

Cultivo de tejidos vegetales y mutagénesis inducida: Una estrategia para el desarrollo de plantas tolerantes a salinidad

Plant tissue culture and induced mutagenesis: A strategy for the development of salinity tolerant plants

Andrés Adrián Urías-Salazar*, Benjamín Abraham Ayil-Gutiérrez**, Rafael Delgado-Martínez*, José Hugo Tomás Silva-Espinosa*, Ma. Teresa de Jesús Segura-Martínez*, Wilberth Alfredo Poot-Poot*✉

Urías-Salazar, A. A., Ayil-Gutiérrez, B. A., Delgado-Martínez, R., Silva-Espinosa, J. H. T., Segura-Martínez, M. T. J., & Poot-Poot, W. A. (2022). Cultivo de tejidos vegetales y mutagénesis inducida: Una estrategia para el desarrollo de plantas tolerantes a salinidad. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 30(85), e3315, <https://doi.org/10.33064/iycuaa2022853315>

RESUMEN

La salinidad es uno de los principales factores que causa pérdidas en los cultivos hasta un 50%, lo cual pone en riesgo la seguridad alimentaria mundial. Durante la evolución, las plantas han adquirido mecanismos de defensa, los cuales son regulados por genes específicos cuya principal función es contrarrestar el daño por salinidad. Es necesaria la variabilidad genética en los cultivos para que se presenten genotipos tolerantes al estrés. Una de las estrategias que se puede emplear para encontrar tolerancia es la combinación de mutagénesis y cultivo de tejidos vegetales, ya que se producen miles de plantas en espacios reducidos y periodos cortos; además, con el uso de agentes selectivos como el NaCl pueden obtenerse plantas tolerantes a salinidad. La presente revisión abordará tópicos relacionados con el cultivo de tejidos vegetales, la mutagénesis inducida y la combinación de ambos como estrategias para obtención de plantas tolerantes a salinidad de interés agrícola.

Palabras clave: mutación; estrés salino; estrés abiótico; cultivo in vitro; NaCl; selección in vitro.

Recibido: 5 de agosto de 2021 Aceptado: 17 de enero de 2022

*Facultad de Ingeniería y Ciencias, Centro Universitario Adolfo López Mateos, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Avenida Universidad S/N, C. P. 87000, Cd. Victoria, Tamaulipas, México. Correo electrónico: a2133010147@alumnos.uat.edu.mx; rdelgado@docentes.uat.edu.mx; hsilva@docentes.uat.edu.mx; tere.seguram@gmail.com; wpoot@docentes.uat.edu.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1113-7785>; <https://orcid.org/0000-0001-9945-5985>; <https://orcid.org/0000-0002-5444-3784>; <https://orcid.org/0000-0001-8559-3885>; <https://orcid.org/0000-0002-2973-3289>

**Cátedras Conacyt. Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Boulevard del Maestro S/N esquina Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C. P. 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. Correo electrónico: benjaminrgb_ipn@hotmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3350-4056>

✉Autor para correspondencia

ABSTRACT

Salinity is one of the main factors that causes losses in crops up to 50%, which puts world food security at risk. During evolution, plants have acquired defense mechanisms, which are regulated by specific genes whose main function is to counteract damage by salinity. Genetic variability in crops is necessary for stress-tolerant genotypes to occur. One of the strategies that can be used to find tolerance is the combination of mutagenesis and plant tissue culture, since thousands of plants are produced in confined spaces and short periods; in addition, with the use of selective agents such as NaCl plants can be obtained tolerant to salinity. This review will address topics related to plant tissue culture, induced mutagenesis and the combination of both as strategies to obtain salinity tolerant plants of agricultural interest.

Keywords: mutation; saline stress; abiotic stress; in vitro culture; NaCl; in vitro selection.

INTRODUCCIÓN

La salinidad de los suelos se define como el aumento de sales solubles que impiden o afectan funciones necesarias para el crecimiento normal de las plantas; los suelos se consideran salinos cuando la conductividad eléctrica (CE) es de 4 dS m⁻¹ o más, lo que equivale aproximadamente a 40 mM de NaCl (Munns & Tester, 2008). Se menciona que del total de los suelos que son destinados a la agricultura, 74% presenta problemas de salinidad (Argente Martínez, Idalmis Fonseca, Garatuza Payán, Yépez González, & González Aguilera, 2017). Además, se estima que el aumento de los suelos salinos en los campos agrícolas reducirá la superficie cultivable 30% los próximos 25 años (Almeida Machado & Serralheiro, 2017; Shrivastava & Kumar, 2015) y hasta 50% para el año 2050 como resultado del cambio climático (Rao, Lawson, Raditloaneng, Solomon, & Angula, 2019; Shrivastava & Kumar, 2015).

Por tanto, para reducir las pérdidas de rendimiento en los cultivos es necesario desarrollar protocolos que permitan modificar el material genético de las plantas para inducir tolerancia a los factores abióticos y garantizar la seguridad alimentaria mundial (Orosco-Alcalá et al., 2018; Xu, 2016). La transgénesis es una herramienta que se consideró eficaz para la introducción y fijación de caracteres de resistencia. En 1996 ya se encontraban en los mercados de EE. UU. cultivos como maíz y soya con resistencia al glifosato; asimismo, otro de los avances que se obtuvieron fue el desarrollo del llamado arroz dorado, el cual tiene potencial de salvar millones de vidas gracias a que está enriquecido con vitamina A y hierro (Jauhar, 2006). Sin embargo, en los últimos años el uso de la transgénesis ha disminuido por la baja frecuencia de transformación, la controversia que gira a su alrededor y los problemas éticos que surgen con el uso de cultivos transgénicos (Rai, Kalia, Singh, Gangola, & Dhawan, 2011; Ricroch, Guillaume-Hofnung, & Kuntz, 2018).

