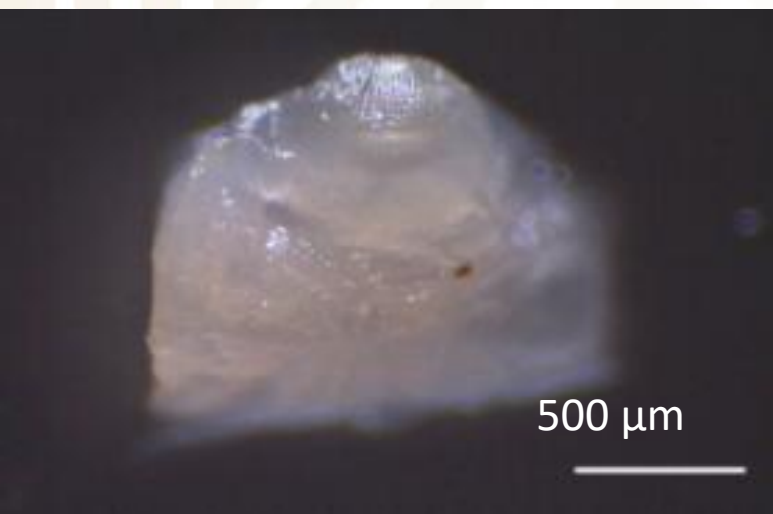
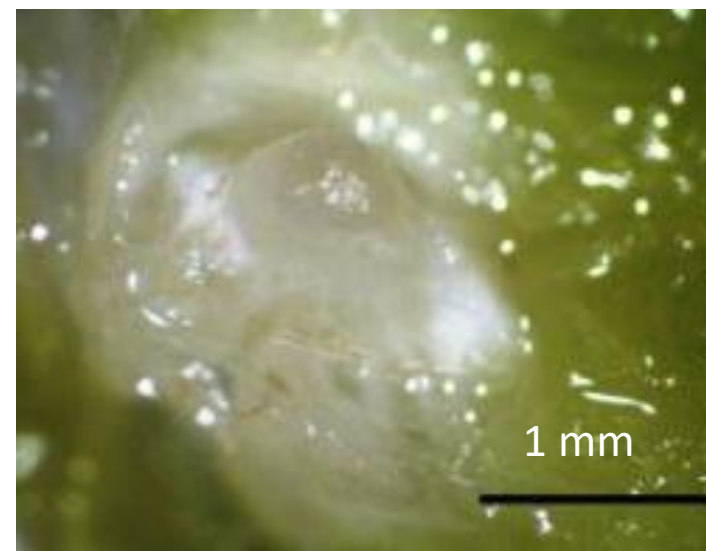
Cultivo *in vitro*

Opción para la conservación de
germoplasma para cultivos
recalcitrantes y/o de difícil
conservación por semillas









