

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE
Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Sustentabilidad y tecnología

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)
Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II



ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara

4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Proliferación de yemas axilares de *Catharanthus roseus* en diferentes
solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el
Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de
Jalisco, Unidad Zapopan.

PRESENTAN

Programas educativos y Estudiantes
Ing. en Biotecnología, Alexis García Rubio

Profesor PAP: Dr. José Juvencio Castañeda Nava
Tlaquepaque, Jalisco, julio de 2023

ÍNDICE

Contenido

REPORTE PAP	3
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	3
Resumen	5
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	5
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto	6
1.2 Caracterización de la organización	12
1.3 Identificación de la(s) problemática(s)	14
1.4. Planeación de alternativa(s).....	15
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	21
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos	56
1.7. Bibliografía y otros recursos.....	57
2. Productos	63
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	64
3.1 Sensibilización ante las realidades	64
3.2 Aprendizajes logrados	65

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

El PAP proliferación de yemas axilares de *Catharanthus roseus* en diferentes solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el CIATEJ, Unidad Zapopan tuvo su inicio en verano de 2023. Para éste se planteó el objetivo de evaluar el impacto del tipo y la cantidad de solidificante del medio de cultivo en la proliferación de yemas axilares de *C. roseus*, y evaluar el efecto del peróxido de hidrógeno en su aclimatación. Se plantearon como objetivos específicos; determinar el tipo de solidificante y la concentración que favorezca la producción de yemas y raíces, determinar la concentración de peróxido de hidrógeno, el tiempo de exposición, y frecuencia de aplicación que favorezca la aclimatación

Se prepararon medios de cultivo diferentes, utilizando concentraciones distintas de Agar, *Phytigel*, y *Bactoagar*, y dependiendo del caso se agregaron reguladores de crecimiento para favorecer la formación de brotes o de raíces. Se realizó la propagación de yemas axilares de *C. roseus* y se llevaron a cabo evaluaciones para comprobar el efecto de la composición del medio en el crecimiento del explante. Se dispusieron múltiples plántulas para su aclimatación, aplicando a la mitad un tratamiento por inmersión en soluciones de peróxido de hidrógeno a múltiples concentraciones, y a la otra mitad se le realizaron aplicaciones diarias por aspersión durante 7 días.

Se encontró que al utilizar medios con mayor rigidez se promueve el alargamiento de tallo y hojas, y la formación de raíz, mientras que un medio semilíquido favorece la formación de biomasa. Se encontró que la aplicación repetida de la solución de peróxido de hidrógeno daña a la planta, pero a una concentración baja ayuda a evitar su deshidratación. Se identificó que en el tratamiento por inmersión, utilizar una concentración más elevada resulta más efectivo.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, (CIATEJ), busca brindar soluciones tecnológicas y humanas para auxiliar en la

competitividad de los sectores agrícola, alimenticio, salud y medio ambiental. El proyecto que se presenta será desarrollado dentro de la Unidad de Biotecnología Vegetal. Esta unidad busca servir al sector agrícola, agropecuario y agroindustrial por medio de la investigación; desarrollo; servicios tecnológicos y a través de la formación de recursos humanos especializados; todo con el propósito de incrementar la competitividad e innovar en los sectores antes mencionados.

Este proyecto busca respetar estos ideales por medio de los siguientes objetivos: evaluar el impacto del tipo y la cantidad de solidificante del medio de cultivo en la proliferación de yemas axilares de *Catharanthus roseus*, y evaluar el efecto del peróxido de hidrógeno en la aclimatación de *Catharanthus roseus*. Estos objetivos buscarán cumplirse por medio de desarrollo experimental, y para alcanzarlos será necesario:

- Determinar el tipo de solidificante que favorece la producción de yemas.
- Determinar la concentración de solidificante que favorezca la producción de yemas.
- Determinar el tipo de solidificante que favorece la producción de raíces.
- Determinar la concentración de solidificante que favorezca la producción de raíces.
- Determinar la concentración de peróxido de hidrógeno que favorezca la aclimatación.
- Determinar el tiempo de exposición al peróxido de hidrógeno que favorezca la aclimatación.
- Determinar el efecto de la frecuencia de aplicación de peróxido de hidrógeno en la aclimatación.

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

Los recursos naturales, incluidas las plantas herbáceas, que contienen una gran variedad de fitoquímicos prometedores como medicina tradicional para tratar enfermedades crónicas e infecciosas, se han considerado alternativas seguras y eficaces con menos efectos secundarios en comparación con los agentes sintéticos [1]. Entre la enorme cantidad de plantas medicinales identificadas, *Catharanthus roseus* (*C. roseus*) comúnmente conocida como: Chatas, Chula, Pervinca de Madagascar, Vinca pervinca, Hierba doncella, Teresita, entre

otros; se ha utilizado ampliamente para tratar diversas enfermedades en muchos países. Aparte de sus propiedades medicinales, *C. roseus* se considera una planta ornamental muy extendida debido a sus atractivos y variados colores de flor y a su excelente capacidad para tolerar condiciones secas y de escasez de nutrientes [2]. La aplicación de programas de mejora genética ha dado lugar a un amplio espectro de colores de pétalos de flores, entre los que se incluyen blanco, rosa, escarlata, naranja rojizo, melocotón y púrpura, con ojos florales de varios tonos como blanco, rojo, rosa, rosa intenso, amarillo pálido y muchos más [3] (Figura 1).

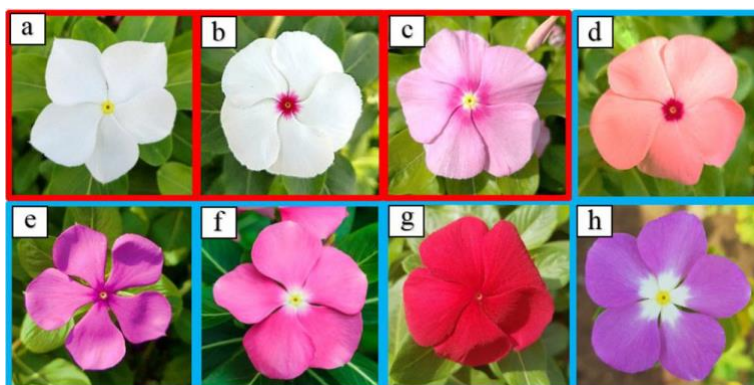


Figura 1. Fotografías de ocho variedades de *Catharanthus roseus*. (a) Patricia White (PW); (b) First Kiss Polka Dot (FKD); (c) First Kiss Peach (FKP); (d) Experimental Rose Pink (ER); (e) Experimental Deep Pink (ED); (f) Cooler Orchid (CO); (g) Victory Red (VR); (h) Blue Pearl (BP) [2].

Esta especie fue originalmente bautizada por el naturalista sueco Carl Linnaeus como *Vinca rosea*, para posteriormente ser renombrada como *Catharanthus roseus* por el botánico escocés George Don [4]. Es una planta herbácea perenne o anual o un pequeño subarbolito con número cromosómico diploide $2n = 16$. Es originaria de la isla de Madagascar y pertenece a la familia *Apocynaceae* [5]. El género *Catharanthus* incluye ocho especies, de las cuales siete (*C. longifolius*, *C. coriaceus*, *C. roseus*, *C. lanceus*, *C. trichophyllus*, *C. ovalis* y *C. scitulus*) prevalecen en Madagascar y sólo una, *C. pusillus*, es de la India [6]. Se cultiva como planta ornamental en la mayoría de las zonas tropicales y subtropicales [7]. En la India, *C. roseus* se distribuye a lo largo del Himalaya noroccidental y nororiental, los Ghats occidentales, los Ghats orientales, la costa occidental, la costa oriental, la meseta central del Decán y la llanura indogangética. Crece bien en las regiones templadas como planta anual y prospera también con las heladas. Puede sobrevivir en estrés abiótico extremo debido a su

amplia adaptabilidad. Se distribuye en partes de Maharashtra, Gujarat, Madhya Pradesh, Uttar Pradesh, Assam, Bihar, Karnataka, Andhra Pradesh y Tamil Nadu [8].

C. roseus crece en un rango de 80-100 cm de altura, y produce floración a lo largo de todo el año. Debido a su sistema ramificado de raíces pivotantes, se desarrolla bien en la sequía. El tallo subleñoso, erguido, con ramificaciones profusas, de color púrpura oscuro, rosa claro o verde claro en la base [9]. Las hojas son de elíptico-ovadas a oblongas, y suelen encontrarse en un rango de 2.5-9 cm de longitud y 1-3.5 cm de anchura [10]. Muestra hojas anchas, reticuladas, de color verde oscuro y brillantes que se disponen de forma opuesta con un pecíolo corto y un nervio central. Los colores más comunes para la floración son: rosa llamado "*Rosea*" y otro es "*Alba*" con flores blancas. El fruto consiste en un par de folículos alargados, paralelos o divergentes, con 10-30 semillas pequeñas, cilíndricas y oblongas, de color negro [11].

Esta planta se ha utilizado como medicina tradicional en muchos países. La hoja seca o la planta entera se hierve con agua y luego el extracto se toma por vía oral para tratar la diabetes en el noreste de la India, Australia, Inglaterra, Tailandia, Natal, Mozambique, Filipinas, República Dominicana, Jamaica, norte de Europa y Vietnam [12]–[14]. El extracto acuoso de la hoja o la planta entera también es utilizado por los habitantes de las Islas Cook y Vietnam [15], y por los keniatas como terapia complementaria y alternativa para varios tipos de cáncer, incluidos los de garganta, estómago y esófago [16]. En la tabla 1 se muestran algunas de las aplicaciones tradicionales de esta planta:

Tabla 1. Usos tradicionales de *C. roseus* [17].

Parte utilizada	Enfermedad	Preparación	Método de administración	País
Planta completa, hojas	Diabetes	La planta entera se pulveriza y se mezcla con leche de vaca.	Administración oral	Tamil Nadu, India
	Diabetes	La hoja se hierve con agua.	Administración oral	Noreste de India
Hojas	Diabetes mellitus	La hoja seca se somete a una decocción.	Administración oral	Norte de Europa
Hoja de variedades de flor morada o blanca	Diabetes, hipertensión y cáncer	Se hierven dieciocho hojas en una tetera con agua. La solución fría se bebe a diario.	Administración oral	Islas Cook

Planta completa	Garganta, estomago, cáncer de esófago	Se hierve toda la planta con agua.	Administración oral	Kenia
		Se muele la planta y se aplica	Aplicación tópica	
Raíces	Infección urogenital	La raíz se seca al aire, se muele y se hierve.	Administración oral	Sudáfrica
Raíces	Gonorrea	La raíz se hierve durante 20 minutos.	Administración oral	Limpopo, Sudáfrica
Raíces	Estómago	Las raíces trituradas se mezclan con una taza de agua.	Administración oral	Zimbabue
Planta completa	Diabetes, hipertensión, disentería y cáncer	Se hierve toda la planta con agua.	Administración oral	Vietnam

De esta manera, las propiedades terapéuticas de esta planta se han estudiado a fondo para apoyar las afirmaciones de sus valores etnomedicinales y su explotación tradicional como remedio. Durante investigación fitoquímica, se han reportado un total de 344 compuestos, incluidos alcaloides indol-monoterpénicos (MIA) (110), alcaloides bi-indólicos (35), flavonoides (34), ácidos fenólicos (9) y componentes volátiles (156) en los diversos extractos y fracciones de diferentes partes de la planta de *C. roseus*. Los extractos y compuestos aislados de *C. roseus* presentan numerosas actividades farmacológicas, como anticancerígenas/citotóxicas, antidiabéticas, antimicrobianas, antioxidantes y larvicidas [18].

Se ha descubierto que *C. roseus* contiene una serie de alcaloides con actividad anticancerígena, como vinblastina, vincristina, vindolina, vindolidina, vindolicina, vindolinina y vindogentianina [19][20]. Inhiben la proliferación celular mediante el cambio de la dinámica microtubular, lo que induce la apoptosis [17]. De ellos, la vinblastina y la vincristina fueron los primeros agentes anticancerígenos derivados de plantas que se utilizaron clínicamente [21]. El sulfato de vinblastina se ha utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin, el linfoma, el coriocarcinoma, el neuroblastoma, el carcinoma de mama, pulmón y otros órganos en leucemias agudas y crónicas. El sulfato de vincristina, una forma oxidada de la vinblastina, detiene la mitosis en la metafase y es eficaz en el tratamiento de la leucemia aguda (en niños), leucemia linfocítica, enfermedad de Hodgkin, el tumor de Wilkins, neuroblastoma y sarcoma de células reticuladas [22]. Varios estudios han respaldado su efecto anticancerígeno mediante estudios *in vitro* en muchas

líneas celulares [23]. Se ha utilizado en el tratamiento del cáncer testicular, la leucemia, el cáncer colorrectal y el linfoma [24]. En la última década ha aumentado el uso de metabolitos obtenidos de esta planta como medicamentos contra el cáncer, con unos ingresos anuales de 25 a 300 millones de dólares estadounidenses [25].

C. roseus se ha utilizado tradicionalmente como tratamiento para la diabetes en muchas regiones del mundo. Existe evidencia de que el jugo de la hoja de *C. roseus* produce una reducción dependiente de la dosis en la glucosa sanguínea de conejos normales y diabéticos [26]. El extracto metanólico de la planta entera de *C. roseus* mostró una eficaz actividad antihiper glucémica, correlacionada con la mejora del peso corporal, el perfil lipídico y la regeneración de las células β del páncreas en ratas diabéticas [27]. En 2013, Tiong *et al.* [19] investigaron las propiedades antidiabéticas *in vitro* de cuatro alcaloides puros: vindolina, vindolidina, vindolicina y vindolinina aislados de la hoja de *C. roseus* mediante ensayos de captación de glucosa con 2-NBDG e inhibición de PTP-1B, una enzima que regula negativamente la vía de señalización de la insulina. Los resultados corroboran la utilización tradicional de *C. roseus* para el tratamiento de la diabetes y ponen de relieve que *C. roseus* es una fuente potente para seguir explorando agentes antidiabéticos [17].

Se ha encontrado la aplicación de metabolitos extraídos de *C. roseus* para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA). El tratamiento eficaz actual de la EA consiste en aumentar los niveles de acetilcolina (ACh) inhibiendo la acetilcolinesterasa (AChE), una enzima responsable de degradar la ACh en la hendidura sináptica. Se ha demostrado que el extracto acuoso de hoja, tallo y raíz de *C. roseus* inhibe eficazmente la AChE en un microensayo *in vitro* [28]. Además, la serpentina, un alcaloide presente en la hoja, el tallo y la raíz de *C. roseus* [24] mostró una fuerte actividad contra la AChE [29].

Finalmente, otro ejemplo de su posible aplicación se encuentra en la cicatrización de heridas. Se ha demostrado que los extractos etanólicos de la flor y la hoja de *C. roseus* poseen actividad cicatrizante en ratas [30], como resultado de las propiedades astringentes y antimicrobianas de los componentes bioactivos presentes en el extracto de *C. roseus* [31]. En particular, el extracto de hoja favoreció la cicatrización de heridas en ratas diabéticas. Los resultados coincidieron con los de Singh *et al.*, que descubrieron que el extracto metanólico de hoja de *C. roseus* aumentaba significativamente la contracción de la herida en ratones

diabéticos inducidos por estreptozotocina. La actividad cicatrizante de los extractos de *C. roseus* es prometedora para superar la mala cicatrización de las heridas típica de la condición diabética. Pues las personas que padecen esta enfermedad suelen cicatrizar las heridas de forma muy lenta y puede durar semanas.

El inmenso valor comercial y potencial de la planta atrae la atención de la industria farmacéutica para aumentar la capacidad de producción de metabolitos secundarios de la planta [24]. Por eso, resulta muy importante mencionar que la biosíntesis de los metabolitos secundarios de la planta se ve fuertemente afectada por factores bióticos y abióticos. Se ha descubierto que el estrés ambiental estimula la producción de metabolitos secundarios, incluidos los alcaloides, debido a la función protectora de la planta. Por lo tanto, más estudios *in vitro* e *in vivo* se centran en el aumento de las cantidades de estos compuestos mediante el cambio de las condiciones ambientales tales como la luz, la salinidad, los tipos de suelo y nutrientes, la sequía y el estrés por metales.

Misra *et al.* [32] encontraron que la salinidad (100 mM NaCl) estimuló la acumulación de alcaloides indólicos en las hojas y raíces de *C. roseus*. En un estudio por Binder *et al.* [33] se encontró que la luz UV-B estimuló la producción de alcaloides en la raíz vellosa de *C. roseus* debido a la estimulación de la proteína quinasa. Además, se encontró que la biomasa y el rendimiento de alcaloides en el cultivo de suspensión celular de *C. roseus* aumentaban junto con el aumento de nitrógeno total y fosfato a un pH adecuado del medio de cultivo de prueba, porque el nitrógeno es un componente importante de los alcaloides, mientras que el fósforo afecta la síntesis de alcaloides. Los niveles de terpenos aumentaron en las hojas verdes de las plantas de tomillo en respuesta al estrés por sequía [34].

Debido a la importancia farmacéutica de la vinblastina y a sus bajas concentraciones en las plantas, los investigadores de plantas han intentado mejorar la producción de alcaloides de varias maneras, incluyendo diferentes métodos celulares y tecnológicos [35]. Además, se ha integrado un enfoque multidisciplinar global para mejorar la regeneración mediante organogénesis, embriogénesis somática y embriogénesis cigótico [36]. Se ha observado que la producción de vinblastina es muy baja (0,0005%), ya que se desconocen en gran medida los mecanismos que controlan las vías biosintéticas indefinidas de la vinblastina. Se ha

demostrado que la síntesis de metabolitos secundarios está asociada a la organización de la planta y a veces se localiza en un órgano/tejido concreto [2].

Así pues, debido a todo el potencial farmacológico que posee *C. roseus* y a lo susceptible que es a los factores bióticos y abióticos se decidió iniciar un proyecto en el que se buscará comprobar el efecto del tipo de solidificante del medio, así como su concentración en la proliferación de brotes de *C. roseus* sembrados *in vitro*. De la misma manera, se comprobará el efecto de esta modificación del medio en la formación de raíces. Finalmente, se investigará si exponer los explantes a peróxido de hidrógeno en su etapa de aclimatación puede tener un efecto benéfico o perjudicial. El proyecto, a pesar de tener su inicio durante el periodo de verano 2023, aprovechará información obtenida por el estudiante de maestría Guillermo Rosales, quien, a partir de 2022 se ha encontrado trabajando con *C. roseus*.