Las mutaciones espontáneas (naturales) son alteraciones en el ácido desoxirribonucleico (ADN) que ocurren debido a errores en la replicación del ADN, especies reactivas de oxígeno (EROS) y a la presencia de elementos genéticos móviles (transposones), los cuales provocan alteraciones genéticas que dieron lugar a la especiación (Aklilu, 2021; Mullins et al., 2021). Las mutaciones se pueden utilizar como herramienta para inducir variabilidad genética en los cultivos; sin embargo, la mutación espontánea ocurre con baja frecuencia (10^{-5} - 10^{-8}); hoy día esta mutación puede acelerarse a través de métodos físicos o químicos (Aklilu, 2021; Viana, Pegoraro, Busanello, & Costa de Oliveira, 2019). Por otro lado, la mutación inducida (mutagénesis) se describe como una alteración del material genético y ocurre cuando un agente físico o compuesto químico aumenta la frecuencia de mutación por encima de la frecuencia espontánea (Kodym & Afza, 2003).

El cultivo de tejidos vegetales está definido como un conjunto de técnicas biotecnológicas basado en la totipotencia celular que permite la regeneración y obtención de plantas de manera aséptica, libres de enfermedades y en condiciones controladas (Oseni, Pande, & Nailwal, 2018; Su, Tang, Zhao, & Zhang, 2021). Los materiales vegetales usados para la regeneración de plantas pueden ser hojas, cotiledones, segmentos nodales, tallos y raíces (Oseni et al., 2018; Tandon & Kumaria, 2005).

La combinación de la mutagénesis inducida con el cultivo de tejidos vegetales ha demostrado efectividad para desarrollar cultivos tolerantes a varios tipos de estrés biótico (plagas y enfermedades) y abiótico (suelos salinos) (Martirena Ramírez et al., 2019; Yaycili & Alikamanoğlu, 2012). Entre los cultivos desarrollados por esta vía se encuentran la caña de azúcar (Nikam et al., 2015), jobjoba (AbdalGaleel, Sarhan, Soliman, El Gohary, & Rayan, 2018) y café (Bolívar-González, Valdez-Melara, & Gatica-Arias, 2018), mismos que demostraron tolerancia a suelos salinos. La presente revisión abordará tópicos relacionados con el cultivo de tejidos vegetales, la mutagénesis inducida y la combinación de ambos como estrategias para obtención de plantas tolerantes a salinidad de interés agrícola.

Salinidad en suelos agrícolas

Los suelos salinos se caracterizan por presentar alta concentración de sales solubles que impiden o afectan las funciones necesarias para el crecimiento normal de las plantas (Munns & Tester, 2008). Entre las principales sales que se encuentran en el suelo se pueden mencionar: el carbonato de sodio (Na_2CO_3), sulfato de sodio (Na_2SO_4), sulfato de magnesio (MgSO_4), sulfato de calcio (CaSO_4), cloruro de magnesio (MgCl_2), cloruro de potasio (KCl) y cloruro de sodio (NaCl), siendo esta última la más abundante en los suelos (Rai et al., 2011).

La salinidad en los campos agrícolas es una severa restricción para el crecimiento de los cultivos y la productividad en muchas regiones; la situación se ha convertido en una problemática mundial (Zörb, Geilfus, & Dietz, 2019), lo que repercute en las zonas áridas y

semiáridas; asimismo, a nivel mundial son más de 800 millones de hectáreas afectadas por la salinidad, lo que supone más de 6% del área total de la superficie terrestre (Munns & Tester, 2008). Se estima que, de los 230 millones de hectáreas de tierras cultivables, 45 millones (20%) son afectadas por altas cantidades de sales (Orosco-Alcalá et al., 2018). Además, el aumento de la salinización en los campos agrícolas reducirá 30% la tierra disponible para el cultivo los próximos 25 años (Almeida Machado & Serralheiro, 2017; Shrivastava & Kumar, 2015) y hasta 50% para el año 2050 debido al cambio climático (Rao et al., 2019; Shrivastava & Kumar, 2015). En México, 8.97 millones de hectáreas de suelos están afectados por el exceso de sales (Orosco-Alcalá et al., 2018).

Salinidad en plantas y mecanismos de defensa

La acumulación de sales solubles en los suelos, principalmente NaCl, causa tres tipos de estrés en los cultivos vegetales; estrés osmótico, iónico y oxidativo, los cuales en su conjunto causan cambios en la arquitectura de la raíz, inducen clorosis y necrosis en los bordes de las hojas que se atribuyen al efecto lupa, ocasionado por la pérdida de agua mediante la gutación, además, reducen la tasa fotosintética (AbdElgawad et al., 2016; Munns & Tester, 2008); estos efectos son causados por un desequilibrio en la salida de K^+ y Ca^{2+} citosólico provocada por acumulación excesiva de Na^+ en las células; lo que puede conducir a una deficiencia de nutrientes y a la muerte celular (Kamran et al., 2020).