05

Conservación en Bancos de Germoplasma *in vitro*

5.4. Cultivo *in vitro* y crecimiento lento

Dra. Rebeca A. Menchaca García

Investigadora del CITRO-UV y
Encargada del BG *in vitro* de la UV

Contenido

01 Generalidades

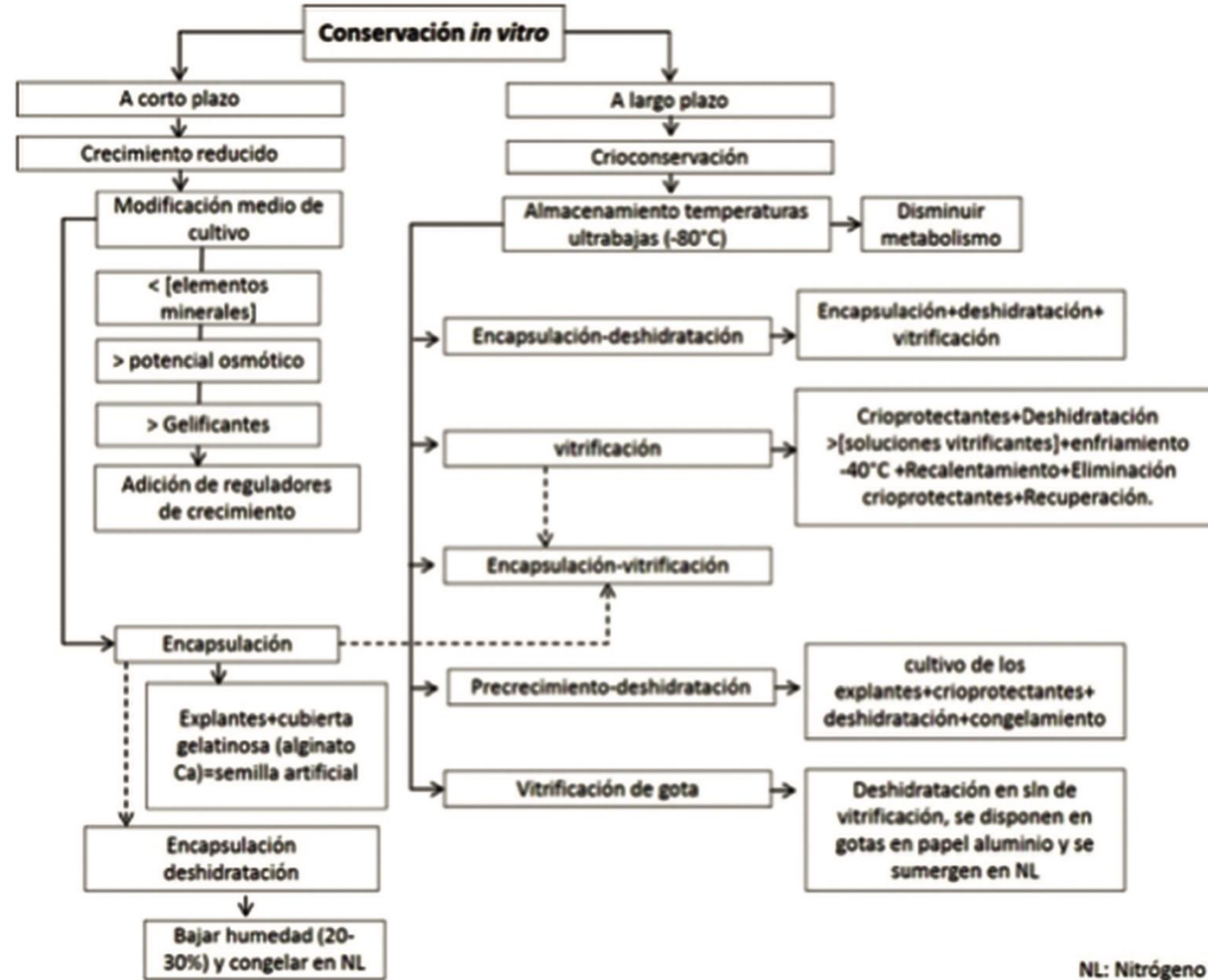
02 Factores químicos

03 Factores físicos



Crecimiento lento

*Es la técnica para
mantener accesiones
resguardadas en un banco
de germoplasma in vitro
Sin tener que hacer
múltiples subcultivos o
necesitar muchos técnicos
operarios*



NL: Nitrógeno líquido.

Figura 2. Estrategia de conservación *in vitro* para los recursos fitogenéticos.

02 Factores químicos

Modificación del medio de cultivo



La reducción en la concentración de elementos minerales y/o carbohidratos metabolizables (por ejemplo, sacarosa) en el medio de cultivo puede ser una estrategia importante para la reducción del crecimiento del explante (Engelmann 1991, Rao 2004).