1.2 Caracterización de la organización

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) es un Centro de Investigación que pertenece a la Coordinación de Medio Ambiente, Salud y Alimentación del Sistema de Centros Públicos de Investigación (CPI) del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (Conahcyt). Desde hace más de 40 años realizan actividades de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación (I+D+i), ofrecen servicios tecnológicos y oportunidades de formación de recursos humanos especializados con programas de posgrado, maestrías y doctorados, además de capacitaciones e iniciación a la investigación, como lo son las estancias y tesis de pregrado [37].

Su propósito es ofrecer soluciones tecnológicas y de capital humano que contribuyan a mejorar la competitividad de los diversos actores sociales en los sectores agropecuario, alimentos y bebidas, salud animal y humana, medio ambiente y energía sustentable. Cuentan con personal experto en cada una de las líneas de investigación del centro, así como infraestructura en laboratorios, plantas piloto e instalaciones especializadas, que se encuentra a la disposición de sus colaboradores a través de los proyectos y servicios tecnológicos con los que se encuentran trabajando [37].

Dichos proyectos tienen la misión de impulsar el desarrollo sostenible de la sociedad, mediante la generación de conocimiento de vanguardia, la formación de talento especializado y aplicación innovadora de ciencia y tecnología. Su visión como organización es fomentar el conocimiento e innovación tecnológica mediante el trabajo multidisciplinario que se lleva en colaboración con otros Centros Públicos, universidades e industria, tanto nacionales como internacionales [37].

El CIATEJ cuenta con una sede principal: Guadalajara, y tres subsedes: Zapopan, Sureste y Noreste. El proyecto que se documenta en este escrito se realizará en la subsele Zapopan, la cual fue inaugurada en agosto de 2015 y se encuentra ubicada en Camino Arenero 1227, El Bajío, Zapopan, Jalisco. Esta subsele cuenta con 3 unidades diferentes: Biotecnología Industrial, Tecnología Alimentaria y Biotecnología Vegetal; siendo esta última la unidad en la que se desarrollará el proyecto. A su vez, esta unidad se encuentra dividida en 4 grandes líneas de investigación: fitopatología, mejoramiento genético vegetal, fisicoquímica y biocompuestos, y micropropagación de especies vegetales; siendo una vez más esta última la sublínea que abarca el proyecto que se desarrollará [37]. A pesar de que por organización la unidad se divide en estas líneas de investigación, existen muchas áreas en las que colaboran unas con otras.

La Unidad de Biotecnología Vegetal, por medio del uso de técnicas para el mejoramiento de variedades de plantas en función de características de interés agrícola y de ornamentación, pretende servir al sector agrícola, agropecuario y agroindustrial, incrementando sus ventajas competitivas e innovadoras en los mercados globales actuales. Esta unidad es capaz de obtener nuevos productos y modificar las características de otros; aumentando su productividad, volumen y resistencia a condiciones adversas generadas por distintos estresores como: virus, hongos, sequías etc. [38]. La sublínea de investigación micropropagación de especies vegetales, se enfoca en el uso de la propagación *in vitro* de especies vegetales como una herramienta muy importante para la producción masiva de plantas de interés comercial [38].

1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

El proceso de propagación común de *Catharanthus roseus* suele implicar algunas desventajas. Las semillas sembradas tardan alrededor de 10 días en germinar y las plántulas están listas para el trasplante, aproximadamente 60 días después, lo cual, dependiendo de la aplicación que se le busque dar, puede resultar en ciclos demasiado largos para la cantidad de planta que se necesita [11]. En algunos casos también se utilizan esquejes de tallo o de punta para la propagación, sin embargo, se corre el riesgo de que la planta sea invadida por algún patógeno [39]. La propagación convencional suele implicar también ciertos inconvenientes para la salud de las semillas, pues suele presentarse baja viabilidad y vigor reducido de las semillas, así como bajo porcentaje de germinación [9]. Además, si se busca conservar una cepa específica, el entrecruzamiento natural, a largo plazo, comenzará a producir variaciones genéticas que pueden afectar a la calidad y cantidad de fitoquímicos deseables [9]. Por lo tanto, para satisfacer las demandas de los valiosos metabolitos secundarios de esta planta, un método de propagación clonal rápida en forma de propagación clonal *in vitro* es un requisito [40].

Desgraciadamente, en iteraciones previas realizadas en CIATEJ, este procedimiento ha generado plántulas que presentan vitrificación en las hojas, así como morfología anormal en las mismas. Este comportamiento suele estar ligado a una excesiva humedad relativa, o a la disponibilidad de agua en el medio de cultivo [41], motivo por el que se intuye que modificar el solidificante del medio, así como su concentración, podría tener un efecto positivo en la generación de la parte aérea de la planta. Esta hipótesis se encuentra también sustentada en el hecho de que un estudiante, durante el periodo de primavera 2023, preparó por error medios de cultivo con una mayor concentración de agar, lo cual generó que las plántulas que fueron propagadas en este, manifestaran hojas aparentemente más sanas.

Por otro lado, el éxito de una micropropagación suele estar determinado por una buena tasa de supervivencia de las plántulas en el suelo, o en macetas, posterior a su etapa de micropropagación *in vitro*, es decir, el éxito o el fracaso está dictado por una adecuada aclimatación [42]. Existen varios procedimientos reportados para *Catharanthus roseus*, como, Zárate *et al.* [43], quienes utilizaron suelo de turba de jardinería para la aclimatación de plántulas y observaron que el porcentaje de supervivencia era de aproximadamente 98%

en condiciones de alta humedad en una cámara de crecimiento. Junaid *et al.* [44] y Aslam *et al.* [36] trasplantaron las plántulas a un sustrato conocido como *Soilrite*, el cual había sido previamente esterilizado, y posteriormente las transfirieron a una mezcla de *Soilrite*: arena (1:1), antes de su transferencia final a suelo normal, lo que resultó en una supervivencia del 100% de las plántulas. A pesar de estos procedimientos existentes, se busca aprovechar un mecanismo de las plantas, por medio del cual, en presencia de peróxido de hidrógeno, se desencadenarán una serie de reacciones que culminan en el cierre de los estomas, lo cual se plantea que tendrá un efecto positivo en la aclimatación de esta planta.

1.4. Planeación de alternativa(s)

Una planta entera puede regenerarse a partir de un tejido u órgano adulto, una masa de callo no organizado o incluso una sola célula en un proceso denominado regeneración vegetal. La regeneración vegetal se refiere a la renovación, reparación o sustitución fisiológica de tejidos en las plantas [45]. Para esto, se busca aprovechar la totipotencia o pluripotencia de las células vegetales, pues esta es la base de la capacidad de regeneración de las plantas. Es importante aclarar, que la totipotencia se refiere a la capacidad de una célula para diferenciarse en un individuo completo, mientras que la pluripotencia implica la diferenciación de un grupo específico de tejidos u órganos a partir de una célula [46]. Existen diferentes métodos para realizar el cultivo de tejido vegetal, sin embargo, este suele dividirse en dos grandes grupos: cultivo de estructuras organizadas y cultivo de células desorganizadas [47] [48]. Para la propagación de *C. roseus* se han empleado distintos mecanismos [49]–[55]. Todos ellos tienen sus ventajas y desventajas, y su uso dependerá del objetivo del proceso, por ejemplo, si se busca favorecer la formación de metabolitos secundarios, o si únicamente se pretende obtener más material vegetal [56].

Como el propósito de este experimento es demostrar el efecto del tipo de solidificante, así como su concentración en la formación de raíces y brotes, se decidió realizar la propagación por medio del cultivo de yemas axilares. Para lograr esto, se plantea diseñar el experimento para posteriormente realizar la preparación de los medios de cultivo propuestos, con ellos se llevará a cabo la proliferación de yemas axilares; esta se dividirá en dos partes, una que estará

enfocada en la formación de brotes y la segunda buscará la rizogénesis. A lo largo de las semanas, se ejecutarán revisiones del avance en el crecimiento de estos explantes, y una vez que estos estén lo suficientemente maduros se llevará a cabo su aclimatación, introduciendo el uso de peróxido de hidrógeno buscando aumentar la tasa de supervivencia, así como acelerar el proceso. Finalmente, con los datos recabados se realizarán análisis estadísticos para comprobar la relación entre las variables alteradas y el desarrollo de *C. roseus*.

Diseño experimental:

El diseño experimental es el proceso de llevar a cabo una investigación de forma objetiva y controlada, de modo que se maximice la precisión y se puedan extraer conclusiones concretas sobre el enunciado de una hipótesis. Generalmente, el propósito es establecer el efecto que un factor o variable independiente tiene sobre una variable dependiente [57]. Se buscará delimitar cuáles serán las variables independientes, los rangos en que estas serán modificadas, así como las repeticiones por experimento. También, se hará una rápida revisión del material disponible.

Proliferación de yemas axilares de C. roseus:

Entre los métodos desarrollados para la micropropagación de plantas, la proliferación de yemas axilares es el más utilizado y también se considera el más adecuado para garantizar la estabilidad genética de las plantas regeneradas obtenidas. Para la propagación clonal *in vitro* rápida de plantas, las yemas axilares normalmente latentes se inducen a crecer en brotes múltiples mediante el uso de reguladores del crecimiento, citoquininas para la activación y brotación de la yema axilar latente y la multiplicación o combinaciones sinérgicas de citocininas y auxinas para la multiplicación de brotes [58]. Para lograr la propagación de yemas axilares se prepararán los medios de cultivo con las concentraciones de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, reguladores de crecimiento, y fuentes de carbono adecuadas para *C. roseus*. Además, se preparan los medios alternando los tipos de solidificantes, así como las concentraciones de estos.

Una vez se tenga listo el material, se analizarán cultivos *in vitro* ya establecidos y disponibles dentro de CIATEJ. Se analizarán los explantes, y se escogerán aquellos que presenten numerosas yemas axilares. Dentro de campana de flujo laminar, y utilizando instrumentos

esterilizados se procederá a realizar la división, y limpieza de las yemas axilares. Se determinará un número de yemas que serán plantadas por cada frasco con medio de cultivo, y se llevarán los frascos sellados a una incubadora que proporcionará las condiciones ideales de iluminación y temperatura.

Se efectuarán revisiones constantes del estado de los distintos tratamientos, buscando la aparición de contaminantes, y registrando su evolución. Pasados los primeros quince días desde la introducción de los explantes, se realizará una revisión a profundidad, en donde se registrará la evolución de las variables de respuesta, como: número de brotes, formación de raíces, altura del explante, salud del explante, y formación de callo.

Aclimatación de explantes:

La transferencia y aclimatación al entorno *ex vitro* es el paso final, pero con frecuencia el más peligroso, de un sistema de micropropagación exitoso. El entorno específico *in vitro*, con un medio artificial normalmente provisto de azúcares, el crecimiento de las plántulas en pequeños recipientes herméticos con una elevada humedad del aire, un bajo intercambio gaseoso y, por tanto, un déficit de CO₂ durante casi todo el fotoperiodo, y la producción de etileno, induce alteraciones en el desarrollo de la planta y en su rendimiento fotosintético. Tras la transferencia de *in vitro* a *ex vitro*, las plantas tienen que corregir las anomalías y aclimatare a los nuevos entornos en el invernadero y el campo [59].

Para lograr una correcta aclimatación es necesario dotar a la planta de todas las condiciones adecuadas para sobrevivir, pero en un menor nivel que cuando se encontraba *in vitro*. Por ello se preparará sustrato con las proporciones adecuadas de material orgánico y mineral, cuidando que este también tenga las propiedades adecuadas para una correcta filtración del agua, una buena acumulación de la humedad, y la porosidad suficiente para que el explante pueda desarrollarse correctamente. Este sustrato se esterilizará para reducir la carga microbiana y se colocará en charolas de germinación con tapas impermeables. Ya que se tenga el material listo, se volverán a seleccionar frascos con cultivos ya establecidos. Se tomarán los explantes y se transferirán a los distintos alveolos de la charola.

Debido a que se busca determinar el efecto del peróxido de hidrógeno en la aclimatación de *C. roseus*, se preparará una charola cuyos explantes serán sumergidos en distintas soluciones de agua oxigenada previo a su introducción en el sustrato. Se preparará una segunda charola cuyos explantes serán plantados sin un tratamiento previo, pero que una vez se encuentren en el sustrato serán asperjados con soluciones distintas de peróxido de hidrógeno. Ambas charolas serán llevadas a un cuarto de aclimatación, que proporcionará las condiciones necesarias de humedad, iluminación y temperatura. Se realizarán constantemente revisiones del estado de los explantes, y se realizarán anotaciones.

Análisis estadístico:

Los métodos estadísticos pueden servir para realizar cualquier combinación de tres posibles tareas. La más común es la comprobación de hipótesis, es decir, determinar si dos (o más) grupos de datos difieren entre sí con un nivel de confianza predeterminado. Una segunda función es la construcción y el uso de modelos que puedan utilizarse para predecir los resultados futuros de las interacciones químico-biológicas. Esto se ve más comúnmente en la regresión lineal o en la derivación de algún tipo de coeficiente de correlación. El ajuste de modelos nos permite relacionar una variable (normalmente un tratamiento o una variable "independiente") con otra. La tercera función, la reducción de la dimensionalidad, sigue siendo menos utilizada que las dos primeras. Esta última categoría incluye métodos para reducir el número de variables de un sistema reduciendo mínimamente la cantidad de información, lo que facilita la visualización y comprensión de un problema [60].

Por ello, se realizará un análisis estadístico que permitirá comprobar o negar la relación entre la salud y calidad de los explantes con el tipo de solidificante y su concentración, así como la supervivencia de las plantas en aclimatación y la concentración de peróxido de hidrógeno a la que se expondrán.

En la tabla 2 se presenta el cronograma de actividades que se realizarán a lo largo del proyecto. Se observa una descripción breve de la actividad, los recursos tanto humanos, como de materiales o de locación que serán necesarios; el tiempo que cada actividad representará, así como las semanas en las que se tiene proyectado realizar cada procedimiento.

Tabla 2. Cronograma de actividades durante el PAP

Nombre de la actividad.	Recursos	Tiempo (días)	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8
Capacitación del uso y técnicas del laboratorio	TC TD SM AC CFL CI MLb BA	5								
Apoyo en actividades del centro de investigación	TC TD SM AC CFL CI MLb BA IV MSb	40								
Diseño experimental	TD BT	2								
Preparación de medios de cultivo para la generación de parte aérea	TP SM AC MLb	1								
Sembrado <i>in vitro</i> de yemas axilares en medio para la generación de parte aérea	TP CR CFL FS MSb CI	1								
Preparación de medios de cultivo para la generación de raíz	TP SM AC MLb	1								
Preparación de sustrato para la aclimatación	TP SM AC MLb	1								
Preparación de soluciones de peróxido de hidrógeno para la aclimatación	TP SM MLb	1								
Sembrado <i>in vitro</i> de yemas axilares en medio para la generación de raíz	TP CR CFL FS MSb CI	1								

Inmersión de explantes <i>in vitro</i> en peróxido de hidrógeno	TP CR SM MLb	1								
Sembrado de plantas en sustrato para aclimatación	TP SM CA CH MLb BA	1								
Aplicación de peróxido de hidrógeno con atomizador a plantas en aclimatación	TP CA CH	20								
Revisión de explantes <i>in vitro</i>	TP CI BT	35								
Conteo de brotes	TP CI BT	2								
Medición de hojas y tamaño de tallo	TP CI BT V	2								
Análisis estadístico	TD EC	3								
Presentación del avance 4 al director	TP EC	1								
Presentación final oral	TP EC	1								

En la tabla 3 se muestran las abreviaturas utilizadas en la tabla 2, así como su significado.

Tabla 3. Abreviaturas de los recursos utilizados en el cronograma de actividades.

Recursos Utilizados	
Abreviatura	Significado
TC	Trabajo colaborativo, con otros compañeros del centro de investigación.
TP	Trabajo personal.
TD	Trabajo con el Dr. Juvencio
SM	Sala de usos múltiples.
AC	Autoclave.
CFL	Campana de flujo laminar.
CI	Cuarto de incubación

CA	Cuarto de aclimatación
IV	Invernadero
FS	Frascos de sembrado
CH	Charolas para aclimatación
MLb	Material de laboratorio (Probetas, vasos de precipitado, micropipetas, etc.)
MSb	Material para el sembrado en campana (Pinzas, bisturí, placa de cristal, etc.)
BT	Bitácora
EC	Equipo de computo
BA	Balanza analítica
V	Vernier
PL	Planta de estudio.

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

Diseño del experimento:

Entre los temas importantes relacionados con el diseño experimental se incluyen la formulación de hipótesis, el control experimental, la especificación de variables independientes y dependientes, la selección y asignación de muestras o participantes a condiciones, la recogida de datos y la selección de pruebas estadísticas válidas [57]. Mediante una medición y un control empíricos exactos y precisos, el diseño experimental aumenta la capacidad del investigador para determinar relaciones causales y establecer conclusiones causales. El diseño experimental, como subconjunto de la investigación científica, es un enfoque de investigación popular y ampliamente utilizado.

La esencia del diseño experimental y quizá la razón más importante por la que los investigadores eligen diseñar y realizar experimentos es la precisión con la que se puede analizar la relación entre variables y hacer que ese análisis sea lo más objetivo posible [61]. De esta manera, el diseño experimental minimiza la ambigüedad e intenta eliminar la confusión. Un verdadero diseño experimental se basa en probar las relaciones entre variables;

en términos generales, se controla una variable, la variable independiente, para medir su efecto sobre otras variables dependientes.

Siguiendo pues, los fundamentos del diseño experimental se procedió a conversar con el Doctor Juvencio con el objetivo de definir cuáles serían las variables dependientes e independientes. Sin embargo, antes de poder establecerlas era necesario conocer que material se encontraría disponible en el laboratorio, es decir, se buscaron los distintos tipos de solidificantes de medio, para poder tomar una decisión. Se encontraron 5 tipos de solidificantes:

- Agar – Agar
- Bacto – Agar
- Phytigel.
- Gelrite.
- Agar de avena.