De acuerdo con la capacidad de crecimiento en suelos salinos las plantas se clasifican como halófilas (tolerantes a la salinidad) y glicófitas (sensibles a la salinidad) (Flowers & Colmer, 2008; Ruan et al., 2010). Las halófitas son aquellas que incluyen una serie de adaptaciones que les permiten tolerar niveles altos de salinidad y en consecuencia son utilizadas como modelos de estudio para conocer los mecanismos celulares involucrados en la tolerancia (Adolf, Jacobsen, & Shabala, 2013; Ruan, da Silva, Mopper, Qin, & Lutts, 2010); mientras que las glicófitas son aquellas que no toleran niveles altos de salinidad y dentro de este grupo se encuentran las plantas cultivables (Zhang & Shi, 2013).

Dentro de las adaptaciones fisiológicas desarrolladas por las plantas hacia la salinidad se pueden mencionar la expresión de genes relacionados con la síntesis de enzimas antioxidantes, para el mantenimiento homeostático y la síntesis de solutos compatibles, que funcionan como mecanismos de defensa regulados por genes específicos cuya principal función es contrarrestar el daño por el estrés salino (Hasanuzzaman et al., 2020). Existen avances al respecto, donde plantas de *Arabidopsis thaliana* y arroz han sido utilizadas como modelo de estudio para identificar y caracterizar genes involucrados en la tolerancia al estrés por salinidad (DeRose-Wilson & Gaut, 2011; Suzuki et al., 2016); los genes más estudiados se mencionan en la tabla 1, mismos que abren la posibilidad a la ingeniería genética para inducir tolerancia a la salinidad (Orosco-Alcalá et al., 2018).

Tabla 1
Genes implicados en la tolerancia al estrés salino

Nombre del gen	Función del gen	Referencia
<i>NtHAL3a</i>	Gen implicado en la acumulación de solutos compatibles y el transporte de sodio	Espinosa-Ruiz et al. (1999)
<i>AtNHX1</i>	Gen que media el transporte de sodio y potasio con afinidades similares (osmorregulación)	Venema et al. (2002)
<i>P5CS</i> y <i>OsTPS1</i>	Genes implicados en el incremento en de prolina y en los niveles de trehalosa	Nakayama, Yoshida y Shinmyo (2004)
<i>Ena1p</i>	Gen implicado en excluir el Na ⁺ citosólico durante estrés salino	Nakayama, Yoshida y Shinmyo (2004)
<i>OsHKTs</i>	Genes transportadores de potasio de alta afinidad en arroz, explica la homeostasis del Na ⁺ y K ⁺	Suzuki et al. (2016)
<i>QTLs</i>	Genes relacionados con la supervivencia a estrés salino en la etapa de plántula, crecimiento vegetativo y reproductivo	Wang et al. (2017)
Genes de eliminación de especies reactivas de oxígeno (EROS)	Genes encargados de reducir el daño de la célula en condiciones salinas; esto sucede al estar implicados en la eliminación de EROS, ya que mantiene la energía fotosintética, mejora el crecimiento de las raíces y brotes	Roy et al. (2014)

Nota: Elaboración propia con base en información recopilada de Orosco-Alcalá et al. (2018).

Variabilidad genética

Durante la evolución las plantas han adquirido una serie de cambios para su adaptación a las condiciones cambiantes del clima, estas adaptaciones se generaron gracias a la variabilidad genética (Holme, Gregersen, & Brinch-Pedersen, 2019; Oladosu et al., 2016). Dentro de las técnicas de mejoramiento para incrementar la variabilidad genética se mencionan como más importantes la hibridación, la recombinación y la mutagénesis (natural o inducida) (Mullins et al., 2021). La mutagénesis es el proceso por el cual ocurren cambios hereditarios en el material genético de un organismo; sin embargo, las mutaciones naturales o espontáneas ocurren con una frecuencia de 10^{-5} - 10^{-8} , la cual es demasiado baja e inadecuada para inducir variabilidad genética (Mullins et al., 2021; Prasanna & Jain, 2017; Viana et al., 2019). En este sentido, los agentes de mutación artificial son denominados mutágenos y se agrupan en dos categorías: mutágenos físicos y químicos; los cuales pueden inducir mutaciones en los cultivos (Oladosu et al., 2016).

La mutagénesis inducida se describe como una alteración del material genético y ocurre cuando un agente físico o químico aumenta la frecuencia de mutación por encima de la frecuencia espontánea (Kodym & Afza, 2003) y se lleva a cabo utilizando agentes físicos como rayos gamma y rayos X, así como compuestos químicos como el etil metanosulfonato (EMS) y el azida de sodio (NaN₃), los cuales han demostrado inducir mutaciones puntuales en los cultivos estudiados (Mullins et al., 2021). En el caso particular del etil metanosulfonato, las mutaciones puntuales inducidas pueden ser del tipo transición,

donde una sustitución nucleotídica, donde el remplazo ocurre entre una base purina por otra base purina (Adenina a Guanina o Guanina a Adenina) o una pirimidina por otra pirimidina (Citocina a Timina o Timina a Citocina); mientras que a las sustituciones en donde existe un reemplazo entre una base pirimidínica por una purina (Citocina a Adenina, Citocina a Guanina, Timina a Adenina, Timina a Guanina) o viceversa (Adenina a Citocina, Adenina a Timina, Guanina a Citocina, Guanina a Timina) se les conoce como transversión (figura 1B) (Mullins et al., 2021; Talebi, Talebi, & Shahrokhifar, 2012).

