



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS – ESPE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA**

“Establecimiento *in vitro* de *Draba obovata* Benth. con miras a procesos de restauración ecológica en el Área de Conservación Hídrica Antisana”

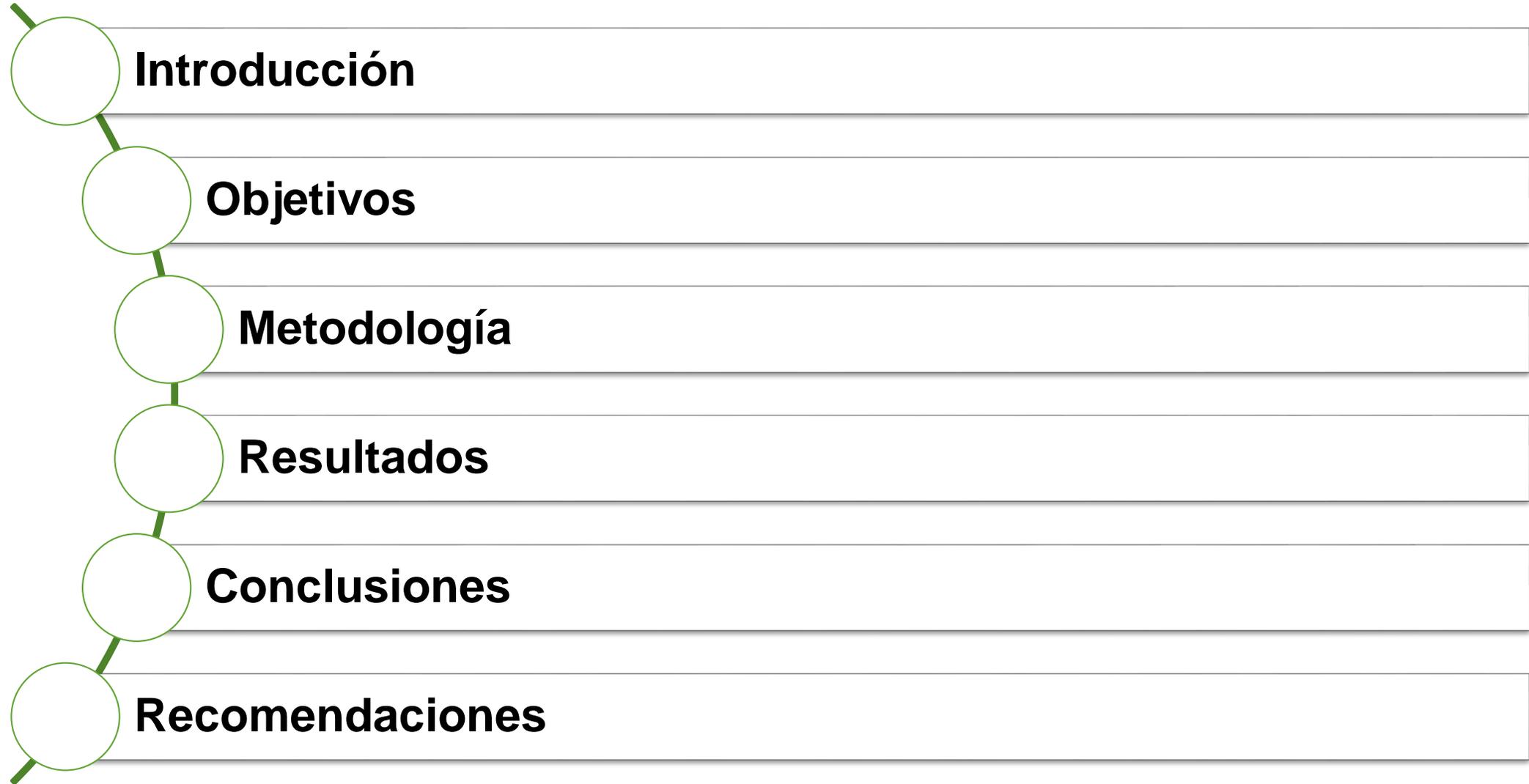
Elaborado por: Cañadas Rivadeneira, Andrea Estefania

Directora: Jadán Guerrero, Mónica Beatriz Ph.D.