Una vez se contó con el material, se investigó acerca de su uso en el cultivo de tejidos vegetal. Se encontró que todos menos el agar de avena suelen emplearse para la propagación de plantas [62], [63]. Con esta información se decidió que los solidificantes que se usarían para el experimento, serían: Agar (Sigma-Aldrich®), *Bactoagar* (DIFCO®) y Phytigel (Sigma-Aldrich®). Se descartó el uso del solidificante *Gelrite* debido a su baja disponibilidad, y a su elevado precio. A continuación se investigaron las concentraciones comunes de estos reactivos en los medios de cultivo para plantas. Con esta información fue posible establecer las variaciones que se harían en el experimento. Es importante mencionar que, debido a que la mayoría de los medios para propagación de *C. roseus* suelen hacerse con Agar (Sigma-Aldrich®), las concentraciones base de los otros dos reactivos se obtuvieron de experimentos que utilizan plantas similares, pero solidificantes distintos.

Es importante también mencionar, que, en el diseño del experimento original, únicamente se alternaban entre 3 concentraciones para cada solidificante, sin embargo, a las concentraciones que se habían establecido para el *Bactoagar* (DIFCO®), el medio no gelificó completamente, por lo que se decidieron conservar, pero se agregaron 3 variaciones más en la concentración. En la tabla 4 se presenta el diseño experimental. En esta se presenta el nombre del

solidificante, seguido por la concentración en g/L que se agregó al medio. A continuación se asigna un código para cada uno de los tratamientos, y se presenta las 5 repeticiones que habrá por tratamiento, sumando un total de 60 frascos distintos.

Tabla 4. Diseño experimental: Efecto del tipo de solidificante y su concentración en el desarrollo de *C. roseus*.

Tipo de solidificante	Concentración (g/L)	Código	Frasco (#)
Agar (Sigma-Aldrich®)	8	T1	1
			2
			3
			4
			5
	9	T2	1
			2
			3
			4
			5
	10	T3	1
			2
			3
			4
			5
Phytigel (Sigma-Aldrich®)	2.5	T4	1
			2
			3
			4
			5
	2.75	T5	1
			2
			3
			4
			5
	3	T6	1
			2
			3
			4
			5
	6	T7	1
			2
			3
			4
			5

<i>Bactoagar</i> (DIFCO®)	7	T8	5	4	3	2	1
	8	T9	5	4	3	2	1
	9	T10	5	4	3	2	1
	10	T11	5	4	3	2	1
	11	T12	5	4	3	2	1

De la misma manera, se diseñó el experimento para la aclimatación de *C. roseus* con peróxido de hidrógeno. Debido a que este experimento surge de la hipótesis de que, la presencia del peróxido de hidrógeno en la parte aérea de la planta, ayudará al cierre de los estomas, evitando su deshidratación [64], y de que no existen experimentos que hagan uso de este mecanismo para *C. roseus*, aunado al hecho de que es la primera vez en CIATEJ que se investiga este fenómeno, se establecieron concentraciones arbitrarias de agua oxigenada. De esta manera, dependiendo del éxito o del fracaso de este experimento, se buscarán explorar otras proporciones en el futuro.

La tabla 5 presenta las concentraciones porcentuales de peróxido de hidrógeno en una solución de agua destilada. Se observa también el tiempo de exposición, así como el mecanismo de exposición a las soluciones preparadas. Se estableció que habría 10 plantas para cada tratamiento.

Tabla 5. Diseño experimental: Aclimatación de *C. roseus* con peróxido de hidrógeno

Método de exposición:	Concentración (%)	Tiempo de exposición (min):	Repetición:	Plantas (#)
Inmersión	0.01	2	No	10
	0.05	2	No	10
	0.15	2	No	10
	0.20	2	No	10
	0 (Control)	NA	No	10
Aspersión	0.01	NA	1 vez al día por 1 semana	10
	0.05	NA	1 vez al día por 1 semana	10
	0.15	NA	1 vez al día por 1 semana	10
	0.20	NA	1 vez al día por 1 semana	10
	0 (Control)	NA	No	10

Proliferación de yemas axilares de C. roseus:

a) Preparación de medio Murashige y Skoog

El cultivo de microorganismos en un medio de agar o en muchos otros medios complejos o definidos es una práctica habitual que se realiza desde tiempos muy remotos. En la

naturaleza, el suelo nutre a las plantas y les proporciona los nutrientes básicos para su posterior crecimiento y desarrollo. Además de carbono, hidrógeno y oxígeno, las plantas necesitan grandes cantidades de elementos denominados principales como: [Nitrógeno (N), Potasio (K), Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg) y Azufre (S)] con pequeñas cantidades de elementos menores [Hierro (Fe), Níquel (Ni), Cloro (Cl), Manganeso (Mn), Zinc (Zn), Boro (B), Cobre (Cu) y Molibdeno (Mo)]. Estos 17 elementos son esenciales para el crecimiento sano y vigoroso de las plantas, por lo que forman parte esenciales y de la mayoría de los medios de cultivo de plantas. Sin embargo, algunos otros elementos, como: Cobalto (Co), Aluminio (Al), Sodio (Na) y Yodo (I), también son esenciales para algunas especies [56], [65].

Los medios de cultivo de tejidos vegetales proporcionan agua, minerales, vitaminas, hormonas, reguladores del crecimiento, compuestos orgánicos y otros nutrientes deseables para el posterior crecimiento y desarrollo de células o tejidos en la masa indiferenciada del callo, además de proporcionar un pH deseable al sustrato y actuar como vertedero de metabolitos secundarios [66]. Uno de los medios más usados, y el que se utilizó como base nutricional para los cultivos realizados en este experimento, es el denominado, medio Murashige y Skoog (MS), el cual fue reportado por primera vez en 1962. El medio MS se desarrolló inicialmente para el tabaco y se formuló a partir del análisis mineral del tejido de esta planta. La característica significativa del medio MS es su altísima concentración de nitrato, Potasio y amoníaco. El medio MS es económico en comparación con otros medios como el de White. Favorece la organogénesis y la regeneración de las plantas. Este se utiliza para la micropropagación, el cultivo de órganos, el cultivo de callos y el cultivo de células en suspensión [65], [66].

El medio MS puede adquirirse en múltiples presentaciones, ya sea en polvo o en solución líquida. Debido a que en el laboratorio no se cuenta con ninguna de estas presentaciones, fue necesario preparar una solución stock desde cero, es decir, mezclando todas los componentes individuales, a las concentraciones necesarias. En la tabla 6 se presentan las concentraciones necesarias para preparar 1 y 5 litros de solución stock. Se especifica el segundo volumen pues fue la cantidad que se preparó.

Tabla 6. Solución stock MS

Solución Stock	Concentración (mL/L)	Concentración (mL/L) (5 litros)
Macronutrientes	100	500
Micronutrientes	50	250
CaCl ₂ *2H ₂ O	220	1100
Fe*EDTA	100	500
Vitaminas	100	500

Para preparar esta solución stock de MS se tomó aproximadamente 1 litro de agua destilada la cual fue depositado en una jarra de plástico con una capacidad de 5 litros. Dicha jarra se colocó en agitación sobre una plancha de agitación, y se mezcló utilizando un agitador magnético. Ya colocada la jarra se agregaron todas las soluciones stock presentadas en la tabla 6, en el mismo orden que se ilustra. Una vez todos los volúmenes se incorporaron se tomó una probeta de 1 L y se procedió a medir el volumen que se tenía de solución; se registró, y utilizando la misma probeta se agregó la cantidad necesaria de agua destilada para completar 5 L. Una vez más, se colocó en agitación la solución, y finalmente se dividió en contenedores de plástico, algunos con 100 mL y otros con 800 mL (figura 2). Estos recipientes se introdujeron a un congelador a una temperatura de -20 °C con el objetivo de conservarlos.

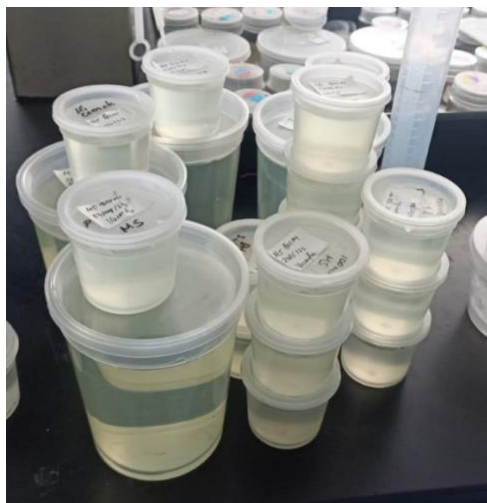


Figura 2. Solución stock de MS dividida para su posterior uso.

A continuación se presenta la composición de la solución stock de macronutrientes (tabla 7), micronutrientes (tabla 8), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (tabla 9), $\text{Fe} \cdot \text{EDTA}$ (tabla 10), vitaminas (tabla 11). Cada una de las soluciones fue preparada en un vaso de precipitado (volumen variable), en agitación sobre una plancha de calentamiento y agitación. Se pesaron todos los componentes y se fueron agregando en el orden presentado por cada tabla. Una vez se mezclaron todos los elementos, y con ayuda de una probeta de 1 litro, se aforaron las soluciones a 1 litro con agua destilada.

Tabla 7. Solución stock de macronutrientes.

Compuesto	Concentración (g/L)
NH_4NO_3	165
KNO_3	190
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37
KH_2PO_4	17

Tabla 8: Solución stock de micronutrientes

Compuesto	Concentración (g/L)
H_3BO_3	1.24
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3.38
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.72
KI	0.166
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.005
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005

Tabla 9. Solución stock de CaCl₂*2H₂O

Compuesto	Concentración (g/L)
CaCl ₂ *2H ₂ O	20

Tabla 10. Solución stock de Fe*EDTA

Compuesto	Concentración (g/L)
Fe*EDTA	2.78
Na ₂ *EDTA	3.73

Tabla 11. Solución stock de vitaminas.

Compuesto	Concentración (mg/L)
Tiamina HCl	10
Piridoxina HCl	50
<i>myo</i> -Inositol	10
Ácido nicotínico	50
Glicina	200

b) Preparación de medio para formación de brotes.

Una vez se preparó el stock de medio MS, fue posible preparar el medio de cultivo para formación de brotes de *C. roseus*. La composición de este se ilustra en la tabla 12. Se puede observar que el medio está compuesto por 100 mL/L de MS como fuente de macro y micronutrientes, vitaminas, y otros metales; sacarosa como principal fuente de carbono, y brasinoesteroides (BA) y ácido naftalenacético (ANA) como reguladores de crecimiento. Los reguladores del crecimiento vegetal estimulan la división celular y, por tanto, regulan el crecimiento y la diferenciación de brotes y raíces en explantes y embriones en cultivos semisólidos o en medio líquido [67]. En 1957, Skoog y Miller demostraron que el destino del desarrollo del tejido regenerado de la médula del tabaco en cultivo podía ser dirigido por las hormonas vegetales citoquinina y auxina [68]. Concentraciones elevadas de citoquinina en relación con la auxina producían brotes, mientras que se formaban raíces cuando se invertían las proporciones. El callo se formó a concentraciones hormonales óptimas para el crecimiento del callo, pero no para la formación de brotes o raíces. La suplementación de reguladores de crecimiento para plantas o PGRs por sus siglas en inglés, en varios cultivos conduce a la expresión de diferentes genes (factores de transcripción) que regulan aún más las diferentes fases de desarrollo (regeneración de brotes, raíces o callos a partir de explantes de raíz) en las plantas [69].

En el caso de esta formulación, se suplementa BA pues fomenta la germinación, participa en la inhibición del crecimiento y desarrollo de las raíces y fomenta la diferenciación del xilema. Por otro lado, se agrega ANA pues ayuda en la formación de brotes adventicios, promueve la división celular, fomenta la formación y crecimiento de callos y también ayuda en la inhibición de la elongación radicular [65].

Tabla 12: Medio para formación de brotes de *C. roseus*

Compuesto	Concentración
Medio MS	100 mL/L
Sacarosa	30 g/L
BA	2,5 mg/L
ANA	0.1 mg/L
Agente solidificante	Tabla 4

Se prepararon 3 litros de medio de cultivo. Para ello, se tomó un recipiente con una capacidad de 4 litros, y se vertió 1 litro de agua destilada. Se colocó el recipiente en una plancha de agitación y se le colocó un agitador magnético. Se tomaron 3 botes de 100 mL previamente preparados con concentrado de MS y se descongelaron en baño María. Una vez estos se encontraron en forma líquida se agregaron al recipiente y se dejó que todo se homogenizara. En una balanza granataria se pesaron 90 g de sacarosa y se agregaron al recipiente en agitación. Una vez toda la sacarosa se encontraba disuelta, y con ayuda de una micropipeta con capacidad de 200-100 μ L, se agregaron 6000 μ L de BA, y 300 μ L de ANA. Se dejó que todo se homogenizara y se retiró el recipiente de la agitación. Con ayuda de una probeta de 2 litros se comprobó el volumen final de solución dentro del recipiente. Se anotó dicho volumen y se agregó la cantidad necesaria de agua destilada para obtener los 3 litros de medio deseados. Se regresó todo el volumen al recipiente y se volvió a colocar en agitación. Finalmente con ayuda de un potenciómetro previamente calibrado se realizó una medición de pH. Utilizando HCl 1M e NaOH 1N se ajustó para alcanzar un pH final de 5.8 ± 0.02 .

Por otro lado, se pesaron todas las cantidades de solidificante definidas en la tabla 4. Estas se colocaron en matraces de 500 mL (figura 3) a la espera de agregar la solución líquida. Es importante aclarar que el solidificante no puede incorporarse previo al ajuste de pH pues la gelificación podría dañar el potenciómetro, por ello, es el último componente que debe añadirse. Con ayuda de la probeta de 2 litros se dividió el medio de cultivo en los 12 matraces, agregando a cada uno 250 mL.



Figura 3. Matraces con solidificante

Una vez los matraces estuvieron preparados, se procedió a recolectar los frascos de cultivo necesarios para este experimento. De acuerdo al diseño experimental de la tabla 4, serían necesarios 60 frascos de cultivo, y sus tapas correspondientes. Ya con todo el material preparado se decidió precalentar el autoclave que sería necesario para la esterilización del medio de cultivo preparado. Este se precalentó, pues tanto el Phytigel (Sigma-Aldrich ®), como el *Bactoagar* (DIFCO) poseen poca elasticidad. Esto implica que, si el medio gelifica una vez, previo a ser esterilizado, y es posteriormente sometido a las altas temperaturas del autoclave; al quererlo gelificar por segunda vez, este habrá perdido muchas de sus propiedades, resultando en un medio casi líquido. Por ello, se precalienta el autoclave hasta alcanzar una temperatura aproximada de 80 °C, y conforme se va repartiendo el medio en los distintos frascos de cultivo, estos se irán ingresando, evitando así el enfriamiento del medio, y por ende su gelificación temprana.

Previo a la distribución del medio de cultivo en los distintos frascos, es importante realizar un paso coloquialmente conocido como “licuar” el medio. Esto requiere que se ingresen al microondas los distintos matraces con medio de cultivo y con el solidificante agregado. Este será encendido y se dejará correr hasta el medio comience a hervir, cuidando que las burbujas que se generan no se desborden del recipiente. Una vez se observen los primeros hervores, se detendrá el microondas y con ayuda de un guante térmico se agitará el matraz, esto con el objetivo de homogenizar el solidificante en toda la solución, pues a temperatura ambiente esto resulta imposible. Este proceso de hervir y agitar se repite 3 veces. Ya que el solidificante se encuentre completamente disuelto se comenzará a verter el medio en los distintos frascos de cultivo, buscando agregar aproximadamente 50 mL a cada recipiente. Una vez se terminó el llenado, se colocaron las tapas de los frascos, cuidando que estas no quedaran herméticas, y se introdujeron al autoclave. Este proceso se repitió para cada uno de los frascos. Ya que todos los recipientes se encontraron dentro del autoclave, esta se programó para que realizara una ciclo de esterilización de 15 minutos a 121 °C (figura 4).



Figura 4. Autoclave programada para esterilización.

Terminado el ciclo, se retiraron los frascos del autoclave, y utilizando papel *Kleen Pack* se sellaron las tapas, y se acomodaron los frascos en las charolas con las que serían transportados a las campanas de flujo laminar (figura 5)



Figura 5: Frascos con medio de cultivo.

c) Preparación de medio para formación de raíces.

En la tabla 13 se presenta la composición del medio de cultivo para enraizamiento. La única diferencia que hay con el medio previamente presentado, son los PGRs, pues para esta segunda formulación se incorpora el uso de ácido indolacético (AIA). El AIA parece mediar en el crecimiento asimétrico de raíces y brotes por su efecto sobre el aflojamiento de la pared en las células epidérmicas (o periféricas), que se cree que regulan la tasa de crecimiento de la extensión en los órganos axiales [70]. Con este regulador, se busca favorecer la formación de raíces.

Tabla 13. Medio para formación de raíces de *C. roseus*

Compuesto	Concentración
Medio MS	100 mL/L
Sacarosa	30 g/L
AIA	2 mg/L
Agente solidificante	Tabla 4

Para la preparación de estos frascos, se siguió el mismo procedimiento que en la sección anterior, con la diferencia de que se omitió la implementación de ANA y BA, y se sustituyeron por AIA. Los matraces preparados (figura 6) y los frascos con medio (figura 7) se muestran a continuación.

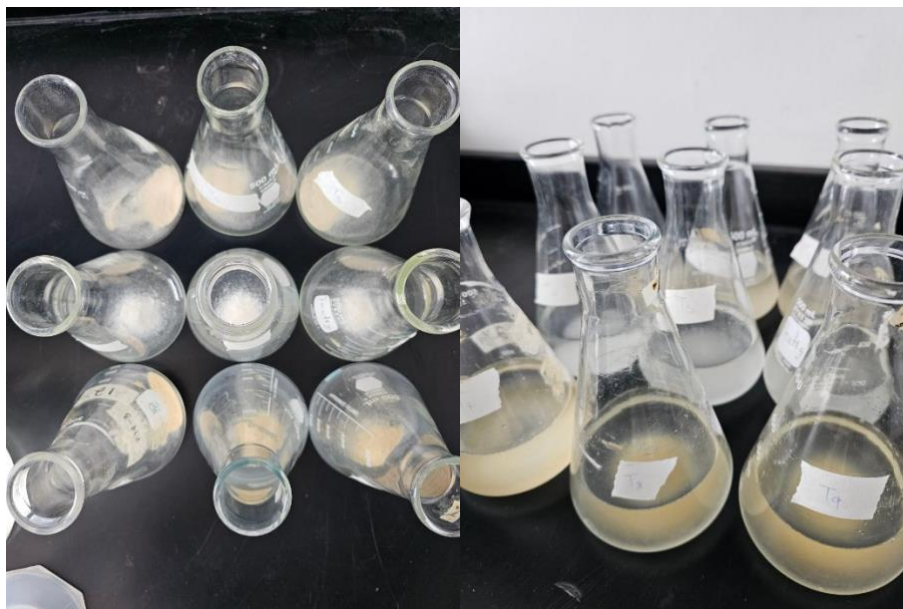


Figura 6. Matraces con medio para enraizamiento.

