



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**ESTUDIO DE LAS CONDICIONES PARA LA
CRIOCONSERVACION DE HENEQUEN (*Agave fourcroydes*
Lem.), POR EL METODO DE
VITRIFICACION**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE:

Licenciada en Biología

POR:

Patricia Alejandra Losa Martínez

ASESORES: Dr. Manuel L. Robert
MC. Miguel A. Herrera

Mérida, Yucatán, México, 2002

BIBLIOTECA CICY

INDICE

Lista de Figuras.....	i
Lista de Tablas.....	ii
1 INTRODUCCION	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo general.....	4
2.2 Objetivos específicos	4
3 REVISION DE LITERATURA.....	5
3.1 El género agave.....	5
3.1.1 El henequén.....	5
<i>Taxonomía.....</i>	<i>6</i>
<i>Morfología del henquén.....</i>	<i>6</i>
<i>Origen y distribución.....</i>	<i>8</i>
<i>Usos del henequén.....</i>	<i>8</i>
3.2 La criobiología.....	10
3.2.1 La congelación en los sistemas biológicos.....	10
3.3 Los compuestos crioprotectores.....	12
3.4 La crioconservación.....	13
4 METODO.....	20
4.1 Material vegetal.....	20
4.1.1 Obtención de los explantes.....	20
4.1.2 Detección de Microorganismos.....	21
4.2 Soluciones y medios de cultivo.....	21
4.2.1 Medio de cultivo.....	21
4.2.2 Solución cargadora.....	21
4.2.3 Solución vitrificante.....	22
4.3 Experimentos de crioconservación.....	23
4.3.1 Experimentos con 2 diferentes combinaciones de crioprotectores.....	23
4.3.2 Vitricación a diferentes tiempos de precultivo.....	24
4.3.3 Experimento con 2 diferentes temperaturas de descongelación.....	25

4.3.4 Ensayo de vitrificación utilizando diferentes medios de precultivo.....	25
4.3.5 Evaluación de toxicidad de la solución PVS2.....	26
4.3.6 Criopreservación utilizando diferentes concentraciones de sacarosa en la SC.....	26
4.3.7 Criopreservación utilizando un periodo de adaptación de las plantas a altas concentraciones de sacarosa (0.8m).....	26
4.3.8 Criopreservación precultivando los explantes en altas concentraciones de sacarosa (0.8m).....	27
5 RESULTADOS.....	28
5.1 Experimentos de crioconservación.....	28
5.1.1 Experimentos con 2 diferentes combinaciones de crioprotectores.....	28
5.1.2 Vitrificación con diferentes tiempos de precultivo.....	29
5.1.3 Experimento con 2 diferentes temperaturas de descongelación.....	30
5.1.4 Ensayo de vitrificación utilizando diferentes medios de precultivo.....	31
5.1.5 Evaluación de toxicidad de la solución PVS2.....	32
5.1.6 Criopreservación utilizando diferentes concentraciones de sacarosa en la SC.....	34
5.1.7 Criopreservación utilizando un periodo de adaptación de las plantas a altas concentraciones de sacarosa (0.8m).....	34
5.1.8 Criopreservación precultivando los explantes en altas concentraciones de sacarosa (0.8m).....	35
5.2 Detección de microorganismos.....	36
6 DISCUSION.....	37
6.1 Material vegetal.....	37
6.2 Técnica de crioconservación por el método de vitrificación.....	38
6.2.1 Adaptación.....	38
6.2.2 Precultivo.....	38
6.2.3 Solución cargadora.....	40
6.2.4 Solución vitrificante.....	40
6.2.5 Congelación.....	41

6.2.6 Descongelación.....	41
6.2.7 Recuperación.....	42
7 CONCLUSIONES.....	43
8 RECOMENDACIONES.....	44
REFERENCIAS.....	45
ANEXOS.....	52

RESUMEN

La conservación del genoma del género *Agave* es de gran importancia en México, no solamente por la variedad de productos que de sus especies se obtiene, sino por su importancia ecológica, ya que estas plantas evitan la erosión del suelo en zonas secas.

La crioconservación ha probado ser una opción confiable para la conservación, a largo plazo, del genoma de especies de reproducción vegetativa como es el caso del henequén.

En el presente trabajo se investigó la posibilidad de congelar las bases de hoja de las plantas de henequén por la técnica de vitrificación. Utilizando las soluciones vitrificantes PVS2M y PVS2. Los explantes, obtenidos de base de hojas de plantas propagadas *in vitro*, se precultivaron utilizando diferentes concentraciones de sacarosa y sorbitol en el medio y para la descongelación se usaron 2 temperaturas, 40 y 70° C.

El henequén resultó ser sumamente resistente a la deshidratación, por lo que no se pudo evitar el daño causado por la congelación con los diferentes tratamientos realizados, esto posiblemente debido a que no se logró eliminar la suficiente cantidad de agua de los tejidos como para evitar la formación de cristales.

El explante fue sensible a los pretratamientos con sorbitol pero muy resistente a los tratamientos con sacarosa aún en altas concentraciones.

A pesar de que se utilizaron diferentes condiciones en la técnica de vitrificación no se logró la supervivencia del explante a la congelación, por lo que es posible que el explante seleccionado no fuera el más adecuado.

PALABRAS CLAVE

Crioconservación, henequén, vitrificación, PVS2