Sangolquí, 25 de agosto de 2022

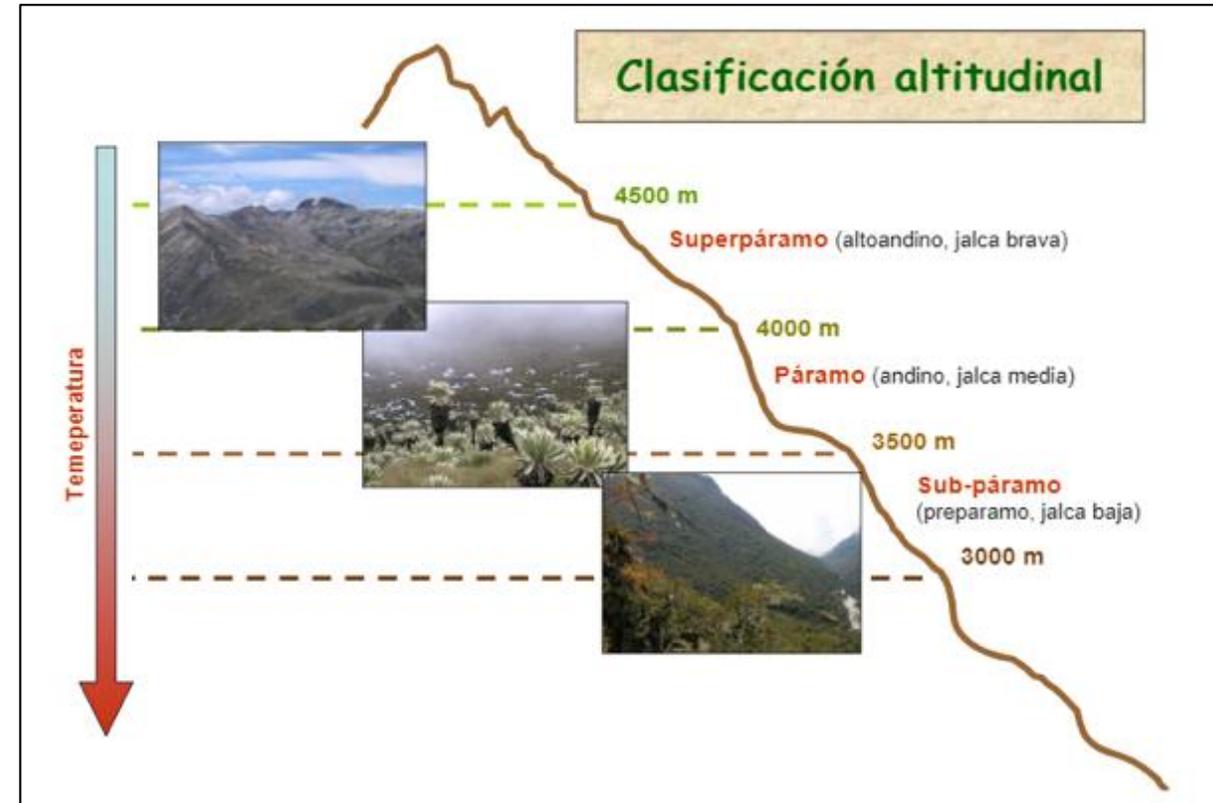


CONTENIDO





Área de Conservación Hídrica Antisana

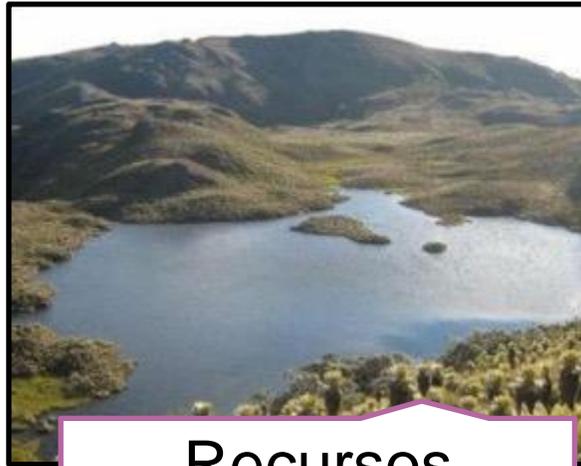