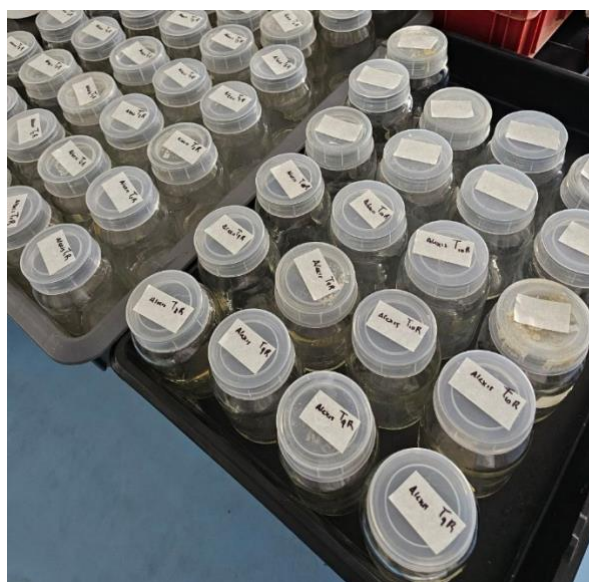


Figura 7. Frascos con medio para enraizamiento

c) *Sembrado de yemas axilares de C. roseus.*

Para llevar a cabo la propagación de yemas axilares se seleccionaron frascos de cultivo con explantes previamente establecidos de *C. roseus* (figura 8). Estos se seleccionaron en función de estimar la presencia de múltiples nodos axilares. Además, se favoreció el uso de frascos que tuvieron más de dos meses de ser plantados, pues de no presentar contaminación, pueden considerarse estériles. Ya con el material vegetal listo, se esterilizaron en el autoclave pinzas para cultivo, un mango de bisturí y una placa de aluminio. Mientras el material salía de la esterilización, se preparó la campana de flujo laminar limpiando todo con alcohol al 70% y se encendió la luz UV durante 20 min.



Figura 8. Frascos seleccionados para la propagación.

Pasado el tiempo, se introdujo el material estéril, así como los frascos de cultivo, y los frascos con el material vegetal a propagar. Se encendió el mechero de alcohol, se vertió alcohol al 96% sobre el mango del bisturí, las pinzas y la placa, y se flameo para terminar de garantizar la esterilidad de los materiales. Todo el material se observa en la figura 9.

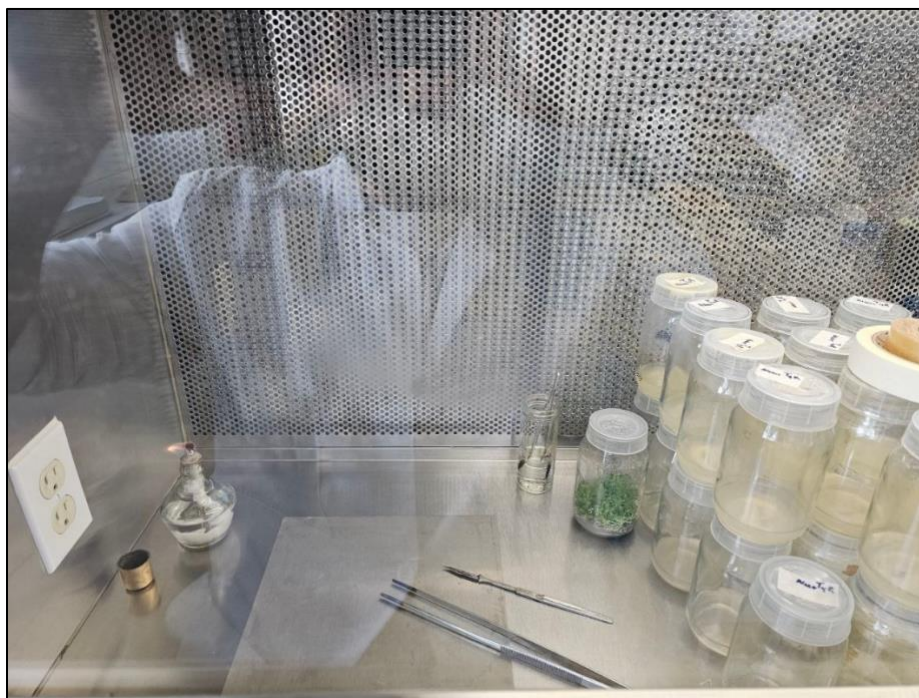


Figura 9. Zona de trabajo para la propagación de *C. roseus*.

Una vez flameado el equipo este se dejó enfriar con el objetivo de no dañar a las plantas con las que se trabajaría. Una vez las pinzas pudieron ser tomadas sin que estas quemaran se procedió a extraer uno de los explantes. Y se colocó sobre la placa (figura 10). Con cuidado, y utilizando las pinzas y el bisturí se retiraron todas las hojas del explante, y se dividieron entre las múltiples yemas axilares. Estas se tomaron teniendo cuidado de no dañar el tejido, y se introdujeron en el medio de cultivo (figura 11). Se colocaron 2 yemas axilares por frasco.



Figura 11. Explante de *C. roseus*



Figura 10. Yemas en medio de cultivo

Este proceso se repitió para los 120 frascos. Una vez todas las yemas se sembraron en el medio de cultivo, se sellaron los frascos utilizando *Kleen Pack*. Finalmente, los frascos fueron transportados a un cuarto de incubación, en dónde se mantuvieron con condiciones de 16 horas de iluminación y 27 ± 2 °C de temperatura (figura 12)



Figura 12. Frascos en cuarto de incubación.

Es importante mencionar que los frascos que contienen medio para enraizamiento no fueron sembrados hasta 2 semanas después que los que contienen medio para la propagación de brotes.

c) Revisión de frascos.

Se realizaron revisiones cada 2 días de los frascos sembrados, en búsqueda de contaminación o de algún comportamiento anormal. Pasados los primeros 15 días de crecimiento, y a los 30 días del inicio de la propagación, se llevaron a cabo revisiones más extensa de los tratamientos que promovían la formación de brotes. Para ello se asignaron números a cada uno de los frascos de los distintos tratamientos, y se colocó una distinción para cada uno de los dos explantes que se encontraban en cada frasco. En esta evaluación se realizó un conteo de hojas, se estimó la altura del explante, se identificó si el explante aparentaba buena salud, y si se había presentado formación de callo. Para estos dos últimos se utiliza el código de “1” como respuesta afirmativa y “0” como negativa. Para poder considerar una hoja como

“válida” para el conteo, esta debía tener un largo mayor a 2 mm. En caso de que esto no se cumpliera, se consideraba como que el explante no había desarrollado hojas adultas. En la tabla 14 se ilustra el formato utilizado para esta revisión, donde “Tn” representa el tratamiento “n”, donde este valor puede ir de 1 a 12.

Tabla 14. Revisión de frascos (Formación de brotes).

Tratamiento	Frasco (#)	Número de hojas		Altura aproximada (cm)		Formación de callo		Vive o muere	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Tn	1								
	2								
	3								
	4								
	5								

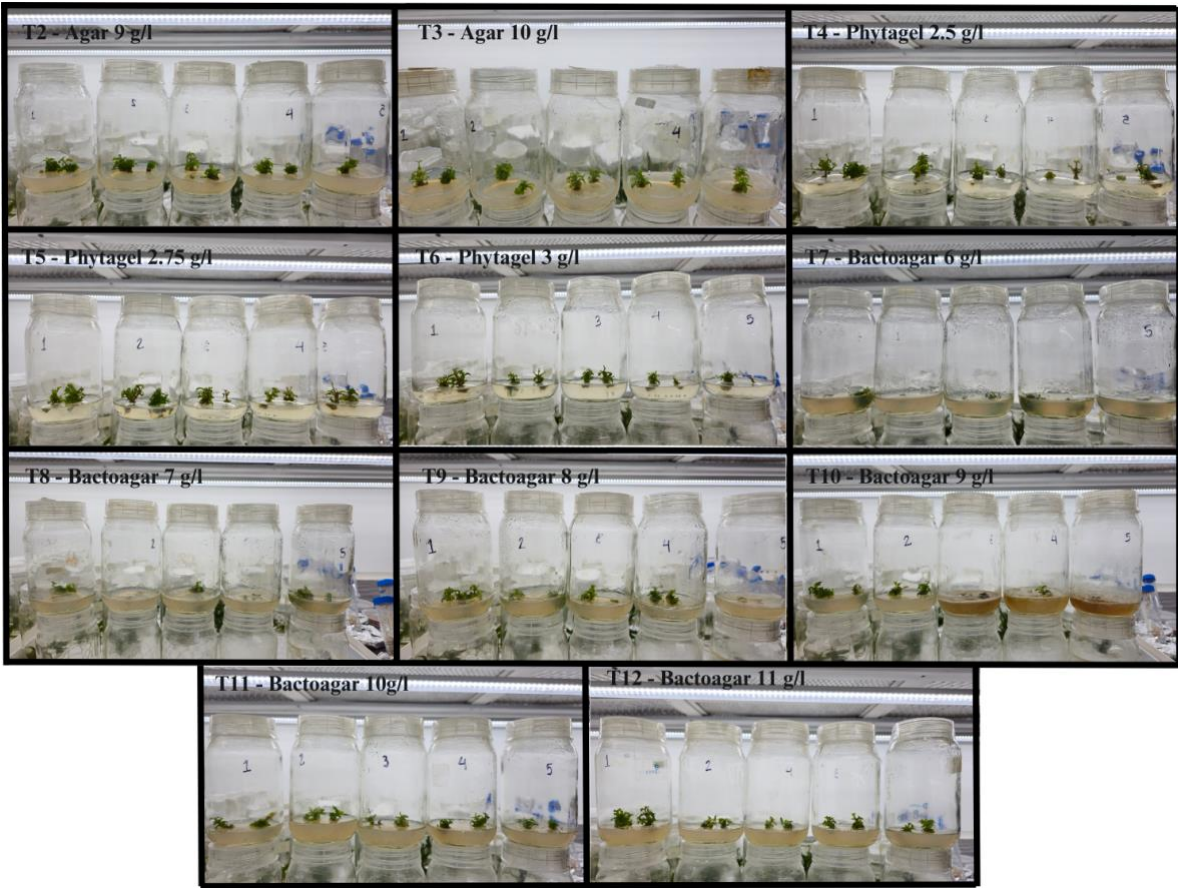


Figura 13. Revisión de frascos para la formación de brotes de *C. roseus*.

Este proceso se repitió en los frascos con medio para la formación de raíz, sin embargo, debido a que estos explantes fueron sembrados 15 días después que los anteriormente reportados, la revisión fue más limitada, y solo pudo realizarse en una ocasión. Para esta

revisión únicamente se reportó: formación de callo, estado de salud y número de raíces formadas. El formato de la tabla utilizada se observa a continuación.

Tabla 15. Revisión de frascos (Formación de raíz).

Tratamiento	Frasco (#)	Número de raíces		Formación de callo		Vive o muere	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2
Tn	1						
	2						
	3						
	4						
	5						

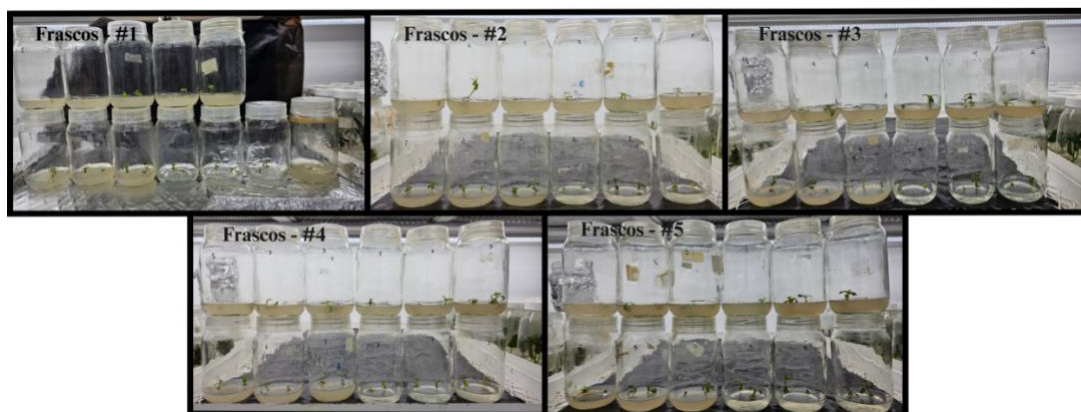


Figura 14. Revisión de frascos para la formación de raíces de *C. roseus*.

Para la segunda revisión de los frascos para formación de brotes, se introdujeron pruebas de carácter destructivo, es decir, los explantes se extrajeron de los frascos de cultivo y se manipularon fuera de campana de flujo laminar. Estas pruebas solo se realizaron para 2 frascos de cada uno de los 12 tratamientos; estos se seleccionaron buscando aquellos explantes que fueran más representativos de lo observado en su respectivo tratamiento. Los parámetros que se obtuvieron se presentan en la tabla 16. Se obtuvo la masa para cada uno de los explantes (Figura 17), y con ayuda de un Vernier se midió el grosor del tallo; y el largo y ancho de sus hojas (Figura 16). Además, se realizó una memoria fotográfica de los distintos tratamientos (Figura 15).

Tabla 16. Revisión destructiva de frascos para la formación de brotes de *C. roseus*.

Tratamiento	Frasco (#)	Masa (g)		Grosor del tallo (mm)		Largo de hoja (mm)		Ancho de hoja (mm)	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Tn	1								
	2								



Figura 17. Pesaje de explantes



Figura 15. Memoria fotográfica de explantes



Figura 16. Medición de explantes

Aclimatación con peróxido de hidrógeno:

Los estomas son estructuras porosas especializadas formadas por dos células protectoras que rodean un poro. Los estomas están presentes en la parte aérea de las plantas, y su función es mediar el intercambio de gases y vapor de agua entre las plantas y la atmósfera. Intervienen en la absorción de CO₂ para apoyar la fijación fotosintética del carbono y regular la tasa de transpiración para controlar el estado hídrico de la planta [71]. El poro estomático es también un importante punto de entrada para los patógenos de las plantas [72]. El movimiento está regulado por las células protectoras a través de complejas vías de señalización molecular que modifican la turgencia y el volumen de las células protectoras, ajustando así con precisión el tamaño de los poros estomáticos. Cuando se estimula el estrés, la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en los apoplastos y su acumulación en las células protectoras son factores determinantes para el cierre estomático. Los mecanismos reguladores de la producción y el transporte de H₂O₂ en los estomas durante la interacción planta-patógeno y la respuesta al estrés por sequía son importantes campos de investigación. En concreto, la regulación de las oxidasas NADPH y las acuaporinas parece ser crucial en el cierre estomático controlado por el H₂O₂ [73].

Buscando imitar la acumulación de peróxido de hidrógeno en las células protectoras, se diseñó un protocolo de aclimatación que se aprovecharía de este mecanismo para evitar tanto la deshidratación de los explantes de *C. roseus* así como su contaminación por algún tipo de patógeno. El diseño experimental se observa en la tabla 5; ahí se aprecia que el experimento se dividió en dos grandes grupos: para el primero, se realizó una única aplicación de peróxido de hidrógeno durante el sembrado de los explantes en sustrato, y para el segundo, se realizaron aplicaciones diarias de las distintas soluciones de peróxido de hidrógeno y agua, con ayuda de un atomizador. Esto se observa en las figuras 18, 19 y 20.



Figura 18. Inmersión de explantes en H_2O_2 (Segunda aclimatación)



Figura 19. Inmersión de explantes en H_2O_2 (Primera aclimatación)



Figura 20. Aspersión de explantes en aclimatación con solución de H_2O_2

Se prepararon 300 mL de cada una de las distintas soluciones de peróxido de hidrógeno, partiendo de una solución madre de H_2O_2 al 3%. La composición de estas disoluciones se muestran en la tabla 17.

Tabla 17. Preparación de 300 mL de soluciones de peróxido de hidrógeno.

Concentración (%)	Solución de H_2O_2 al 3% (mL)	Agua destilada (mL)
0.01	1	299
0.05	5	295
0.15	15	285
0.20	20	280

Para realizar la aclimatación fue necesario prepara el sustrato adecuado. Inicialmente se siguió la formulación mostrada en la tabla 18, sin embargo, debido a su elevada carga orgánica, se favoreció el crecimiento de una especie de hongo patógeno, el cual infectó a la mayoría de los explantes, culminando con su muerte. Debido a esto, se decidió preparar un segundo sustrato, su composición se observa en la tabla 19. Este segundo sustrato se compone únicamente por un tipo de piedra conocido como “perlita”, este tiene la capacidad de retener de manera adecuada la humedad, y debido a su origen mineral, la carga microbiana y fúngica son mínimas.

Tabla 18. Composición de sustrato para aclimatación (Primera aclimatación)

Compuesto	Porcentaje (%)
Turba	40
Vermiculita	40
Tierra de hoja	20

Tabla 19. Composición de sustrato para aclimatación (Segunda aclimatación)

Compuesto	Porcentaje (%)
Perlita	100

Una vez se tuvieron todos los componentes del sustrato mezclados, y almacenados en una caja de metal, se procedió a humedecerlo y a introducirlo al autoclave, con el objetivo de minimizar la carga de microorganismos que pudieran resultar antagónicos (como lo fueron

los hongos patógenos) (Figura 21). Se esterilizaron ambos sustratos durante 15 minutos a 121 °C. Una vez terminó el tiempo, se retiraron del autoclave, y se dejaron enfriar.



Figura 21. Sustrato en autoclave.

Una vez el sustrato se encontró a temperatura ambiente se distribuyó en los distintos alveolos de una charola de germinación de 5 x 10 pocillos (Figura 23). De la incubadora se tomaron frascos que tuvieron un periodo mínimo de 3 meses de crecimiento. Se extrajeron los explantes, se enjuagaron con agua de la llave, y se cortó el callo a los que lo tuvieran. Se separaron los brotes para tenerlos de forma individualizada y se dejaron reposando en agua para evitar la deshidratación (Figura 22). Se tomaron 10 explantes por cada una de las distintas concentraciones de H_2O_2 y aquellos que serían inmersos se dejaron sumergiendo durante 2 min. en su respectiva solución. Una vez pasado el tiempo se retiraron de la solución, se les agregó “*Rooting*” el cual es un enraizante, y se introdujeron al sustrato. Para el segundo intento de aclimatación se omitió el uso de enraizante.