Reducción de elementos minerales



Aumento de potencial osmótico

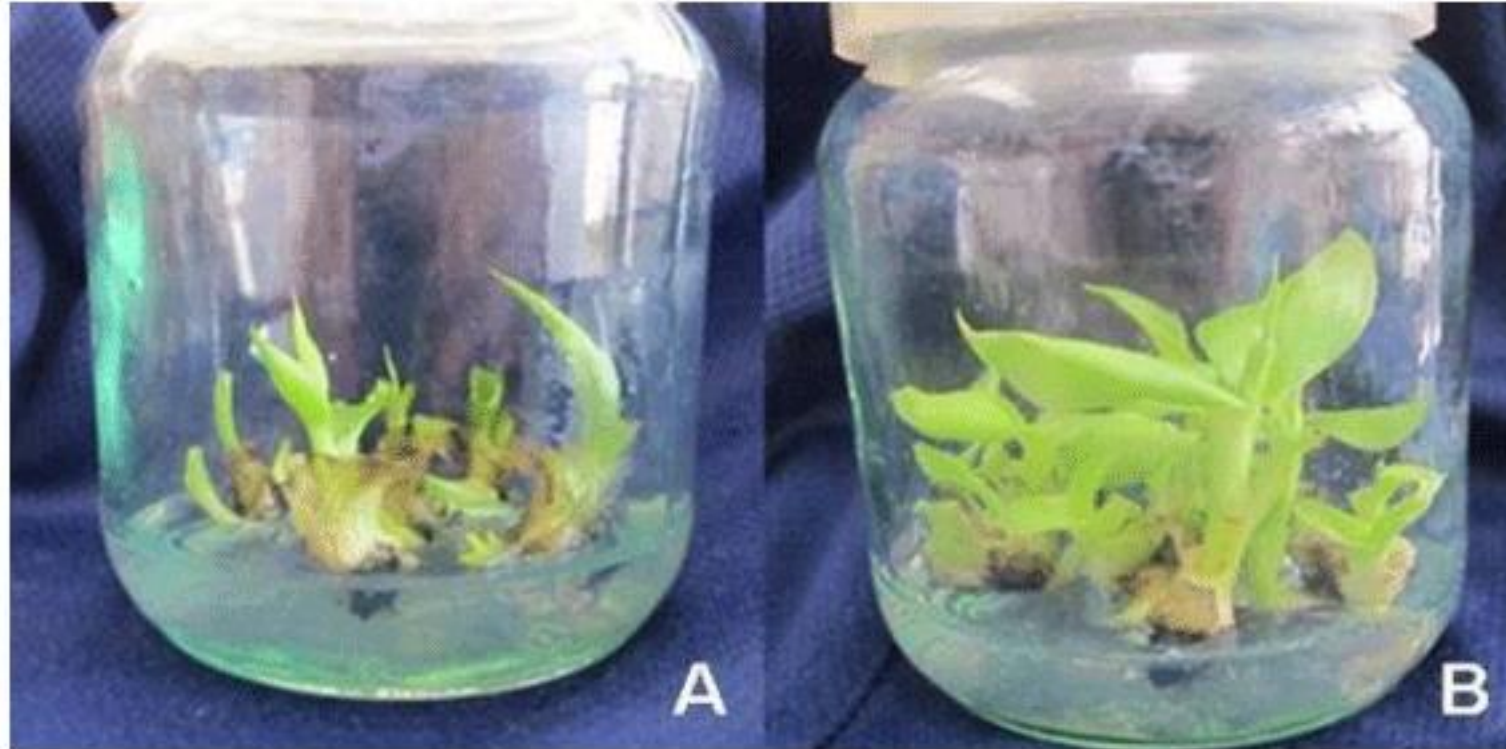


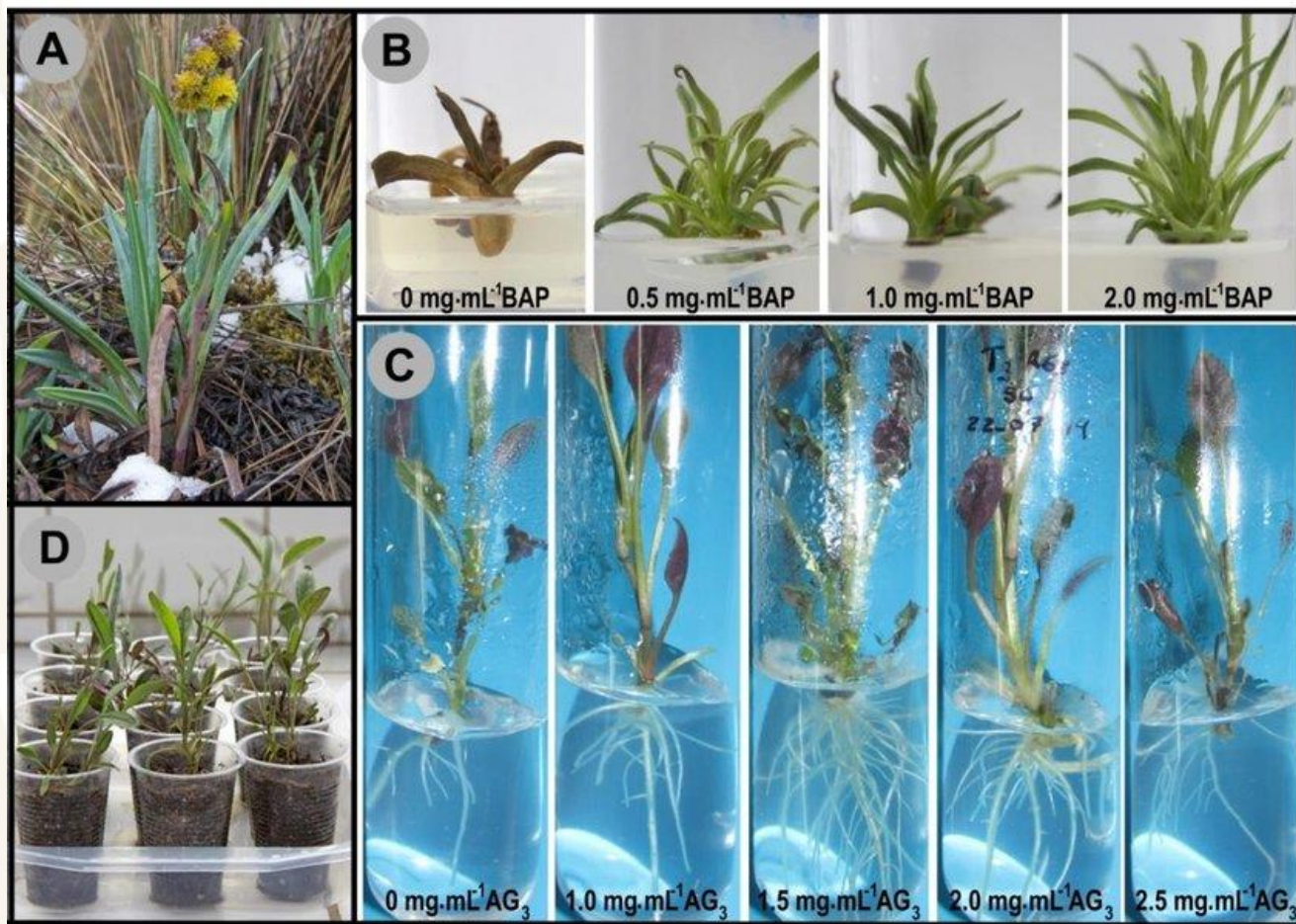
Figura 1. Plantas *in vitro* de banana cv. 'Grande naine' (*Musa AAA*) sometidas a estrés hídrico inducido por Polietilenglicol 6000 en medio de cultivo de multiplicación a los 28 días de cultivo (A). Control (B).

Aumento de gelificante

Al aumentar el agar explante absorbe los nutrientes más lentamente y ocurre una reducción en el crecimiento (Engelmann 1991).



Reguladores de crecimiento

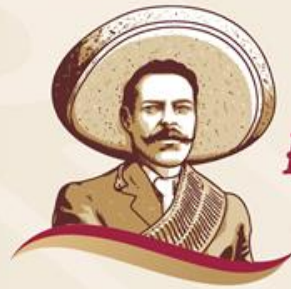


La adición de ciertos reguladores de crecimiento (como el ácido abscísico [ABA]), reduce el crecimiento de los cultivos in vitro

03 Factores físicos



- Luz: tipo y longitud de onda
- Temperatura: reducción
- Humedad relativa
- Concentraciones de O² y CO₂
- Tamaño, forma y tipo de recipiente



2023
AÑO DE
Francisco
VILLA
EL REVOLUCIONARIO DEL PUEBLO

¡GRACIAS!



AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL



SNICS
SERVICIO NACIONAL DE
INSPECCIÓN Y CERTIFICACIÓN
DE SEMILLAS