Clasificación altitudinal del páramo

Importancia



Suelo



Recursos
Hídricos



Flora y Fauna



Almacenamiento
de carbono

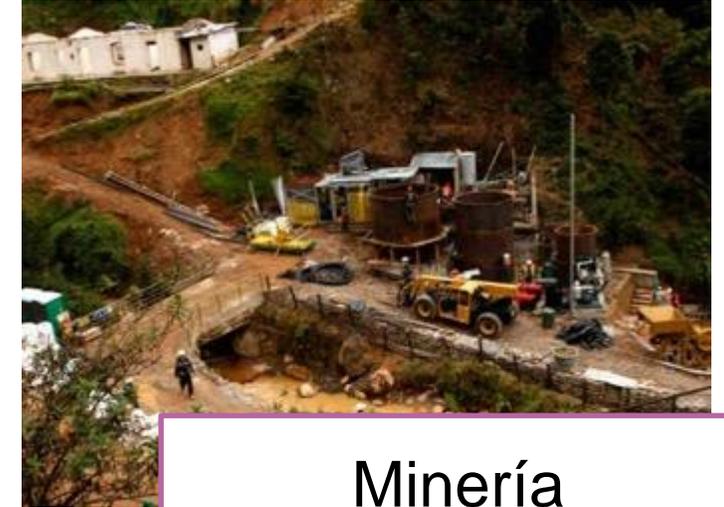