Figura 23. Charola de aclimatación.



Figura 22. Proceso de sembrado

Finalmente, se etiquetaron las charolas y se introdujeron al cuarto de aclimatación, el cual tiene una temperatura establecida de 27 ± 2 °C, y debido al riego constante del resto de las plantas almacenadas, conserva una humedad relativa alta (Figura 24).



Figura 24. Cuarto de aclimatación.

Análisis estadísticos:

La estadística y el diseño experimental son herramientas importantes para el biotecnólogo vegetal y deben utilizarse al planificar y realizar experimentos, así como durante el análisis y la interpretación de los resultados [74]. La mayoría de los proyectos de investigación se inician para resolver un problema. Para ello, se planifican y diseñan experimentos con la esperanza de encontrar algún tratamiento que resuelva el problema. Los investigadores utilizan un enfoque lógico y gradual para la resolución de problemas. Se examina la bibliografía publicada para adquirir conocimientos de experiencias anteriores y se aplica lo aprendido para formular una hipótesis. Se desarrollan objetivos experimentales que puedan probarse objetivamente y se recopilan datos a partir de las observaciones realizadas durante la experimentación. Por último, se analizan y evalúan los datos para determinar la eficacia de cada tratamiento en la corrección del problema. Es posible realizar fácilmente mediciones de células y tejidos vegetales, calcular y clasificar matemáticamente las medias de las variables de los tratamientos probados. Sin embargo, el simple cálculo de medias no tiene en cuenta la variación presente entre los especímenes que reciben los tratamientos y no examina

con precisión la eficacia del tratamiento. Por este motivo, al evaluar los datos debe recurrirse a la estadística [75].

Pocos investigadores realizan los análisis estadísticos a mano o utilizan una calculadora. En su lugar, la mayoría de los científicos optan por utilizar un paquete de software estadístico compatible con su computadora. Existen varios paquetes de software compatibles con Windows para los procedimientos de análisis estadístico como: los disponibles de SAS, SPSS, SYSTAT, MINITAB, STATISTX y el utilizado en este reporte STATGRAPHICS. Todos los programas de software pueden utilizarse para llevar a cabo eficazmente los procedimientos de análisis de datos utilizados para los datos de cultivo de células y tejidos vegetales y de biología molecular vegetal [74]. Utilizando el software de análisis estadístico STATGRAPHICS se realizaron distintos ANOVAS, comprobando la interacción entre la variables independiente: tipo de solidificante y concentración de solidificantes; y las variables dependientes: masa del explante, grosor del tallo, ancho y largo de la hoja, altura del explante. Por medio de este análisis se buscó encontrar la significancia estadística entre la interacción de estos elementos.

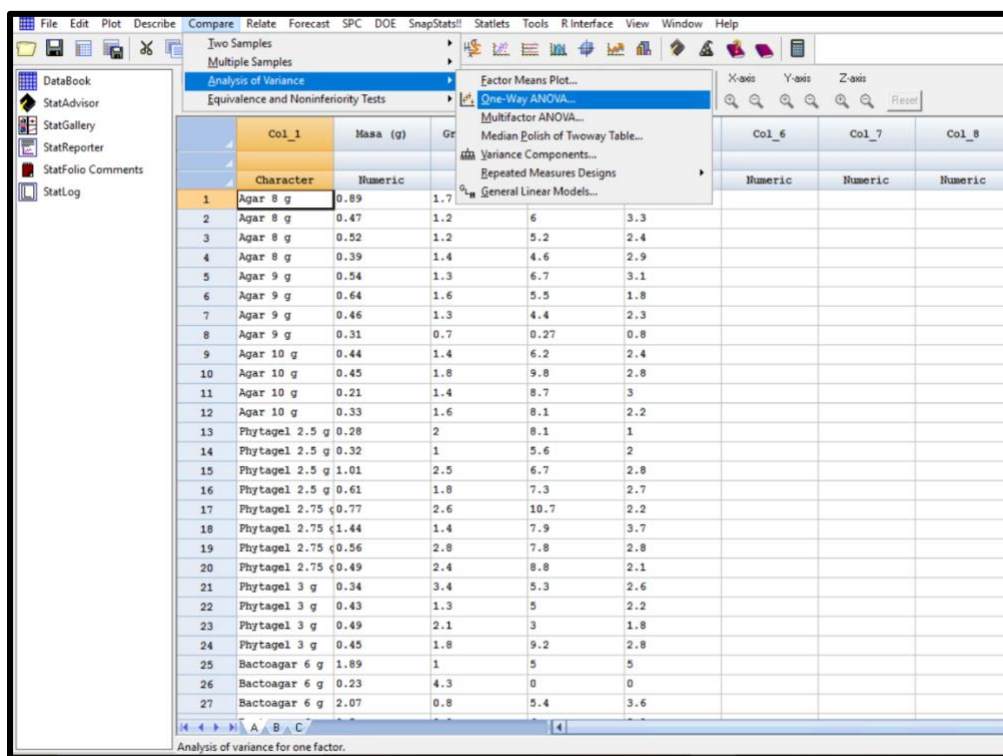


Figura 25. Análisis de varianza de un factor en STATGRAPHICS

Resultados:

Proliferación de yemas axilares en medio para la formación de brotes:

En la figura 26 se presenta la compilación de fotografías de los explantes más representativos de cada uno de los 12 medios para la formación de brotes después de 31 días de crecimiento. A simple vista se observan diferencias morfológicas entre todos los tratamientos. El denominado T1, y el que fue considerado como control, sigue el comportamiento conocido de crecimiento de *C. roseus* en medio semisólido, es decir, formación de callo dentro del medio de cultivo, entrenudos medianos, hojas medianas, y formación de biomasa moderada, esto tiene congruencia con lo reportado por Mujib *et al.* [76]. T2 presenta explantes con un acortamiento en la longitud del tallo, y se observan hojas ligeramente más alargadas y anchas; este también generó callo de tamaño considerable. T3 por el contrario, presenta explantes más alargados que los vistos en el T1, el grosor del tallo también es mayor, y la mayoría de sus hojas son alargadas y delgadas, .

El *Phytigel*® es un gelificante que presenta una rigidez mayor a la del agar, a concentraciones menores. Los explantes propagados en *Phytigel*® a una concentración de 2.5 g/L presentan una morfología más alargada que las observadas en los tratamientos T1 y T2, y similar a la vista en T3 . Manifiesta hojas con un alargamiento similar a las del T3, y se observa la aparición del fenómeno de vitrificación. El ancho del tallo también resulta similar al de las plantas del T3. Los explantes propagados en el denominado T5 muestran aún más un alargamiento de los entrenudos, ensanchamiento del tallo, una tonalidad más oscura de este último, y alargamiento de las hojas . También se observa una menor formación de brotes. Las plantas propagadas en el T6 presentan un acortamiento similar al presenciado entre el T1 al T2. Se observa una mayor aparición de hojas, pero de menor tamaño, y se reduce el grosor del tallo.

Por otro lado, los medios que contienen agar bacteriológico, o *Bactoagar*® resultan ser medios que requieren una concentración mayor a la del Agar para alcanzar una rigidez similar. Por esta razón, los medios identificados como T7, T8 y T9 presentaron una composición semilíquida. Los explantes propagados en estos medios, manifiestan una morfología completamente distinta a la de todos los demás tratamientos, pues debido a la enorme disponibilidad de agua en el medio, se favoreció la formación de biomasa, más que

otros procesos. Estos explantes, desaparecen casi por completo la formación de entrenudos, generando así tallos con un grosor menor a 1.5 mm. La morfología de las hojas también cambia, pues estas resultan más cortas y anchas que las vistas en los tratamiento T1 a T6. Para estos tratamientos, la cantidad de explantes que se desarrollaron de manera satisfactoria también fue inferior a la del resto de tratamientos. Finalmente, a partir del T10 la forma de los explantes comienza a asemejarse más a la vista en las plantas crecidas con agar. Se comienza a apreciar la aparición de un tallo, y se alargan los entrenudos. Las hojas de los explantes del T10 y T11 mantienen una geometría similar a la vista en los tratamientos T7, T8 y T9, es decir, son hojas cortas y anchas. Para el T12 estas comienzan a alargarse.



Figura 26. Explantes propagados en medio para la formación de brotes.

La morfología de las hojas es más fácilmente apreciable en la figura 27. En esta figura es más sencillo apreciar el alargamiento entre las plantas propagadas siguiendo el T1, y aquellas del T3. También se observa este fenómeno para las plantas pertenecientes a los tratamientos

del 4 al 6. Finalmente se observa como se mantuvo relativamente constante la morfología en las hojas de las plántulas de los medios en los que se utilizó *Bactoagar*®.

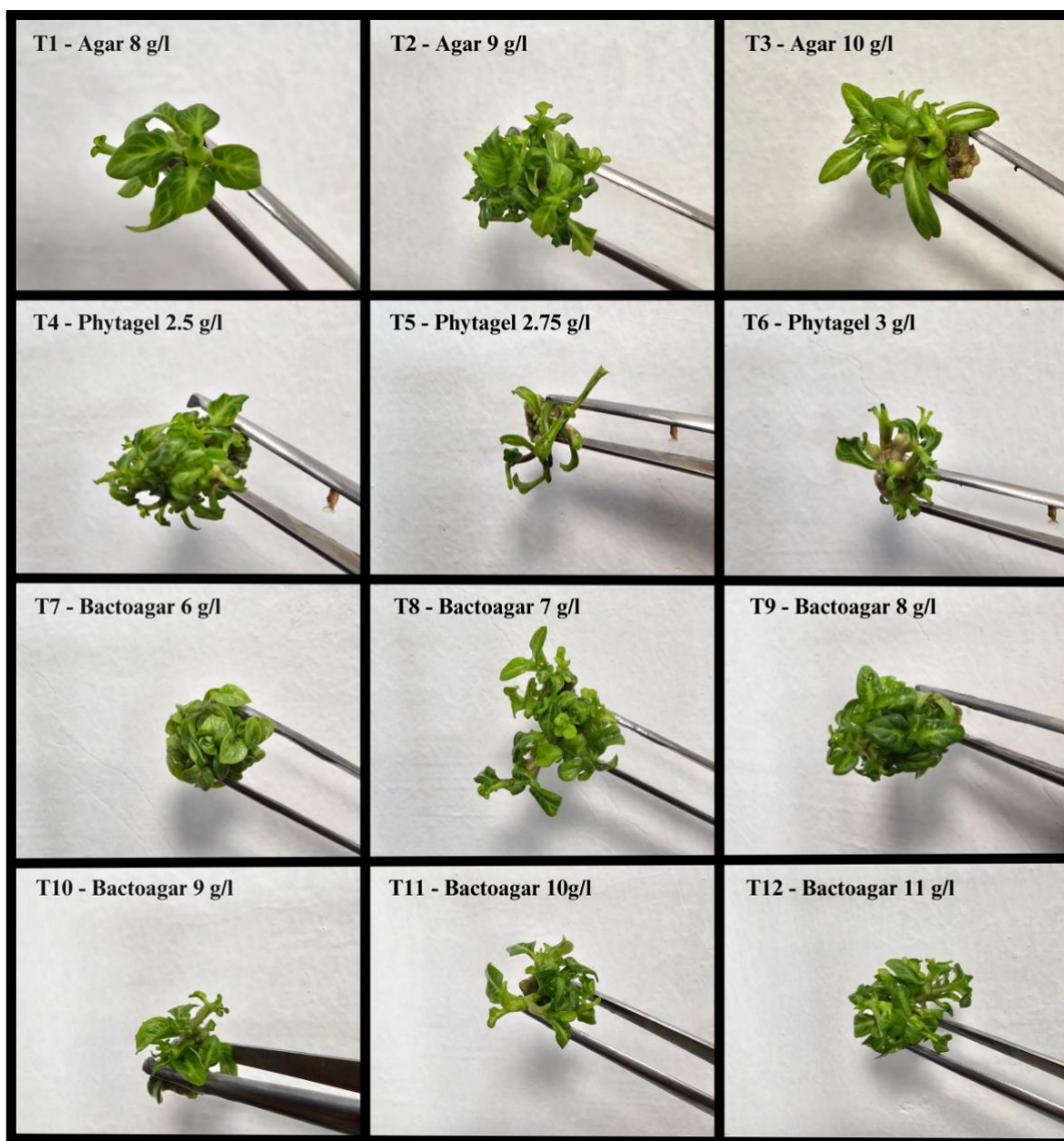


Figura 27. Comparación de la morfología de las hojas en los distintos tratamientos.

Para comprobar el efecto de los distintos tratamientos en el crecimiento de los explantes se realizaron múltiples análisis de varianza. En la tabla 20 se ilustran los P-Value de los distintos análisis. Para considerarse estadísticamente significativo se debe cumplir que $P\text{-Value} < 0.05$. Que la relación entre el tratamiento y la variable dependiente sea estadísticamente

significativa, implica que hay un efecto directo del tratamiento sobre la variable de respuesta, es decir que, las variaciones en la variable de respuesta no son producto de la aleatoriedad.

De esta manera, se observa que la altura, el grosor del tallo y el ancho de las hojas si mantienen una relación estadísticamente significativa con el tratamiento utilizado. Por otro lado, ni la masa del explante, ni el número de brotes, ni el largo de las hojas tienen una relación estadísticamente significativa con la variable independiente. A pesar de que no es posible garantizar la significancia estadística de estos parámetros, si resulta posible analizar las tendencias en el comportamiento de todas las variables dependientes, lo cual permite tener una idea, de cuál sería el comportamiento esperado de una de estas variables en función del tipo y la concentración de un determinado solidificante.

En la figura 28, se observa que, en consonancia con lo que se observó en la figura 26; la altura del explante se verá positivamente afectada por un medio con una mayor rigidez. De esta manera el *Phytigel*® será el medio que promueva un mayor alargamiento en los entrenudos, esto resulta congruente con lo reportado por Yildiz M *et al.* [77] y Abdalla *et al* [78], estos autores reportan que, en medios con una mayor rigidez, la disponibilidad de agua es menor, y por lo tanto, el acceso a nutrientes también se ve reducido. Esto provocará una menor regeneración de brotes, y un aumento en la producción de células de tallo. Por otro lado, Martínez *et al.* reportaron el fenómeno contrario en la propagación de *Vanilla planifolia* [79].

En la figura 29, se observa también una tendencia a ensanchar el tallo en los medios con mayor rigidez. Pues se observa este fenómeno en los explantes propagados en medio con *Bactoagar* a concentraciones de 10 y 11 g/L, y en todos los tratamientos realizados con *Phytigel*®. En la figura 30, a pesar de que no puede afirmarse un impacto estadísticamente significativo del solidificante en la formación de biomasa, sí es posible apreciar una tendencia. Se observa que los medios con una composición semilíquida, como lo son aquellos con *Bactoagar* a concentraciones de 6 a 8 g/L son aquellos que tienden a generar explantes más pesados. Esto ya se tiene claro por múltiples investigadores, pues varios protocolos para la producción de vinblastina promueven la propagación de *C. roseus* en medio líquido debido al aumento en la producción de biomasa [35], [76], [80], [81].

En la figura 31, no es tan sencillo observar una tendencia en cuanto al número de brotes generados en los distintos medios de cultivo. Esto puede tener múltiples explicaciones, como por ejemplo, debido a que la evaluación se realizó pasado únicamente un mes de crecimiento de los explantes, muchos de ellos aún no desarrollaban hojas lo suficientemente adultas como para considerarlas dentro del estándar antes mencionado, esto podría sesgar la interpretación, pues, a pesar de que en la figura 26, se aprecia que aquellos explantes crecidos en *Bactoagar* a concentraciones bajas (T7, T8 y T9) manifiestan múltiples hojas; al realizar el conteo varias de ellas no fueron consideradas, razón por la cual, al observar la figura 31, se podría llegar a la conclusión de que el mejor solidificante para la formación de brotes es el agar.

La figura 32 presenta la tendencia de los explantes para generar hojas más anchas cuando estos crecen en medio semilíquido. En la figura 33 se observa un comportamiento similar al de la figura 28, es decir, aquellos explantes que fueron propagados en medio con una mayor rigidez presentan un alargamiento, en este caso de la parte aérea de la planta.

Tabla 20. P-Values de distintos ANOVA.