Por otro lado, las mutaciones inducidas con agentes físicos se caracterizan por presentar inserción y deleción de nucleótidos. La inserción sucede al agregarse una o más bases nucleotídicas a la cadena de ADN; mientras que la deleción consiste en la pérdida de una o más bases nucleotídicas de la cadena de ADN, o bien, todo un fragmento del cromosoma (figura 1C) (Oladosu et al., 2016).

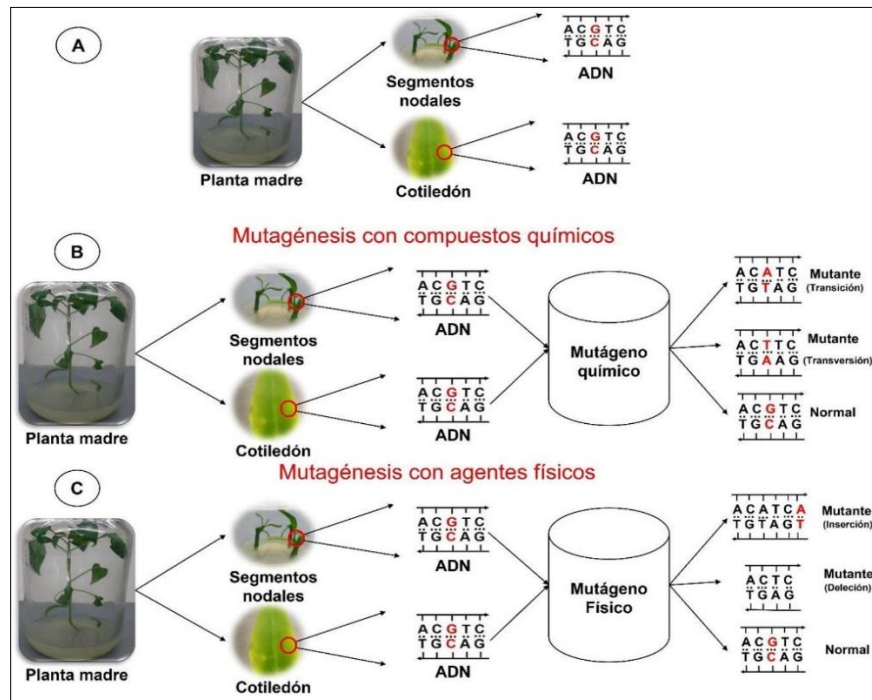


Figura 1. Mutagénesis inducida en explantes de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.). A) Explantes provenientes de planta madre contienen el mismo material genético (ADN). B) Explantes provenientes de planta madre con mismo ADN tratados con mutágeno químico presentan alteración (transición y transversión). C) Explantes provenientes de planta madre con mismo ADN tratados con mutágeno físico presentan alteración (inserción y deleción).
Elaboración propia.

Ventajas de la mutagénesis en los cultivos

La seguridad alimentaria se ha convertido en uno de los principales desafíos que enfrenta la agricultura debido a la reducción de las áreas cultivables y de los recursos hídricos (Prasanna & Jain, 2017). A pesar de que los esfuerzos dirigidos para atender esta problemática han dado resultados alentadores, aún falta mucho por hacer (Rai et al., 2011). Entre estos esfuerzos se encuentran el mejoramiento genético convencional, en donde a través de cruzamientos se ha logrado en algunos cultivos inducir tolerancia a factores abióticos (Prasanna & Jain, 2017; Rai et al., 2011; Singh et al., 2021). Dentro de este contexto la mutagénesis inducida con agentes físicos o compuestos químicos ofrece un medio simple y efectivo para inducir variabilidad genética, además los reportes han mencionado que con la mutagénesis inducida es posible que una sola planta mutante pueda tener diferentes características agronómicas deseables (resistencia a factores bióticos y abióticos, alto rendimiento, calidad y arquitectura de la planta), ya que las mutaciones nucleotídicas suceden al azar (Mohain Jain & Suprasanna, 2011).

La mutación inducida se ha convertido en una herramienta viable para la investigación de la función y expresión génica (Singh et al., 2021). Asimismo, la combinación entre las técnicas de mutagénesis inducida y cultivo de tejidos vegetales pueden ofrecer muchas ventajas como la capacidad de producir grandes poblaciones de plantas en poco tiempo y la posibilidad de obtener clones (Yaycili & Alikamanoğlu, 2012).

Cultivo de tejidos vegetales (CTV)

El cultivo de tejidos vegetales (CTV) puede definirse como un conjunto de técnicas biotecnológicas que permite el establecimiento, regeneración y propagación de plantas en condiciones controladas y libres de enfermedades (Oseni et al., 2018). Durante la propagación de plantas por CTV se utilizan fragmentos vegetales conocidos como explantes (segmentos nodales, cotiledones, hipocótilos) (figura 2), de los cuales se pueden producir cientos o miles de plantas en un proceso continuo (Oseni et al., 2018; Tandon & Kumaria, 2005), en donde las condiciones de luz, medio de cultivo, pH óptimo y temperatura son factores importantes que determinan la respuesta del explante (crecimiento y multiplicación de brotes) (Oseni et al., 2018). Un explante puede dar origen a miles de plantas en condiciones controladas y en tiempo relativamente corto sin considerar la estación y clima durante el año (Akin-Idowu, Asiedu, Maziya-Dixon, Odunola, & Uwaifo, 2009).