Amenazas del paramo



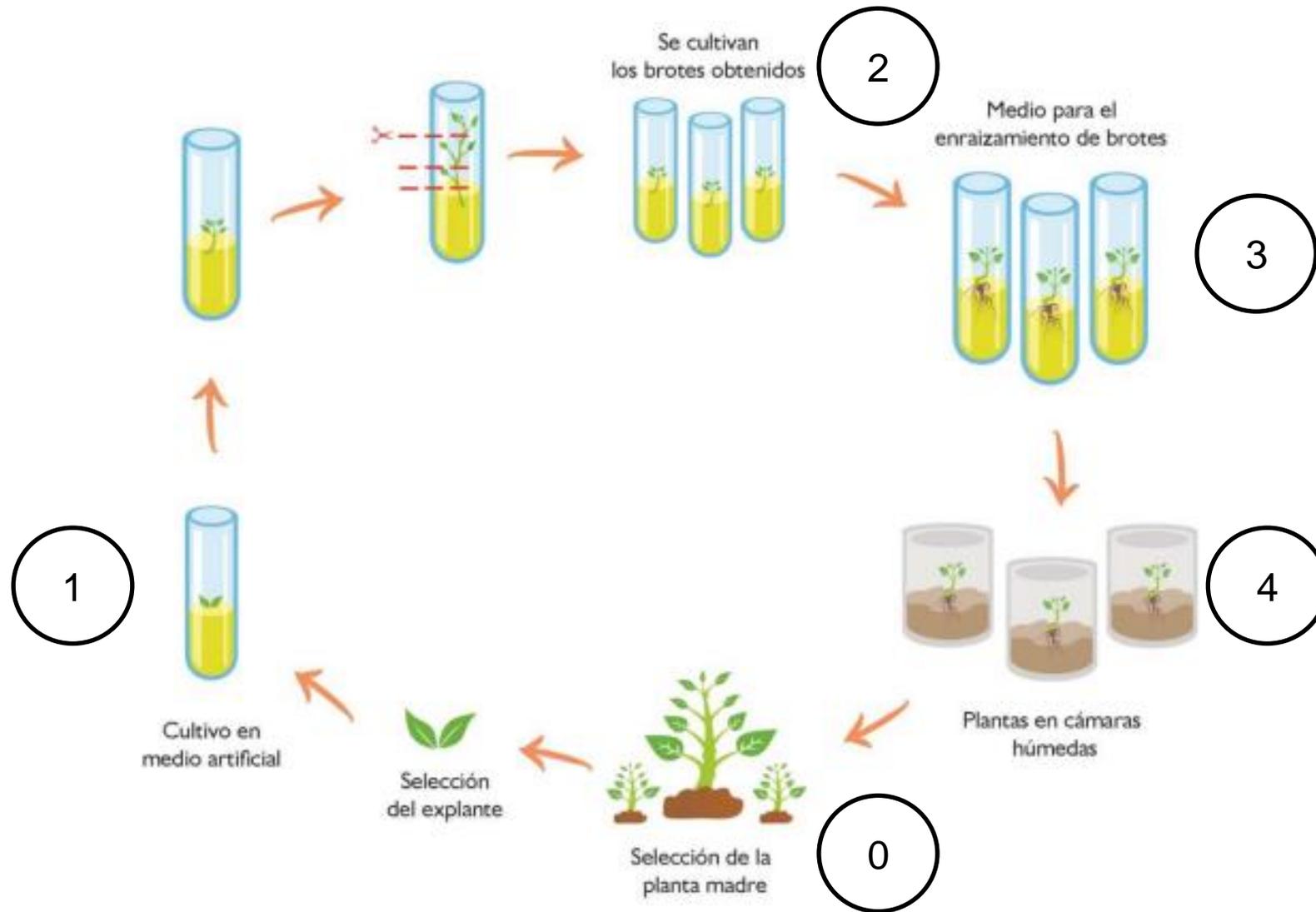
Quema y pastoreo



Reforestación



Minería

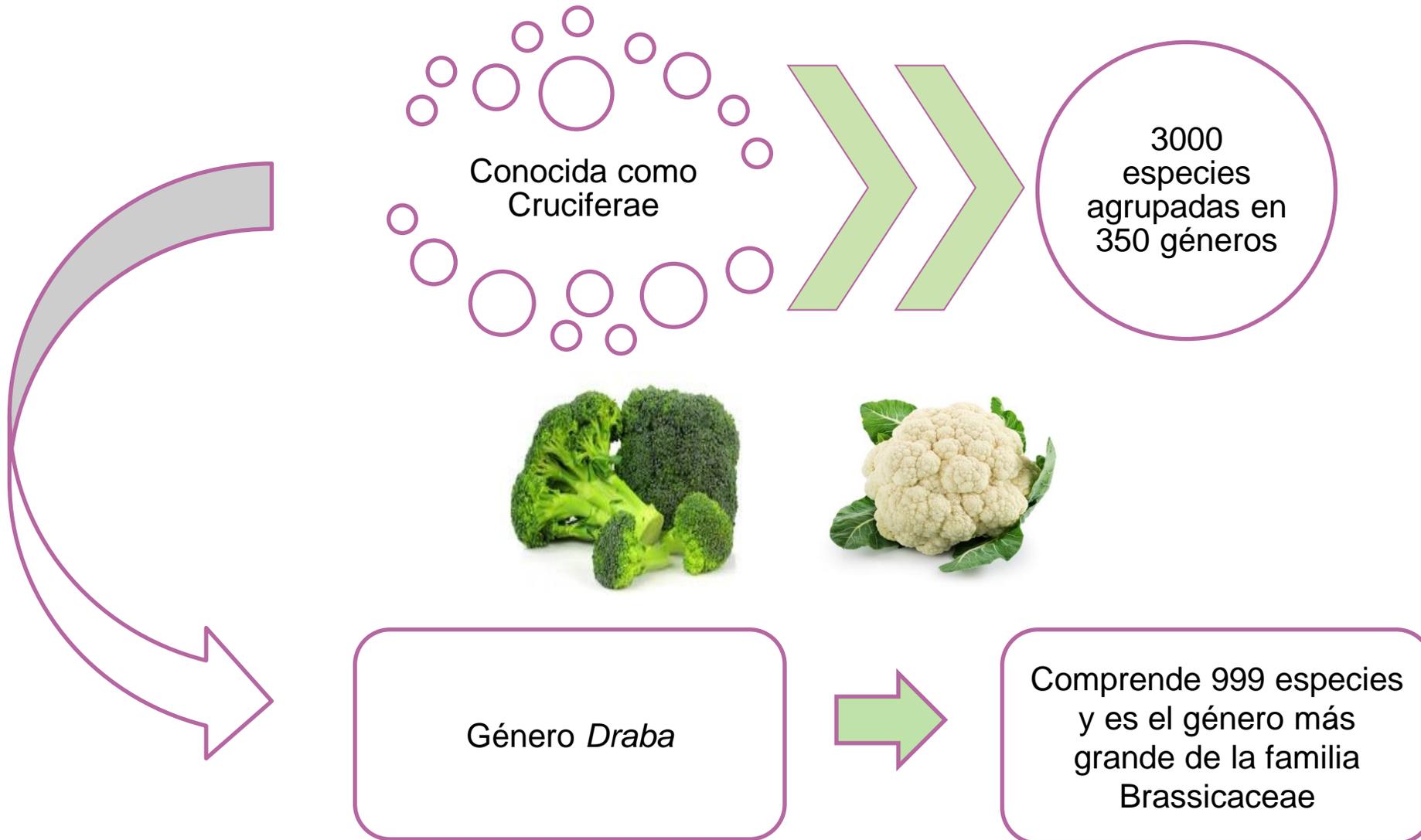