Variable dependiente:	P- Value
<i>Altura</i>	0.0000
Grosor del tallo	0.0001
Masa del explante	0.0953
Número de brotes	0.0610
Ancho de hoja	0.2546
Largo de hoja	0.0339

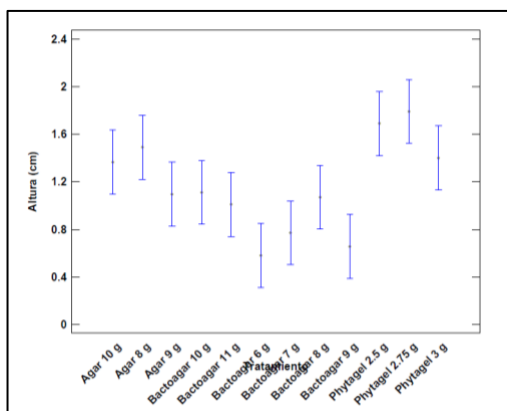


Figura 33. Tratamiento vs altura

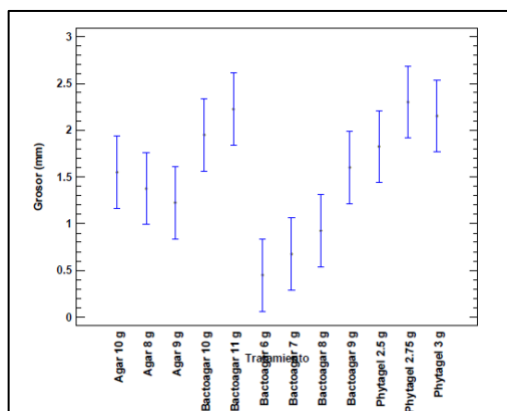


Figura 33. Tratamiento vs grosor

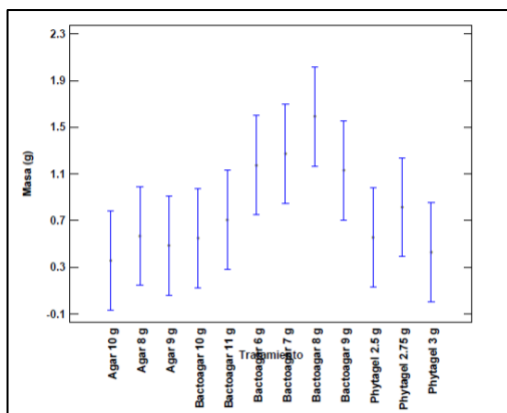


Figura 33. Tratamiento vs masa

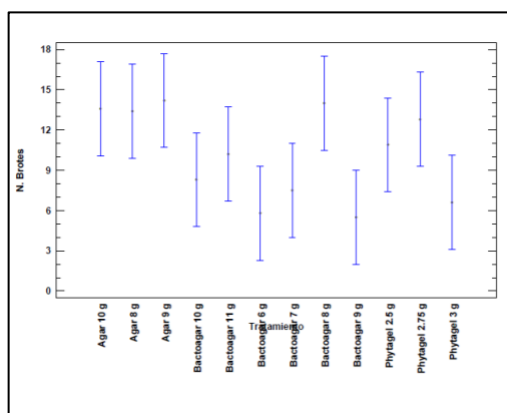


Figura 33. Tratamiento vs n. brotes

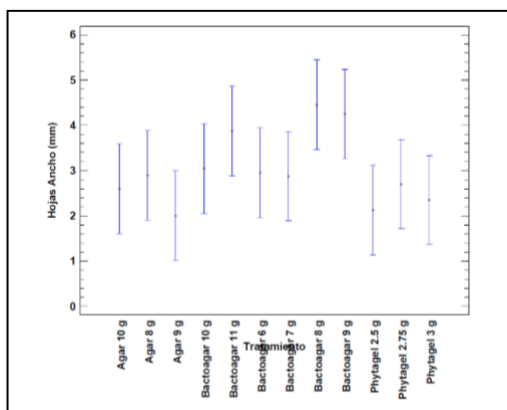


Figura 33. Tratamiento vs ancho de hojas

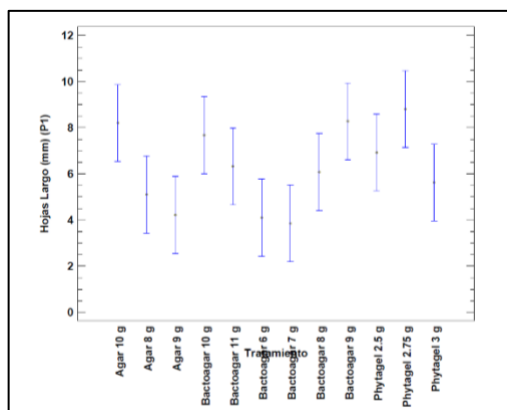


Figura 33. Tratamiento vs largo de hojas

Proliferación de yemas axilares en medio para la formación de raíz:

Debido a que sólo fue posible realizar una evaluación a los 15 días de crecimiento de los medios para la formación de raíz, la información recabada es limitada. Esta se presenta en la tabla 21. Se encontró que todos los tratamientos, menos aquellos que tienen una composición semilíquida tuvieron una tasa de supervivencia perfecta. Se encontró que la formación de

callo es altamente constante en los medios con alto nivel de rigidez como lo es el *Phytigel*® y se encontró que el solidificante que más favorece la formación de raíz es el agar, en específico a 10 g/l. Es importante mencionar, que la aparición de las primeras raíces se presentó después de aproximadamente 10 días después de iniciar la propagación.

Tabla 21. Evaluación de tratamientos para la formación de raíz

Tratamiento	% Supervivencia	Formación de callo	Número de raíces
T1	100%	80%	6
T2	100%	40%	14
T3	100%	30%	21
T4	100%	100%	0
T5	100%	100%	1
T6	100%	100%	0
T7	90%	10%	0
T8	70%	20%	4
T9	80%	20%	0
T10	100%	30%	0
T11	100%	30%	0
T12	100%	10%	1

En la figura 34 se ilustra la formación de las primeras raíces de los explantes creciendo en agar.



Figura 34. Raíz de *C. roseus*

Aclimatación:

En la figura 35 se presenta la distribución de plantas que continuaron vivas después de 7 días en aclimatación. En esta figura se aprecia el impacto que tuvo la contaminación por hongo en las plantas sembradas en el sustrato 1.

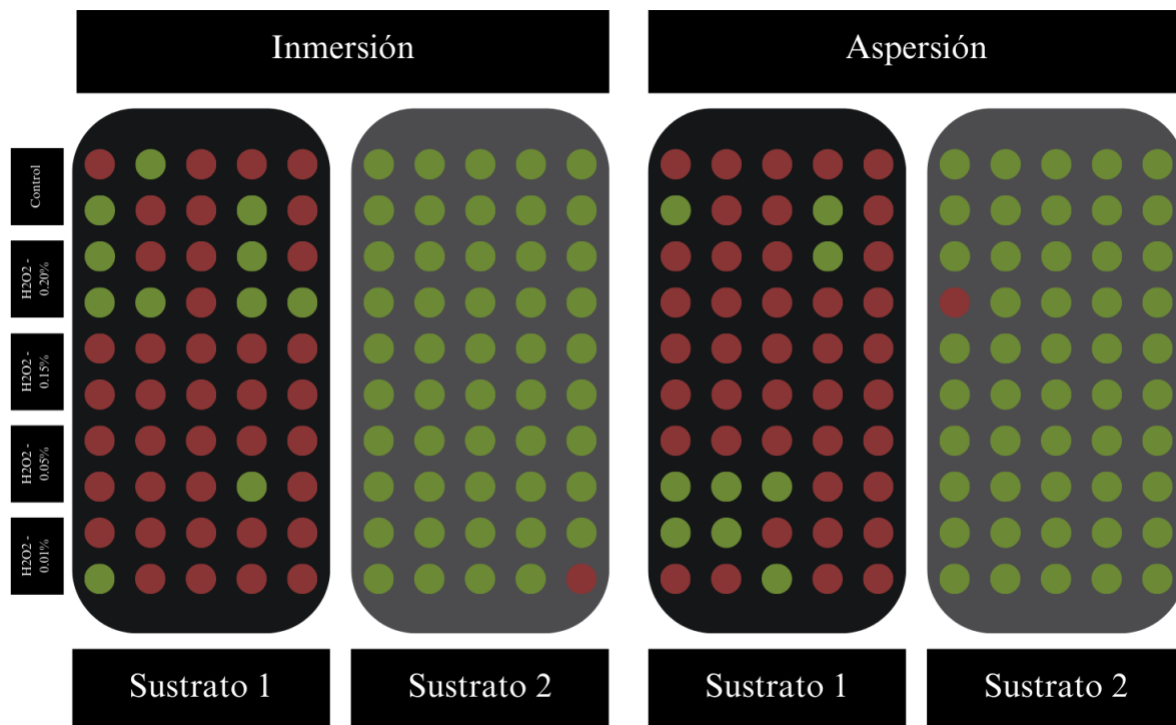


Figura 35. Distribución de plantas muertas en aclimatación.

En la tabla 22 se muestra el porcentaje de supervivencia de las plantas en aclimatación, separadas por el tratamiento que se les aplicó previo a su siembra. A pesar de la contaminación presentada se logra observar una tendencia en la supervivencia, la cual se reafirma al observar la figura 35. Es posible apreciar que en las plantas tratadas por inmersión en solución de peróxido de hidrógeno y aclimatadas en el sustrato 1, existe un mayor porcentaje de supervivencia en aquellas que fueron sumergidas en la solución más concentrada. Esto podría tener su explicación en que, el cierre de los estomas también tiene un impacto en el ingreso de patógenos al interior de las vegetales; este mecanismo le permite a la planta protegerse de infecciones por hongos o bacterias, razón de que este tratamiento haya tenido una mayor supervivencia a la infección fúngica [73], [82]. Por otro lado, en aquellas plantas a las que se les realizó la aplicación de las soluciones de H_2O_2 por medio de aspersión, se presenta el comportamiento opuesto, pues los explantes con una mayor tasa de supervivencia fueron aquellos a los que se les aplicó la solución a concentraciones bajas. Por otro lado, se observa que la planta control mantuvo una tasa de supervivencia similar en las dos charolas de aclimatación.

Tabla 22. Porcentaje de supervivencia de los distintos tratamientos de aclimatación.

Tratamiento	% Supervivencia			
	Inmersión		Aspersión	
	Sustrato 1	Sustrato 2	Sustrato 1	Sustrato 2
Control	30%	100%	20%	100%
H_2O_2 – 0.20%	60%	100%	10%	90%
H_2O_2 – 0.15%	0%	100%	0%	100%
H_2O_2 – 0.05%	10%	100%	30%	100%
H_2O_2 – 0.01%	10%	90%	30%	100%

La figura 35 ilustra la aclimatación de plántulas de *C. roseus* en el sustrato compuesto 100% por perlita. Al observar las dos filas superiores, es decir, las que muestran el impacto de la

aclimatación con aspersión de distintas soluciones de peróxido de hidrógeno; se observa la aparición de daño en forma de manchas negras en las hojas de las que fueron tratadas con las soluciones más concentradas (0.20 y 0.15% H_2O_2). Se aprecia también clorosis importante en la mayoría de los explantes, menos en aquellos asperjados por la solución al 0.01%. La aparición del fenómeno de clorosis podría tener su explicación en la desviación de energía y recursos que la planta realiza en presencia de estresores, en este caso, debido a la pérdida de humedad. Por medio de un fino sistema de señalización, las plantas son capaces de detener su crecimiento y reducir la magnitud en la que realiza la fotosíntesis, con tal de concentrarse en la generación de mecanismos de defensa [83], [84]. Así pues, las plantas que parecen tener un mejor estado de salud son aquellas a las que se les aplicó la solución al 0.01%, seguido por las plantas control. A pesar de que en la figura no se observe, las plantas tratadas con la solución al 0.05% también tienen la tendencia a conservar su clorofila, y manifiestan mínimo daño en sus hojas.

Por otro lado, las plantas que fueron tratadas por medio de inmersión en solución de peróxido de hidrógeno siguen exactamente la misma tendencia que las aclimatadas en el sustrato 1; es decir, las plantas que fueron sumergidas en la solución al 0.20% presentan un mucho mejor estado de salud, con hojas sin clorosis, y sin señal de deshidratación. Condiciones que no se observan en el resto de las plantas tratadas; pues aquellas inmersas en las soluciones al 0.15%, 0.05% y 0.01% manifiestan amarillamiento, y necrosis en hojas. Además, se observó la aparición de un patógeno fúngico en una de las plántulas inmersas en la solución 0.01%.

A pesar de las conclusiones que es posible extraer de lo observado, se recomienda realizar observaciones en un rango de tiempo mayor; con el objetivo de exponer las plantas a un ambiente con una mayor concentración de oxígeno, y menor humedad, para observar la resistencia de las plantas tratadas con las soluciones de peróxido de hidrógeno, en contraste con las plantas control. Esto resultaría de interés pues, si se observan las plantas control en el experimento realizado, podría dar la impresión de que se encuentran más sanas, y habrá una mayor supervivencia que aquellas que recibieron alguno de los tratamientos. Sin embargo, con la información con la que se cuenta al momento de escribir esto, no es posible afirmarlo o negarlo.

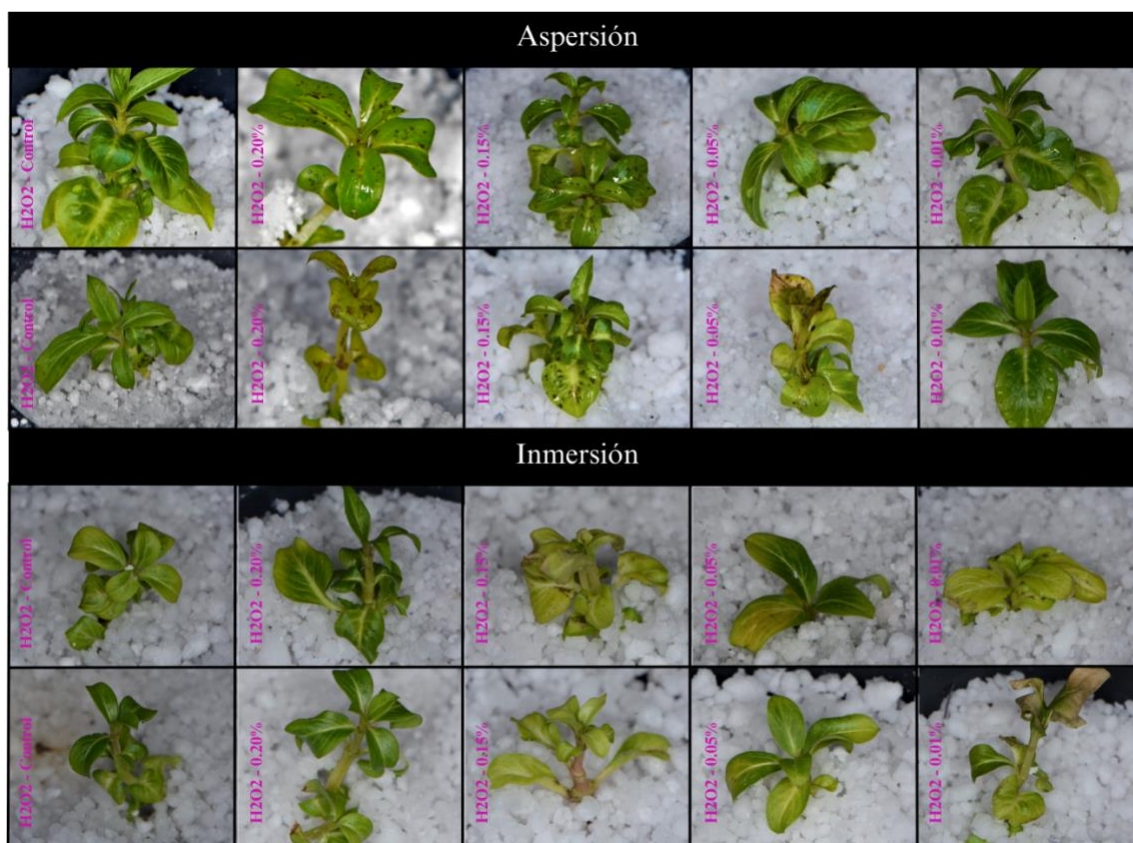


Figura 35. Aclimatación de *C. roseus* en sustrato 2.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Durante el transcurso de este PAP se logró realizar la proliferación de yemas axilares de *C. roseus* en medios de cultivo con gelificantes distintos y a concentraciones distintas. Se logró también establecer una relación entre los distintos tratamientos y el desarrollo de los explantes, tanto para la formación de brotes como para la formación de raíces. Se inició la aclimatación de plántulas de *C. roseus* utilizando distintos tratamientos con peróxido de hidrógeno. Lo encontrado permite sugerir distintos protocolos para la micropropagación de *C. roseus*, por ejemplo, si se busca generar plántulas con nodos axilares bien definidos, con el fin de aumentar la cantidad de plantas disponibles, se propone la preparación de medios de cultivo con *Phytigel*® a una concentración de 2.75 g/L, pues esta favorece el alargamiento de los entrenudos, y permite la extracción y separación más sencillas de las yemas axilares. Por otro lado, si se busca la adquisición de biomasa para la producción de alguna biomolécula de interés, se recomienda el uso de medio preparado con *Bactoagar*

(DIFCO ®) a una concentración de 8 g/L, pues este actúa como un cultivo en medio líquido sin algunas de las desventajas que estos suelen conllevar, como lo es la vitrificación.

Para los experimentos realizados para la propagación de raíz, es necesario realizar observaciones en un espacio de tiempo mayor, no obstante, se observa que hay una aparición de estas en un menor tiempo en los explantes colocados en medio con agar a una concentración de 10 g/L, por lo que se propone el uso de esta formulación para la inducción de la rizogénesis. Por otro lado, en cuanto a la aclimatación, es necesario realizar más pruebas, y con una mayor duración, sin embargo, con los datos disponibles es posible proponer protocolos en los que se incorpore la aplicación diaria de una solución de peróxido de hidrógeno al 0.01%, o una única inmersión de los explantes en una preparación de H₂O₂ al 0.20%.

Con todo lo encontrado, será posible llevar a cabo protocolos que ayuden en la propagación de *C. roseus* lo cual podrá culminar en una mayor disponibilidad de recurso vegetal, lo que a su vez logrará a conseguir una mayor producción de biomoléculas de interés como la vinblastina.

1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] Mst. S. Easmin *et al.*, «Bioactive compounds and advanced processing technology: Phaleria macrocarpa (sheff.) Boerl, a review», *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, n.º 6, pp. 981-991, 2015, doi: 10.1002/jctb.4603.
- [2] R. M. Makki, A. A. Saeedi, T. K. Khan, H. M. Ali, y A. M. Ramadan, «Single nucleotide polymorphism analysis in plastomes of eight Catharanthus roseus cultivars», *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, vol. 33, n.º 1, pp. 419-428, ene. 2019, doi: 10.1080/13102818.2019.1579671.
- [3] N. Nejat, A. Valdiani, D. Cahill, Y.-H. Tan, M. Maziah, y R. Abiri, «Ornamental Exterior versus Therapeutic Interior of Madagascar Periwinkle (Catharanthus roseus): The Two Faces of a Versatile Herb», *Sci. World J.*, vol. 2015, p. 982412, 2015, doi: 10.1155/2015/982412.
- [4] M. Le Roux y F. Guéritte, «3 - From Catharanthus roseus Alkaloids to the Discovery of Vinorelbine (Navelbine®)», en *Navelbine® and Taxotere®*, M. Le Roux y F. Guéritte, Eds., Elsevier, 2017, pp. 87-149. doi: 10.1016/B978-1-78548-145-1.50003-9.
- [5] A. Shala y Z. Deng, «Investigation of morphological and anatomical changes in Catharanthus roseus (L.) G. Don due to colchicine induced polyploidy», *Sci. J. Flowers Ornam. Plants*, vol. 5, n.º 3, pp. 233-243, sep. 2018, doi: 10.21608/sjfp.2018.24216.
- [6] L. Almagro, F. Fernández-Pérez, y M. A. Pedreño, «Indole alkaloids from Catharanthus roseus: bioproduction and their effect on human health», *Mol. Basel Switz.*, vol. 20, n.º 2, pp. 2973-3000, feb. 2015, doi: 10.3390/molecules20022973.