La respuesta de los explantes al cultivo in vitro se debe a la totipotencia celular, la cual se conoce como la capacidad que tiene una célula para regenerar un organismo completo (Su, Tang, Zhao, & Zhang, 2020). Autores como Martirena Ramirez et al. (2019) mencionan que la micropropagación puede utilizarse como herramienta de apoyo para complementar las técnicas de mejoramiento genético convencional, ya que el CTV permite propagar masivamente plantas de interés agronómico en periodos cortos de tiempo; mientras que Rai et al. (2011) mencionan que con el CTV es posible obtener plantas de calidad y conservar germoplasmas de varios genotipos o bien inducir tolerancia a estrés

por la variación somaclonal que el mismo CTV puede producir por la serie de subcultivos realizados y la susceptibilidad propia del explante.

Dentro de los procesos de regeneración de plantas se pueden mencionar la embriogénesis somática y la organogénesis; la primera es considerada la vía de desarrollo celular donde células somáticas dan lugar a organizaciones similares a embriones cigóticos sin que medie la fusión de los gametos; es decir, una organización bipolar que no tiene conexión vascular con el tejido parental (Huang et al., 2020). La etapa del embrión se ha catalogado en globular, acorazonado, torpedo y cotiledón hasta la germinación y obtención de plantas completas (Viñas & Jiménez, 2011). La organogénesis es uno de los principales métodos de regeneración y se clasifica como indirecta y directa; la primera tiene lugar cuando el tejido pasa por la fase intermediaria llamada callo, el cual puede ser una estrategia para incrementar la variabilidad genética debido a la variación somaclonal (Gandonou, Errabii, Abrini, Idaomar, & Senhaji, 2006; Huang et al., 2020); por su parte, la organogénesis directa ocurre cuando se inducen brotes sin pasar por la fase intermediaria del callo (figura 2) (George & Debergh, 2008).

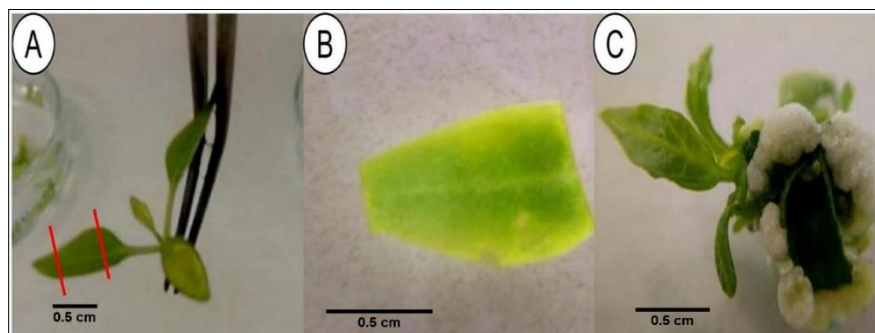


Figura 2. Regeneración de plantas en cultivo de tejidos vegetales. A) Planta madre de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), B) Cotiledón, C) Inducción de brotes (organogénesis).
Elaboración propia.

Agente selectivo en CTV al estrés por salinidad

Una de las maneras para seleccionar plantas tolerantes a patógenos, sequía y salinidad, consiste en proporcionar las condiciones de estrés dentro del recipiente de cultivo (Li et al., 2021). El NaCl es el compuesto químico utilizado en CTV para seleccionar plantas con tolerancia a salinidad (figura 3) (Rai et al., 2011); esta estrategia se basa en que solo los explantes capaces de mantenerse vivos en este entorno son elegidos para la micropropagación (Li et al., 2021). El cultivo in vitro puede reducir el tiempo para la selección de rasgos deseables bajo la presencia de agentes selectivos y complementar la

selección de campo, además, apoyado con otras estrategias como el uso de radiaciones de alta penetración y compuestos mutagénicos es posible inducir variabilidad genética para proporcionar tolerancia en las plantas (Mullins et al., 2021).

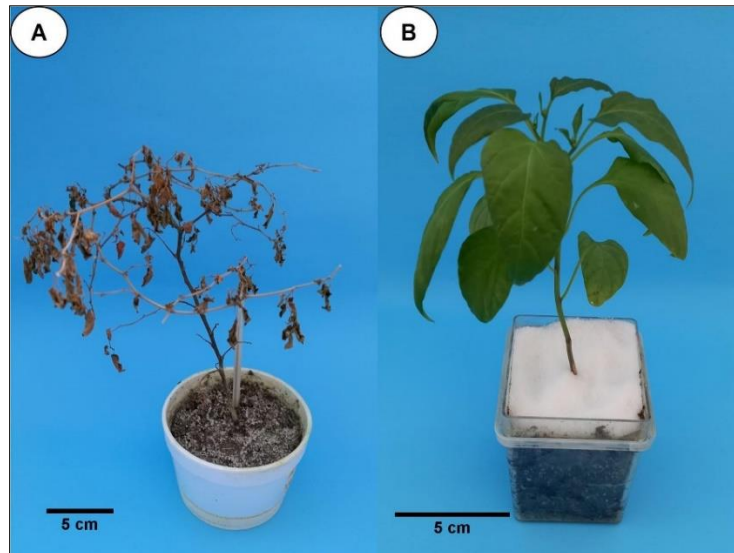


Figura 3. Plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) expuestas a estrés salino. A) Planta susceptible al estrés salino. B) Planta mutante de chile jalapeño tolerante a salinidad. Elaboración propia.

CTV y mutagénesis inducida

El CTV es una herramienta ideal para la selección de mutantes tolerantes al estrés salino, ya que puede realizarse en condiciones controladas, con espacio y tiempo limitado; asimismo, permite cultivar células en un entorno controlado y facilita el desarrollo de protocolos de selección reproducibles (Bolívar-González, Valdez-Melara, & Gatica-Arias, 2018).

Para la selección de plantas con característica de tolerancia a salinidad es necesario establecer las condiciones, tanto de mutagénesis como de cultivo de tejidos vegetales, ya que esto permitiría regenerar plantas a partir de brotes, yemas axilares, callos y meristemos por medio de embriogénesis somática u organogénesis previamente tratados con el mutágeno (figuras 1 y 3) (Mullins et al., 2021; Rai et al., 2011). Algunos avances logrados con la combinación de mutagénesis inducida y CTV puede observarse en la tabla 2.

Tabla 2
Cultivos tolerantes a salinidad obtenidos por medio de mutagénesis inducida y CTV usando NaCl como agente selectivo

Cultivo	Mutágeno	Explante	Referencia
Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	(Físico) Rayos gamma	Callos embrionógicos	Nikam et al. (2015)
Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	(Físico) Rayos gamma	Esquejes con hojas, esquejes sin hojas y microtubérculos	Bado et al. (2016)
Café (<i>Coffea arabica</i> L. var. Catuai)	(Químico) EMS y NaN ₃	Suspensiones celulares embrionógicas	Bolívar-González et al. (2018)
Crisantemo (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)	(Químico) EMS	Callos	Kumar y Kumari (2021)
Jojoba (<i>Simmondsia chinensis</i> L.)	(Químico) EMS	Brotos	AbdalGaleel et al. (2018)
<i>Petunia × atkinsiana</i>	(Químico) EMS	Yemas axilares	Krupa-Matkiewicz et al. (2017)
Frijol (<i>Cyamopsis tetragonoloba</i> L.)	(Químico) EMS	Callos	Gulati et al. (2016)

Nota: Elaboración propia con base en estudios recopilados.

CONCLUSIONES

De acuerdo con la información recopilada la variabilidad genética obtenida por la técnica de mutagénesis inducida y el CTV ha sido aprovechada para la obtención de genotipos tolerantes a diversos tipos de estrés, incluyendo la salinidad. A su vez, estos genotipos (arroz, cebada y algodón, entre otros) han contribuido a disminuir las pérdidas de rendimiento en los cultivos y a aumentar la economía debido al mejoramiento de rasgos de calidad y a la aceptación del consumidor. Sin embargo, aún faltan por resolver los problemas relacionados con el desarrollo de protocolos reproducibles de multiplicación y regeneración para múltiples especies vegetales, así como las dosis y los tiempos de exposición de los explantes al agente mutagénico y la caracterización mutagenómica de los cultivos evaluados en campo.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada (No. 784170) al primer autor.

REFERENCIAS

- AbdalGaleel, M. M., Sarhan, A. Z., Soliman, A. S., El Gohary, A. E., & Rayan, A. O. (2018). Effect of EMS mutagen on induction of salinity resistance of *in vitro* Jojoba *Simmondsia chinensis* L. *Bioscience Research*, 15(4), 4548-4558. Recuperado de [https://www.isisn.org/BR15\(4\)2018/4548-4558-15\(4\)2018BR18-701.pdf](https://www.isisn.org/BR15(4)2018/4548-4558-15(4)2018BR18-701.pdf)
- AbdElgawad, H., Zinta, G., Hegab, M. M., Pandey, R., Asard, H., & Abuelsoud, W. (2016). High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*, 7, 276. doi: 10.3389/fpls.2016.00276
- Adolf, V. I., Jacobsen S.-E., & Shabala S. (2013). Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Environmental and Experimental Botany*, 92, 43-54. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.07.004
- Akin-Idowu, P. E., Asiedu, R., Maziya-Dixon, B. B., Odunola, A., & Uwaifo, A. (2009). Effects of two processing methods on some nutrients and antinutritional factors in yellow yam (*Dioscorea cayenensis*). *African Journal of Food Science*, 3(4), 086-093. Recuperado de <https://hdl.handle.net/10568/90210>
- Akililu, E. (2021). Review on forward and reverse genetics in plant breeding. *All Life*, 14(1), 127-135. doi: 10.1080/26895293.2021.1888810
- Almeida Machado, R. M., & Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. doi: 10.3390/horticulturae3020030
- Argente Martínez, L., Idalmis Fonseca, R., Garatuza Payán, J., Yépez González, E., & González Aguilera, J. (2017). Efecto de la salinidad en callos de variedades de trigo durante el cultivo *in vitro*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(3), 477-488. doi: 10.29312/remexca.v8i3.25
- Bado, S., Rafiri, M. A., El-Achouri, K., Sapey, E., Nielen, S., Ghanim, A. M. A., ... Laimer, M. (2016). *In vitro* methods for mutation induction in potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 15(39), 2132-2145. doi: 10.5897/AJB2016.15571
- Bolívar-González, A., Valdez-Melara, M., & Gatica-Arias, A. (2018). Responses of Arabica coffee (*Coffea arabica* L. var. Catuaí) cell suspensions to chemically induced mutagenesis and salinity stress under *in vitro* culture conditions. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54(6), 576-589. doi: 10.1007/s11627-018-9918-x
- DeRose-Wilson, L., & Gaut, B. S. (2011). Mapping salinity tolerance during *Arabidopsis thaliana* germination and seedling growth. *PLoS ONE*, 6(8), e22832. doi: 10.1371/journal.pone.0022832
- Espinosa-Ruiz, A., Belles J. M., Serrano R., & Culianez-Macla F. A. (1999). *Arabidopsis thaliana* AtHAL3: A flavoprotein related to salt and osmotic tolerance and plant growth. *The Plant Journal*, 20(5), 529-539. doi: 10.1046/j.1365-313x.1999.00626.x
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179(4), 945-963. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x
- Gandonou, C. B., Errabii, T., Abrini, J., Idaomar, M., & Senhaji, N. S. (2006). Selection of callus cultures of sugarcane (*Saccharum* sp.) tolerant to NaCl and their response to salt stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 87(1), 9-16. doi: 10.1007/s11240-006-9113-3
- George, E. F., & Debergh, P. C. (2008). Micropropagation: Uses and methods. En E. F. George, M. A. Hall, & G. -J. De Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture: Vol. 1. The Background* (3ª. ed., pp. 29-64). Holanda: Springer. Recuperado de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-5005-3_2
- Gulati, D., Dhingra, H. R., Sangwan, P., Pahuja, S. K., Manogya, & Singh, S. (2016). Ethyl methane sulphonate (EMS) mediated changes in callus growth of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) raised under saline conditions. *International Journal of*