- [7] K. Hirata, K. Miyamoto, y Y. Miura, «Catharanthus roseus L. (Periwinkle): Production of Vindoline and Catharanthine in Multiple Shoot Cultures», en *Medicinal and Aromatic Plants VI*, Y. P. S. Bajaj, Ed., en *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1994, pp. 46-55. doi: 10.1007/978-3-642-57970-7_3.
- [8] U. Salma, S. Kundu, y S. Gantait, «Conserving Biodiversity of a Potent Anticancer Plant, Catharanthus roseus Through In Vitro Biotechnological Intercessions: Substantial Progress and Imminent Prospects», en *Anticancer Plants: Natural Products and Biotechnological Implements: Volume 2*, M. S. Akhtar y M. K. Swamy, Eds., Singapore: Springer, 2018, pp. 83-107. doi: 10.1007/978-981-10-8064-7_5.
- [9] A. Das, S. Sarkar, S. Bhattacharyya, y S. Gantait, «Biotechnological advancements in Catharanthus roseus (L.) G. Don», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 104, n.º 11, pp. 4811-4835, jun. 2020, doi: 10.1007/s00253-020-10592-1.
- [10] S. Das y A. Sharangi, «Madagascar periwinkle (Catharanthus roseus L.): Diverse medicinal and therapeutic benefits to humankind», *J. Pharmacogn. Phytochem.*, sep. 2017, Accedido: 12 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: [https://www.semanticscholar.org/paper/Madagascar-periwinkle-\(Catharanthus-roseus-L.\)%3A-and-Das-Sharangi/0cf6825b9cb15df5134fbc4323b48f6254775ad2](https://www.semanticscholar.org/paper/Madagascar-periwinkle-(Catharanthus-roseus-L.)%3A-and-Das-Sharangi/0cf6825b9cb15df5134fbc4323b48f6254775ad2)
- [11] R. N. Kulkarni, K. Baskaran, y T. Jhang, «Breeding medicinal plant, periwinkle [Catharanthus roseus (L.) G. Don]: a review», *Plant Genet. Resour.*, vol. 14, n.º 4, pp. 283-302, dic. 2016, doi: 10.1017/S1479262116000150.
- [12] M. H. Khan y P. Yadava, «Antidiabetic plants used in Thoubal district of Manipur, Northeast India», vol. 9, n.º 3, 2010.
- [13] B. Singh y P. Sangwan, «Taxonomy, Ethnobotany and Antimicrobial Activity of Alstonia scholaris (L.) R. Br., Carissa carandas L. and Catharanthus roseus (L.) G. Don», *Int. J. Biotech Biosci.*, vol. 1, pp. 102-112, abr. 2011.
- [14] S. K. Swanson-Flatt, C. Day, P. R. Flatt, B. J. Gould, y C. J. Bailey, «Glycaemic effects of traditional European plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice», *Diabetes Res. Edinb. Scotl.*, vol. 10, n.º 2, pp. 69-73, feb. 1989.
- [15] D. K. Holdsworth, «Traditional Medicinal Plants of Rarotonga, Cook Islands Part I», *Int. J. Crude Drug Res.*, vol. 28, n.º 3, pp. 209-218, ene. 1990, doi: 10.3109/13880209009082815.
- [16] D. O. Ochwang'i, C. N. Kimwele, J. A. Oduma, P. K. Gathumbi, J. M. Mbaria, y S. G. Kiama, «Medicinal plants used in treatment and management of cancer in Kakamega County, Kenya», *J. Ethnopharmacol.*, vol. 151, n.º 3, pp. 1040-1055, feb. 2014, doi: 10.1016/j.jep.2013.11.051.
- [17] H. N. T. Pham, Q. V. Vuong, M. C. Bowyer, y C. J. Scarlett, «Phytochemicals Derived from Catharanthus roseus and Their Health Benefits», *Technologies*, vol. 8, n.º 4, Art. n.º 4, dic. 2020, doi: 10.3390/technologies8040080.
- [18] S. Kumar, B. Singh, y R. Singh, «Catharanthus roseus (L.) G. Don: A review of its ethnobotany, phytochemistry, ethnopharmacology and toxicities», *J. Ethnopharmacol.*, vol. 284, p. 114647, feb. 2022, doi: 10.1016/j.jep.2021.114647.
- [19] S. H. Tiong *et al.*, «Antidiabetic and antioxidant properties of alkaloids from Catharanthus roseus (L.) G. Don», *Mol. Basel Switz.*, vol. 18, n.º 8, pp. 9770-9784, ago. 2013, doi: 10.3390/molecules18089770.
- [20] S. H. Tiong *et al.*, «Vindogentianine, a hypoglycemic alkaloid from Catharanthus roseus (L.) G. Don (Apocynaceae)», *Fitoterapia*, vol. 102, pp. 182-188, abr. 2015, doi: 10.1016/j.fitote.2015.01.019.
- [21] G. M. Cragg y D. J. Newman, «Plants as a source of anti-cancer and anti-HIV agents», *Ann. Appl. Biol.*, vol. 143, n.º 2, pp. 127-133, 2003, doi: 10.1111/j.1744-7348.2003.tb00278.x.
- [22] N. Sharma, I. Singh, R. S. Ajee, y S. Kaushik, «Catharanthus Roseus: A Source of Anticancer Phytomedicines», en *The Catharanthus Genome*, C. Kole, Ed., en *Compendium of Plant Genomes*. Cham: Springer International Publishing, 2022, pp. 15-33. doi: 10.1007/978-3-030-89269-2_2.

- [23] J. Aslam, A. Mujib, S. A. Nasim, y M. P. Sharma, «Screening of vincristine yield in ex vitro and in vitro somatic embryos derived plantlets of *Catharanthus roseus* L. (G) Don.», *Sci. Hortic.*, vol. 119, n.º 3, pp. 325-329, feb. 2009, doi: 10.1016/j.scienta.2008.08.018.
- [24] S. Acharjee, R. Kumar, y N. Kumar, «Role of plant biotechnology in enhancement of alkaloid production from cell culture system of *Catharanthus roseus*: A medicinal plant with potent anti-tumor properties», *Ind. Crops Prod.*, vol. 176, p. 114298, feb. 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.114298.
- [25] G. Schmelzer *et al.*, *Plant Resources of Tropical Africa 11(1) : Medicinal plants 1*. 2008.
- [26] S. Nammi, M. K. Boini, S. D. Lodagala, y R. B. S. Behara, «The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits», *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 3, p. 4, sep. 2003, doi: 10.1186/1472-6882-3-4.
- [27] M. F. Ahmed *et al.*, «Antidiabetic Activity of *Vinca rosea* Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats», *Int. J. Endocrinol.*, vol. 2010, p. 841090, 2010, doi: 10.1155/2010/841090.
- [28] D. M. Pereira, F. Ferreres, J. Oliveira, P. Valentão, P. B. Andrade, y M. Sottomayor, «Targeted metabolite analysis of *Catharanthus roseus* and its biological potential», *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 47, n.º 6, pp. 1349-1354, jun. 2009, doi: 10.1016/j.fct.2009.03.012.
- [29] D. M. Pereira *et al.*, «Pharmacological effects of *Catharanthus roseus* root alkaloids in acetylcholinesterase inhibition and cholinergic neurotransmission», *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.*, vol. 17, n.º 8-9, pp. 646-652, jul. 2010, doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.008.
- [30] B. S. Nayak, M. Anderson, y L. M. Pinto Pereira, «Evaluation of wound-healing potential of *Catharanthus roseus* leaf extract in rats», *Fitoterapia*, vol. 78, n.º 7-8, pp. 540-544, dic. 2007, doi: 10.1016/j.fitote.2007.06.008.
- [31] A. Singh, P. K. Singh, y R. K. Singh, «Antidiabetic and Wound Healing Activity of *Catharanthus roseus* L. in Streptozotocin- Induced Diabetic Mice», 2014.
- [32] N. Misra y A. K. Gupta, «Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings», *J. Plant Physiol.*, vol. 163, n.º 1, pp. 11-18, ene. 2006, doi: 10.1016/j.jplph.2005.02.011.
- [33] B. Y. K. Binder, C. A. M. Peebles, J. V. Shanks, y K.-Y. San, «The effects of UV-B stress on the production of terpenoid indole alkaloids in *Catharanthus roseus* hairy roots», *Biotechnol. Prog.*, vol. 25, n.º 3, pp. 861-865, 2009, doi: 10.1002/btpr.97.
- [34] A. Mahdavi, P. Moradi, y A. Mastinu, «Variation in Terpene Profiles of *Thymus vulgaris* in Water Deficit Stress Response», *Molecules*, vol. 25, n.º 5, Art. n.º 5, ene. 2020, doi: 10.3390/molecules25051091.
- [35] F. Campos-Tamayo, E. Hernández-Domínguez, y F. Vázquez-Flota, «Vindoline formation in shoot cultures of *Catharanthus roseus* is synchronously activated with morphogenesis through the last biosynthetic step», *Ann. Bot.*, vol. 102, n.º 3, pp. 409-415, sep. 2008, doi: 10.1093/aob/mcn108.
- [36] J. Aslam, A. Mujib, Z. Fatima, y M. P. Sharma, «Variations in vinblastine production at different stages of somatic embryogenesis, embryo, and field-grown plantlets of *Catharanthus roseus* L. (G) Don, as revealed by HPLC», *Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant*, vol. 46, n.º 4, pp. 348-353, ago. 2010, doi: 10.1007/s11627-010-9290-y.
- [37] CIATEJ, «Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Sostenible, Quiénes somos,» Estado de Jalisco», 2023. <https://www.ciatej.mx/el-ciatej/quienes-somos>
- [38] CIATEJ, «Biotecnología Vegetal», 2023. <https://ciatej.mx/investigacion/biotecnologia-vegetal>
- [39] A. Mujib, S. Fatima, y M. Q. Malik, «Cryo-derived plants through embryogenesis showed same levels of vinblastine and vincristine (anticancer) in *Catharanthus roseus* and had normal genome size», *Sci. Rep.*, vol. 12, n.º 1, Art. n.º 1, oct. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-20993-z.

- [40] R. K. Satdive, D. P. Fulzele, y S. Eapen, «Studies on production of ajmalicine in shake flasks by multiple shoot cultures of *Catharanthus roseus*», *Biotechnol. Prog.*, vol. 19, n.º 3, pp. 1071-1075, 2003, doi: 10.1021/bp020138g.
- [41] D. P. Carew y R. J. Krueger, «*Catharanthus roseus* tissue culture: the effects of medium modifications on growth and alkaloid production», *Lloydia*, vol. 40, n.º 4, pp. 326-336, 1977.
- [42] S. Rajashekara, D. Reena, M. V. Mainavi, L. S. Sandhya, y U. Baro, «Biological isolation and characterization of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don methanolic leaves extracts and their assessment for antimicrobial, cytotoxic, and apoptotic activities», *BMC Complement. Med. Ther.*, vol. 22, n.º 1, p. 328, dic. 2022, doi: 10.1186/s12906-022-03810-y.
- [43] R. Zárate, J. Memelink, R. van der Heijden, y R. Verpoorte, «Genetic transformation via particle bombardment of *Catharanthus roseus* plants through adventitious organogenesis of buds», *Biotechnol. Lett.*, vol. 21, n.º 11, pp. 997-1002, nov. 1999, doi: 10.1023/A:1005622317333.
- [44] A. Junaid, A. Mujib, M. P. Sharma, y W. Tang, «Growth regulators affect primary and secondary somatic embryogenesis in Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) at morphological and biochemical levels», *Plant Growth Regul.*, vol. 51, n.º 3, pp. 271-281, mar. 2007, doi: 10.1007/s10725-007-9171-5.
- [45] M. Ikeuchi, Y. Ogawa, A. Iwase, y K. Sugimoto, «Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms», *Development*, vol. 143, n.º 9, pp. 1442-1451, may 2016, doi: 10.1242/dev.134668.
- [46] J.-L. Verdeil, L. Alemanno, N. Niemenak, y T. J. Tranbarger, «Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy?», *Trends Plant Sci.*, vol. 12, n.º 6, pp. 245-252, jun. 2007, doi: 10.1016/j.tplants.2007.04.002.
- [47] S. Bhatia, «Chapter 1 - History and Scope of Plant Biotechnology», en *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, S. Bhatia, K. Sharma, R. Dahiya, y T. Bera, Eds., Boston: Academic Press, 2015, pp. 1-30. doi: 10.1016/B978-0-12-802221-4.00001-7.
- [48] H. S. Chawla, *Introduction to Plant Biotechnology (3/e)*. CRC Press, 2011.
- [49] D. P. Carew, «Growth of callus tissue of *catharanthus roseus* in suspension culture», *J. Pharm. Sci.*, vol. 55, n.º 10, pp. 1153-1154, 1966, doi: 10.1002/jps.2600551041.
- [50] M. Ghasempour, A. Iranbakhsh, M. Ebadi, y Z. Oraghi Ardebili, «Seed priming with cold plasma improved seedling performance, secondary metabolism, and expression of deacetylvindoline O-acetyltransferase gene in *Catharanthus roseus*», *Contrib. Plasma Phys.*, vol. 60, n.º 4, p. e201900159, 2020, doi: 10.1002/ctpp.201900159.
- [51] W. Kreis, «In-Vitro Culturing Techniques of Medicinal Plants», en *Medicinal Plant Biotechnology*, John Wiley & Sons, Ltd, 2006, pp. 157-185. doi: 10.1002/9783527619771.ch8.
- [52] D. Levac, J. Murata, W. S. Kim, y V. De Luca, «Application of carborundum abrasion for investigating the leaf epidermis: molecular cloning of *Catharanthus roseus* 16-hydroxytabersonine-16-O-methyltransferase», *Plant J.*, vol. 53, n.º 2, pp. 225-236, 2008, doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03337.x.
- [53] R. Mukhopadhyay, «Micropropagation for the Improved Production of Secondary Metabolites», en *Plants as Bioreactors for Industrial Molecules*, John Wiley & Sons, Ltd, 2023, pp. 161-184. doi: 10.1002/9781119875116.ch6.
- [54] S. Hirose y A. Komamine, «Changes in ultrastructure of Golgi apparatus during the cell cycle in a synchronous culture of *Catharanthus roseus*», *New Phytol.*, vol. 111, n.º 4, pp. 599-605, 1989, doi: 10.1111/j.1469-8137.1989.tb02353.x.
- [55] W. M. van Gulik, H. J. G. ten Hoopen, y J. J. Heijnen, «A structured model describing carbon and phosphate limited growth of *Catharanthus roseus* plant cell suspensions in batch and chemostat culture», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 41, n.º 8, pp. 771-780, 1993, doi: 10.1002/bit.260410803.
- [56] T. B. Jha, *Plant Tissue Culture: Basic and Applied*. Universities Press, 2005.

- [57] S. Bell, «Experimental Design», en *International Encyclopedia of Human Geography*, R. Kitchin y N. Thrift, Eds., Oxford: Elsevier, 2009, pp. 672-675. doi: 10.1016/B978-008044910-4.00431-4.
- [58] F. Ngezahayo y B. Liu, «Axillary Bud Proliferation Approach for Plant Biodiversity Conservation and Restoration», *Int. J. Biodivers.*, vol. 2014, p. e727025, abr. 2014, doi: 10.1155/2014/727025.
- [59] P. Kadleček, I. Tichá, D. Haisel, V. Čapková, y C. Schäfer, «Importance of in vitro pretreatment for ex vitro acclimatization and growth», *Plant Sci.*, vol. 161, n.º 4, pp. 695-701, sep. 2001, doi: 10.1016/S0168-9452(01)00456-3.
- [60] S. C. Gad, «Statistics», en *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, P. Wexler, Ed., Oxford: Academic Press, 2014, pp. 381-389. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00930-1.
- [61] D. A. Griffith, «An Introduction to Scientific Research Methods in Geography and Environmental Studies, 2nd ed. by Daniel R. Montello and Paul C. Sutton. Thousand Oaks, CA: SAGE, 2013, 314 pp.», *Geogr. Anal.*, vol. 45, n.º 4, pp. 441-443, 2013, doi: 10.1111/gean.12022.
- [62] C. A. Ozel, K. M. Khawar, y O. Arslan, «A comparison of the gelling of isubgol, agar and gelrite on in vitro shoot regeneration and rooting of variety Samsun of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)», *Sci. Hortic.*, vol. 117, n.º 2, pp. 174-181, jun. 2008, doi: 10.1016/j.scienta.2008.03.022.
- [63] G. M. Mohamed, A. M. Amer, N. H. Osman, M. Z. Sedik, y M. H. Hussein, «Effects of different gelling agents on the different stages of rice regeneration in two rice cultivars», *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, n.º 10, pp. 5738-5744, oct. 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.06.003.
- [64] S. Lv *et al.*, «Strigolactone-triggered stomatal closure requires hydrogen peroxide synthesis and nitric oxide production in an abscisic acid-independent manner», *New Phytol.*, vol. 217, n.º 1, pp. 290-304, 2018, doi: 10.1111/nph.14813.
- [65] S. Bhatia, «Chapter 2 - Plant Tissue Culture», en *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, S. Bhatia, K. Sharma, R. Dahiya, y T. Bera, Eds., Boston: Academic Press, 2015, pp. 31-107. doi: 10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9.
- [66] T. Murashige y F. Skoog, «A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures», *Physiol. Plant.*, vol. 15, n.º 3, pp. 473-497, 1962, doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [67] P. Che, S. Lall, D. Nettleton, y S. H. Howell, «Gene Expression Programs during Shoot, Root, and Callus Development in Arabidopsis Tissue Culture», *Plant Physiol.*, vol. 141, n.º 2, pp. 620-637, jun. 2006, doi: 10.1104/pp.106.081240.
- [68] S. M. Hecht, «Probing the Cytokinin Receptor Site(s)», en *Plant Growth Substances 1979*, F. Skoog, Ed., en *Proceedings in Life Sciences*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1980, pp. 144-158. doi: 10.1007/978-3-642-67720-5_14.
- [69] B. Entsch, D. S. Letham, C. W. Parker, R. E. Summons, y B. I. Gollnow, «Metabolites of Cytokinins», en *Plant Growth Substances 1979*, F. Skoog, Ed., en *Proceedings in Life Sciences*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1980, pp. 109-118. doi: 10.1007/978-3-642-67720-5_11.
- [70] L. M. Srivastava, «CHAPTER 27 - Tropic and Nontropic Responses to Environmental Signals», en *Plant Growth and Development*, L. M. Srivastava, Ed., San Diego: Academic Press, 2002, pp. 717-756. doi: 10.1016/B978-012660570-9/50171-4.
- [71] T. Lawson y J. Matthews, «Guard Cell Metabolism and Stomatal Function», *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 71, n.º 1, pp. 273-302, 2020, doi: 10.1146/annurev-arplant-050718-100251.
- [72] M. Melotto, L. Zhang, P. R. Oblessuc, y S. Y. He, «Stomatal Defense a Decade Later», *Plant Physiol.*, vol. 174, n.º 2, pp. 561-571, jun. 2017, doi: 10.1104/pp.16.01853.
- [73] O. Rodrigues y L. Shan, «Stomata in a state of emergency: H₂O₂ is the target locked», *Trends Plant Sci.*, vol. 27, n.º 3, pp. 274-286, mar. 2022, doi: 10.1016/j.tplants.2021.10.002.
- [74] M. E. Compton, «Use of Statistics in Plant Biotechnology», en *Plant Cell Culture Protocols*, V. M. Loyola-Vargas y F. Vázquez-Flota, Eds., en *Methods in Molecular Biology*TM. Totowa, NJ: Humana Press, 2006, pp. 145-163. doi: 10.1385/1-59259-959-1:145.