Agriculture, Environment and Biotechnology, 9(6), 909-916. doi: 10.5958/2230-732X.2016.00118.2

- Hasanuzzaman, M., Borhannuddin Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. doi: 10.3390/antiox9080681
- Holme, I. B., Gregersen, P. L., & Brinch-Pedersen, H. (2019). Induced genetic variation in crop plants by random or targeted mutagenesis: Convergence and differences. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1468. doi: 10.3389/fpls.2019.01468
- Huang, H., Wei, Y., Zhai, Y., Ouyang, K., Chen, X., & Bai, L. (2020). High frequency regeneration of plants via callus-mediated organogenesis from cotyledon and hypocotyl cultures in a multipurpose tropical tree (*Neolamarkia Cadamba*). *Scientific Reports*, 10(1), 4558. doi: 10.1038/s41598-020-61612-z
- Jauhar, P. P. (2006). Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: The prospects and challenges. *Crop Science*. 46(5), 1841-1859. doi: 10.2135/cropsci2005.07-0223
- Kamran, M., Parveen, A., Ahmar, S., Malik, Z., Hussain, S., Chattha, M., S.,... Chen, J. -T. (2020). An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 148. doi: 10.3390/ijms21010148
- Kodym, A., & Afza, R. (2003). Physical and chemical mutagenesis. En E. Grotewold (Ed.), *Plant functional genomics* (p. 189-203). NJ, US: Humana Press. doi: 10.1385/1-59259-413-1:189
- Krupa-Matkiewicz, M., Kosatka, A., Smolik, B., & Sędzik, M. (2017). Induced mutations through EMS treatment and *in vitro* screening for salt tolerance plant of *Petunia x atkinsiana* D. Don. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(1), 190-196. doi: 10.15835/nbha45110578
- Kumar, S. P., & Kumari, B. D. (2021). Impact of ethyl methane sulphonate mutagenesis in *Artemisia vulgaris* L. under NaCl stress. *BioTech*, 10(3), 18. doi: 10.3390/biotech10030018
- Li, L., Peng, Z., Mao, X., Wang, J., Li, C., Chang, X., & Jing, R. (2021). Genetic insights into natural variation underlying salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 72(4), 1135-1150. doi: 10.1093/jxb/eraa500
- Martirena Ramírez, A., Veitía Rodríguez, N., Rodríguez García, L., Collado López, R., Rodríguez Torres, D., Rivero Quintana, L., & Ramírez-López, M. (2019). Efecto de diferentes explantes irradiados en la regeneración *in vitro* de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar "ICA Pijao". *Acta Biológica Colombiana*, 24(1), 13-25. doi: 10.15446/abc.v24n1.70422
- Mohan Jain, S., & Suprasanna, P. (2011). Induced mutations for enhancing nutrition and food production. *Gene Conserve*, 10(41), 201-215.
- Mullins, E., Bresson, J. -L., Dalmay, T., Dewhurst, I. C., Epstein, M. M., Firbank, L. G., ... Rostoks, N. (2021). *In vivo* and *in vitro* random mutagenesis techniques in plants. *EFSA Journal*, 19(11), e06611. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6611
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Nakayama, H., Yoshida, K., & Shinmyo, A. (2004). Yeast plasma membrane Ena1p ATPase alters alkali-cation homeostasis and confers increased salt tolerance in tobacco cultured cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(7), 776-789. doi: 10.1002/bit.20021
- Nikam, A. A., Devarumath, R. M., Ahuja, A., Babu, H., Shitole, M. G., & Suprasanna, P. (2015). Radiation-induced *in vitro* mutagenesis system for salt tolerance and other

- agronomic characters in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *The Crop Journal*, 3(1), 46-56. doi: 10.1080/09553002.2022.2024291
- Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H. A., ... Usman, M. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: A review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(1), 1-16. doi: 10.1080/13102818.2015.1087333
 - OroSCO-Alcalá, B. E., Núñez-Palenius, H. G., Pérez-Moreno, L., Valencia-Posadas, M., Trejo-Téllez, L. I., Díaz-Serrano, F. R., ... Abraham-Juárez, M. R. (2018). Tolerancia a salinidad en plantas cultivadas: Una visión agronómica. *Agro Productividad*, 11(7), 51-57. Recuperado de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/915>
 - Oseni, O. M., Pande, V., & Nailwal, T. K. (2018). A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(7), 3778-3786. doi: 10.20546/ijcmas.2018.707.438
 - Prasanna, S., & Jain, S. M. (2017). Mutant resources and mutagenomics in crop plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(9), 651-657. doi: 10.9755/ejfa.2017.v29.i9.86
 - Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P., & Dhawan, A. K. (2011). Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection-an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 89-98. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.021
 - Rao, N., Lawson, E. T., Raditloaneng, W. N., Solomon, D., & Angula, M. N. (2019). Gendered vulnerabilities to climate change: Insights from the semi-arid regions of Africa and Asia. *Climate and Development*, 11(1), 14-26. doi: 10.1080/17565529.2017.1372266
 - Ricoch, A. E., Guillaume-Hofnung, M., & Kuntz, M. (2018). The ethical concerns about transgenic crops. *Biochemical Journal*, 475(4), 803-811. doi: 10.1042/BCJ20170794
 - Roy, S. J., Negrão, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115-124. doi: 10.1016/j.copbio.2013.12.004
 - Ruan, C. -J., da Silva, J. A. T., Mopper, S., Qin, P., & Lutts, S. (2010). Halophyte improvement for a salinized world. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(6), 329-359. doi: 10.1080/07352689.2010.524517
 - Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123-131. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001
 - Singh, M., Nara, U., Kumar, A., Choudhary, A., Singh, H., & Thapa, S. (2021). Salinity tolerance mechanisms and their breeding implications. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 173. doi: 10.1186/s43141-021-00274-4
 - Su, Y. H., Tang, L. P., Zhao, X. Y., & Zhang, X. S. (2020). Plant cell totipotency: Insights into cellular reprogramming. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1), 228-243. doi: 10.1111/jipb.12972
 - Suzuki, K., Costa, A., Nakayama, H., Katsuhara, M., Shinmyo, A., & Horie, T. (2016). OsHKT2;2/1-mediated Na(+) influx over K(+) uptake in roots potentially increases toxic Na(+) accumulation in a salt-tolerant landrace of rice Nona Bokra upon salinity stress. *Journal of Plant Research*, 129(1), 67-77. doi: 10.1007/s10265-015-0764-1
 - Talebi, A. B., Talebi, A. B., & Shahrokhifar, B. (2012). Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. *American Journal of Plant Sciences*, 3(12), 1661-1665. doi: 10.4236/ajps.2012.312202
 - Tandon, P., & Kumaria, S. (2005). Prospects of plant conservation biotechnology in India with special reference to northeastern region. En P. Tandon, M. Sharma, & R. Swarup

- (Eds.), *Biodiversity: Status and prospects* (pp. 79-92). Nueva Delhi, India: Narosa Publishing House.
- Venema, K., Quintero, F. J., Pardo, J. M., & Donaire, J. P. (2002). The *arabidopsis* Na⁺/H⁺ exchanger AtNHX1 catalyzes low affinity Na⁺ and K⁺ transport in reconstituted liposomes. *Journal of Biological Chemistry*, 277(4), 2413-2418. doi: 10.1074/jbc.M105043200
 - Viana, V. E., Pegoraro, C., Busanello, C., & Costa de Oliveira, A. (2019). Mutagenesis in rice: The basis for breeding a new super plant. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1326. doi: 10.3389/fpls.2019.01326
 - Viñas, M., & Jiménez, V. M. (2011). Factores que influyen en la embriogénesis somática *in vitro* de palmas (Arecaceae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(2), 229-242. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/hevila/Revistacolombianadebiotecnologia/2011/vol13/no2/23.pdf>
 - Wang, S., Cao, M., Ma, X., Chen, W., Zhao, J., Sun, C., ... Liu, F. (2017). Integrated RNA sequencing and QTL mapping to identify candidate genes from *Oryza rufipogon* associated with salt tolerance at the seedling stage. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1427. doi: 10.3389/fpls.2017.01427
 - Xu, Y. (2016). Envirotyping for deciphering environmental impacts on crop plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(4), 653-673. doi: 10.1007/s00122-016-2691-5
 - Yaycili, O., & Alikamanoğlu, S. (2012). Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turkish Journal of Biology*, 36(4), 405-412. doi: 10.3906/biy-1110-14
 - Zhang, J. -L., & Shi, H. (2013). Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. *Photosynthesis Research*, 115(1), 1-22. doi: 10.1007/s11120-013-9813-6
 - Zörb, C., Geilfus, C. -M., & Dietz, K. -J. (2019). Salinity and crop yield. *Plant Biology*, 21 (S1), 31-38. doi: 10.1111/plb.12884



Esta obra está bajo una licencia internacional [Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Usted es libre de Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

Adaptar — remezclar, transformar y construir a partir del material

La licenciente no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciente.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

CompartirIgual — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original.