- [75] R. N. Trigiano, Ed., *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*, 2.^a ed. New York: Routledge, 2017. doi: 10.1201/9780203743133.
- [76] A. Pietrosiuk, M. Furmanowa, y B. Łata, «Catharanthus roseus: micropropagation and in vitro techniques», *Phytochem. Rev.*, vol. 6, n.º 2, pp. 459-473, jul. 2007, doi: 10.1007/s11101-006-9049-6.
- [77] M. Yildiz, E. S. Darcin, R. Beyaz, M. Yildiz, E. S. Darcin, y R. Beyaz, «Water Stress Hinders In Vitro Regeneration of Plants», en *Water Stress in Plants*, IntechOpen, 2016. doi: 10.5772/64664.
- [78] N. Abdalla *et al.*, «An Academic and Technical Overview on Plant Micropropagation Challenges», *Horticulturae*, vol. 8, n.º 8, Art. n.º 8, ago. 2022, doi: 10.3390/horticulturae8080677.
- [79] E. Martínez-Santos, C. A. Cruz-Cruz, J. L. Spinoso-Castillo, y J. J. Bello-Bello, «In vitro response of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) to PEG-induced osmotic stress», *Sci. Rep.*, vol. 11, n.º 1, Art. n.º 1, nov. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-02207-0.
- [80] A. Mujib, A. Ilah, J. Aslam, S. Fatima, Z. H. Siddiqui, y M. Maqsood, «Catharanthus roseus alkaloids: application of biotechnology for improving yield», *Plant Growth Regul.*, vol. 68, n.º 2, pp. 111-127, nov. 2012, doi: 10.1007/s10725-012-9704-4.
- [81] A. Mujib, M. Ali, T. Isah, y Dipti, «Somatic embryo mediated mass production of *Catharanthus roseus* in culture vessel (bioreactor) – A comparative study», *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 21, n.º 5, pp. 442-449, nov. 2014, doi: 10.1016/j.sjbs.2014.05.007.
- [82] C. W. Lim, W. Baek, J. Jung, J.-H. Kim, y S. C. Lee, «Function of ABA in Stomatal Defense against Biotic and Drought Stresses», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, n.º 7, Art. n.º 7, jul. 2015, doi: 10.3390/ijms160715251.
- [83] B. Huot, J. Yao, B. L. Montgomery, y S. Y. He, «Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness», *Mol. Plant*, vol. 7, n.º 8, pp. 1267-1287, ago. 2014, doi: 10.1093/mp/ssu049.
- [84] Y. Lu y J. Yao, «Chloroplasts at the Crossroad of Photosynthesis, Pathogen Infection and Plant Defense», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, n.º 12, Art. n.º 12, dic. 2018, doi: 10.3390/ijms19123900.

2. Productos

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Proliferación de yemas axilares de <i>Catharanthus roseus</i> en diferentes solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco , Unidad Zapopan.
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Protocolo para la propagación de brotes de <i>Catharanthus roseus</i> .
Autores:	Alexis García Rubio.

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Proliferación de yemas axilares de <i>Catharanthus roseus</i> en diferentes solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco , Unidad Zapopan.
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Protocolo para la aclimatación de <i>Catharanthus roseus</i> .
Autores:	Alexis García Rubio.

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Proliferación de yemas axilares de <i>Catharanthus roseus</i> en diferentes

	solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco , Unidad Zapopan.
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Propagación <i>in vitro</i> de limón.
Autores:	Víctor Valentín, y Alexis García Rubio.

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Proliferación de yemas axilares de <i>Catharanthus roseus</i> en diferentes solidificantes y su aclimatación con el uso de peróxido de hidrógeno, en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco , Unidad Zapopan.
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Propagación <i>in vitro</i> de aguacate híbrido.
Autores:	Víctor Valentín, y Alexis García.

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

3.1 Sensibilización ante las realidades

Al trabajar en un centro de investigación en el que se encuentran múltiples alumnos desarrollando proyectos, tuve la oportunidad de conversar con muchos de ellos. Ahí me encontré con una infinidad de historias distintas; desde chavos que han tenido una vida

completamente acomodada, en la que no han tenido que preocuparse por muchas cosas, hasta personas que han tenido que escalar desde muy abajo, y enfrentándose a muchísimas dificultades para llegar a donde están. Escuché muchas historias acerca del lugar de donde venían, y de las dificultades que hubieran tenido en sus Estados para realizar las cosas que a ellos les interesaban. Me encontré con la realidad de que, a pesar de que yo sentía que la investigación en Jalisco se encontraba en un estado triste; esta se encuentra bastante por encima de otras partes de la República, donde los equipos especializados son escasos, o ni siquiera están disponibles.

Platiqué también con colegas que tienen una vocación como la mía por ayudar al planeta, y esto me ayudó a reafirmar el hecho de que, en esta lucha por hacer del mundo un lugar mejor, no estoy solo; hay muchas personas de mi rango de edad que se interesan por estas problemáticas y toman acciones para resolverlas.

3.2 Aprendizajes logrados

Durante el desarrollo del PAP logré potenciar algunas de las habilidades que ya poseía, y conseguí adquirir algunas nuevas. Repasé todo lo relacionado con protocolos de micropropagación de células vegetales; desde la desinfección, la preparación de medio, hasta los distintos protocolos necesarios para lograr la propagación de distintas especies de planta. Aprendí acerca del funcionamiento de un centro de investigación, pues a pesar de que el semestre pasado también formé parte de un proyecto desarrollado en CIATEJ, debido a la ubicación y el tamaño del laboratorio del Dr. Enrique, la dinámica era muy diferente. Entendí las responsabilidades, obligaciones y algunas ventajas que trae el hecho de convivir y trabajar con muchas otras personas. También, debido a la limitación en la disponibilidad de material en el laboratorio, mejoré mi optimización en cuanto al equipo e insumos utilizados, además de mejorar mi manejo del tiempo. De este último aspecto creo que aprendí mucho, pues debido a que gran parte del proyecto fue autogestionado, la única persona que delimitaba cuanto tiempo debía trabajar era yo mismo, por lo que fue necesario un correcto manejo de las actividades que realizaba por día. Aprendí también mucho acerca del manejo del estrés y la ansiedad.

3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes. Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia.	Competencia		Evidencia	Relevancia/Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas
	Conocimientos	Preparación de distintas soluciones a concentraciones específicas.	Soy capaz de formular, calcular, y preparar soluciones útiles para una variedad amplia de protocolos.	Ejecución exitosa de múltiples prácticas de laboratorio, en las que era indispensable la preparación de distintas soluciones.	Extracción de embriones de semillas de papaya	Preparación de múltiples medios de cultivo para la micropropagación de tejidos vegetales
		Uso básico de herramientas de programación como: Matlab y Python. Uso del microcontrolador Arduino UNO	Puedo ser capaz de escribir algoritmos que simulen el comportamiento de un biorreactor en distintos regímenes de funcionamiento.	Códigos escritos a lo largo de la carrera, los cuales han sido capaces de resolver problemas o simular procesos.	Técnicas de micropropagación para limón, aguacate, uva y plantas ornamentales	Propagación de múltiples especies de tejidos vegetales
		Ensamblaje de distintos equipos de laboratorio.	En un entorno de laboratorio puedo ser capaz de ensamblar equipo de forma segura y rápida.	Montaje y desmontaje de equipo medianamente complejo a lo largo de los distintos laboratorios.	Manejo de distintos solidificantes para medio de cultivo	Manejo de equipo de laboratorio
		Generación de sepas bacterianas mutantes por técnicas distintas.	Puedo ser capaz de encontrar y practicar protocolos complejos para la generación de sepas mutantes, con el objetivo mejorar la eficiencia de un determinado proceso.	Mutación de una sepa de <i>Halobacterium salinarum</i> .	Uso del software estadístico STATGRAPHICS	Trabajo en campana de flujo laminar
		Cultivo y propagación de células y tejidos vegetales.	Puedo ser capaz de propagar un fragmento de tejido de alguna especie de planta de interés comercial o industrial.	Propagación exitosa de un esqueje de <i>Agave tequilana</i> weber variedad azul por medio del uso de medios de cultivo enriquecidos.	Caracterización y análisis de cultivos vegetales.	
		Uso de herramientas de diseño en 3D como FreeCAD, e implementación de distintos módulos dentro de este software	El uso de herramientas de diseño 3D permite aterrizar ideas de diseños en algo más tangible, y posteriormente imprimirlo.	Diseño de un prototipo de una cámara de crecimiento vegetal, así como el diseño de distintas piezas pensadas para la impresión 3D	Técnicas de desinfección para cultivos vegetales.	
		Montaje de circuitos electrónicos básicos.	Entendimiento del funcionamiento de sistemas electrónicos básicos. Puedo ser capaz de analizar conexiones y proponer soluciones.	Ensamblaje de algunos circuitos utilizados en una cámara ambiental.	Preparación de soluciones reguladoras de crecimiento vegetal	
		Configuración y montaje del microcontrolador RaspberryPi 3	Conocimiento de hardware fácilmente configurable para implementar	Configuración de distintos sensores por medio del microcontrolador RaspberryPi 3		

			funcionalidades del “Internet de las cosas”			
		Uso de impresoras 3D	Soy capaz de llevar a cabo impresiones de piezas específicas utilizando la menor cantidad de recursos disponibles, por lo que es posible obtener piezas especializadas sin la necesidad de gastar mucho,	Piezas impresas para el montaje de una cámara de crecimiento vegetal		
		Uso de herramientas como sierras, y dremel	Tengo la capacidad de utilizar herramientas, lo cual puede resultar de utilidad para diversos proyectos	Ensamblaje de una cámara de crecimiento vegetal.		
	Habilidades	Uso de componentes electrónicos como sensores y actuadores	Soy capaz de montar sistemas electrónicos sencillos, y que estos monitoreen variables ambientales.	Lecturas satisfactorias por medio del uso de sensores de humedad, temperatura, nivel de agua etc.		
		Resolución de problemas matemáticas complejos, por medio de distintas herramientas como: ecuaciones diferenciales y métodos numéricos.	Puedo ser capaz de interpretar y resolver problemáticas complejas por medio de la implementación de matemática avanzada.	Calificaciones satisfactorias en las materias correspondientes, así como la aplicación de estos métodos durante otras asignaturas más especializadas en biotecnología.	Trabajo en un laboratorio de investigación, con múltiples proyectos activos	Manejo de equipo de laboratorio
		Interpretación y análisis de datos estadísticos complejos.	Soy capaz de interpretar resultados complejos, producto de distintos procedimientos.	Tratamiento de datos a lo largo de los múltiples laboratorios que he cursado, así como la generación de conclusiones en base a resultados encontrados.	Entender cuál es la estructura y jerarquías en un centro de investigación	Buenas prácticas de laboratorio
		Recopilación y análisis de información de artículos científicos.	Puedo ser capaz de realizar investigaciones a profundidad de un tema en específico, recopilando información de distintos compendios y bases de datos.	Generación de múltiples reportes, los cuales contienen información recolectada de múltiples fuentes de información especializada y verificada.	Capacidad para comunicar lo que se necesita que otro compañero realice para tu poder seguir avanzando en tu proyecto	Pensamiento crítico
		Generación de propuestas de valor para el mejoramiento de procesos industriales, con base en evidencia empírica y en investigación.	Basado en experimentación, o en investigación profunda, soy capaz de idear propuestas de mejoramiento para procesos industriales considerando la viabilidad y factibilidad.	Durante el curso de biorreactores se generó una propuesta para mejorar la producción de ácidos grasos para la empresa de microalgas oleas de México.	Negociación de los materiales de laboratorio	Análisis de datos experimentales

		Análisis del impacto accidentes en la industria, y propuestas para la prevención de estos.	Soy capaz de generar propuestas para la prevención de accidentes, así como de procedimientos para la disminución de las consecuencias de estos, por medio del conocimiento de las normas de seguridad vigentes, así como a través del uso de software de simulación.	Estudio y análisis de distintos siniestros presentados en la industria por medio del uso de software de simulación, y a través del estudio de normas oficiales.		Interpretación de datos estadísticos
		Conceptualización y diseño de prototipos	Tengo la capacidad de visualizar y plasmar ideas que culminen en la ideación de un prototipo	Conceptualización y diseño de una cámara de crecimiento ambiental y de piezas.		Planeación de un proyecto y distribución de los tiempos de trabajo
		Redacción de documentos científicos	Me considero capaz de desarrollar textos con la complejidad suficiente como para ser publicados en revistas científicas. Esto habla de un buen nivel de redacción, así como de una comprensión de los formatos necesarios para este tipo de escritos.	A lo largo de mis estudios universitarios he desarrollado múltiples escritos con un formato similar al que se espera en la academia. Desde reportes de laboratorio a fichas de patente.		
		Visualización y comprensión de circuitos electrónicos básicos.	Comprender circuitos electrónicos resulta fundamental pues se encuentran presentes en cualquier lugar.	Ensamblaje adecuado de circuitos electrónicos, así como formulación de diagnósticos correctos para cuando estos fallan.		
		Síntesis de información compleja.	Habilidad fundamental no sólo en el ámbito de la investigación, sino en cualquier campo. Soy capaz de extraer la información más relevante de textos con tópicos variados.	Durante la carrera he sido capaz de realizar investigaciones profundas de tópicos variados. Sintetizando la información más valiosa y descartando el resto.		
	Actitudes	Capacidades de liderazgo y distribución justa del trabajo.	Soy capaz de identificar en los miembros de mi equipo las fortalezas y debilidades. Con esto, puedo ser capaz de asignar tareas y responsabilidades que sé que cada miembro podrá ejecutar de forma satisfactoria.	A lo largo de la carrera, en los distintos proyectos en los que he trabajado con un equipo, he sido capaz de asumir el liderazgo, con el propósito final de distribuir de forma equitativa las distintas responsabilidades.	Comunicación asertiva	
		Capacidad de seguir indicaciones y	Soy capaz de adaptarme a los distintos entornos a los que me iré enfrentando,	Durante la carrera, así como en las experiencias laborales en las que he	Debate científico	Capacidad de seguir indicaciones y protocolos de forma precisa.

		protocolos de forma precisa.	promoviendo así un ambiente agradable y seguro para todos con los que llegue a colaborar.	participado, he sido capaz de acatar normas y procedimientos de forma satisfactoria.		
		Capacidad de escuchar y debatir ideas de forma respetuosa.	Tengo la capacidad para convivir con personas de distintos orígenes y formas de pensar, aprendiendo de sus vivencias y perspectivas.	He sido capaz de aprender acerca de formas diferentes, no sólo de trabajar, sino de ver el mundo; expresando también mis convicciones, pero todo de forma respetuosa.	Capacidad para convivir con compañeros y colegas de múltiples entornos, personalidades y mentalidades distintas	Capacidad de escuchar
		Capacidad de realizar las actividades en los tiempos establecidos.	Puedo cumplir con los itinerarios y fechas límite que sean solicitadas para una determinado proyecto o trabajo.	A lo largo de las distintas asignaturas, siempre he sido capaz de realizar y entregar las distintas actividades en los tiempos y fechas establecidos.		Capacidad de distribuir y definir mis propios tiempos de trabajo
		Capacidad para entender las distintas aproximaciones y niveles de involucramiento que se tiene con un proyecto	Puedo desarrollar un proyecto independientemente del nivel de involucramiento de mis superiores o iguales.	Durante mi pasado PAP me enfrenté al hecho de que la doctora que coordinaba el proyecto en el que estuve, no se encontraba realmente involucrada en lo que se estaba realizando, motivo por el cual tuve que aprender que no todos tenemos la misma aproximación y respeto a la investigación y la ciencia.		
		Mecanismos de autoaprendizaje	Tengo la capacidad de adquirir conocimientos independientemente de la presencia de un instructor o docente, por lo que tengo una alta capacidad para desarrollar habilidades nuevas bajo mis propios términos.	A lo largo de mis estudios me he enfrentado a distintas situaciones que requieren que aprenda únicamente a través de mis propios medios.		Mecanismos de autoaprendizaje
		Paciencia y tolerancia a la frustración.	Soy capaz de sobrellevar y afrontar situaciones en las que mi paciencia se vea probada.	Distintas experiencias tanto en lo cotidiano, como en lo laboral o académico.		Paciencia y tolerancia a la frustración

Al momento de realizar la actualización de mi inventario de competencias me doy cuenta de que muchas de las cosas aprendidas en el PAP con relación a mi carrera fueron competencias mejoradas, es decir, era conocimiento que ya se nos había proporcionado durante las distintas materias cursadas, pero que debido al entorno y a que se llevan a cabo proyectos más

profundos y complejos de los que se puede realizar en la carrera; pude explorar y profundizar más en esas habilidades. Encuentro también que aprendí mucho sobre manejo de tiempo, y convivencia con colegas. Adquirí habilidades de micropropagación de múltiples plantas distintas, para lo cual tuve que comprender un poco más acerca de la fisiología y características de cada una de ellas.

En general creo que esta fue una experiencia muy enriquecedora, y que me ha otorgado y me ha permitido trabajar en muchas habilidades importantes y necesarias no solo para la vida profesional, sino la vida en general.