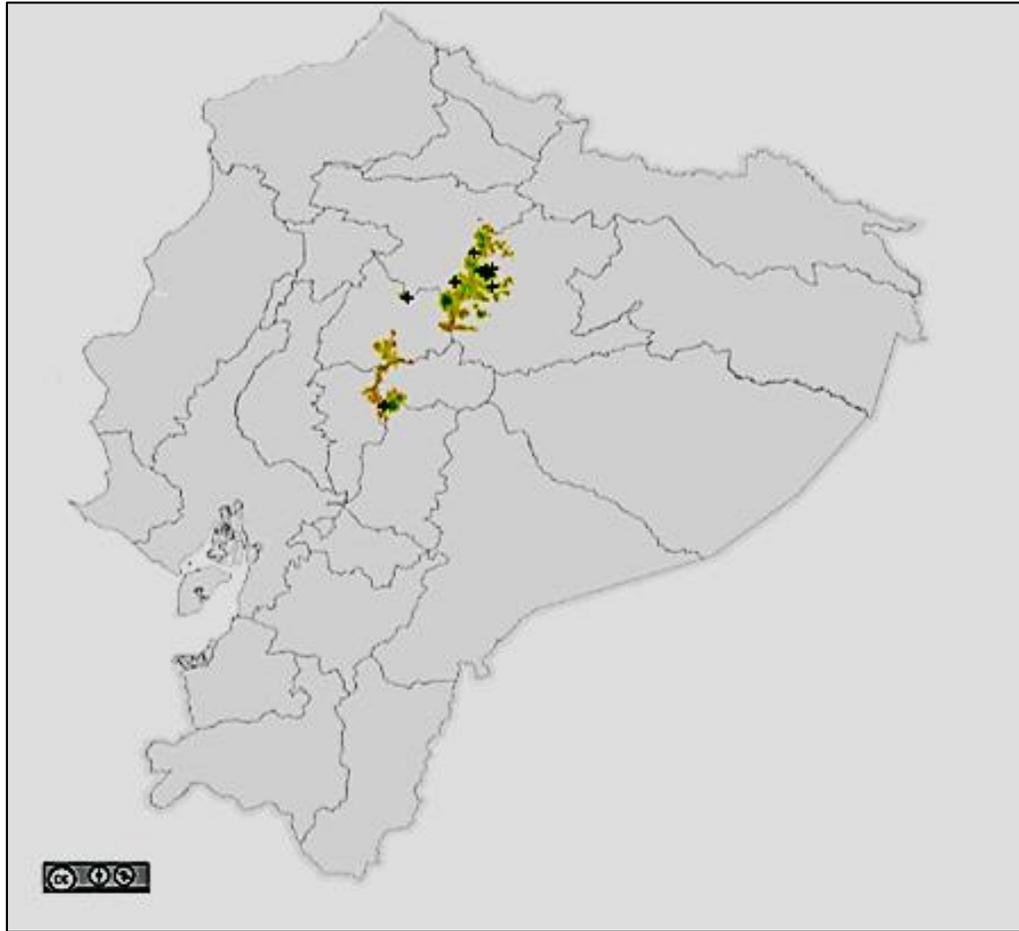
Planta *Draba obovata* Benth

Taxonomía de la especie *Draba obovata* Benth.

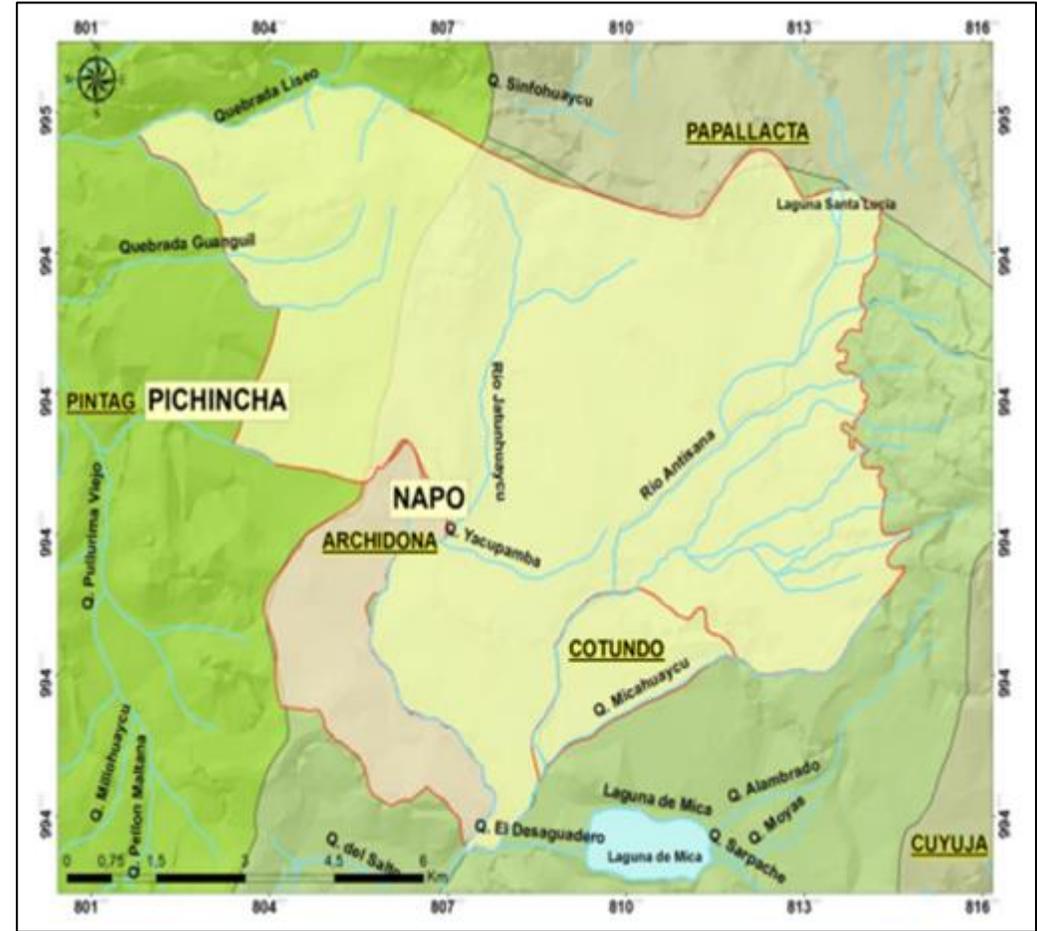
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Subfilo	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Brassicales
Familia	Brassicaceae
Tribu	Arabidae
Género	<i>Draba</i>
Especie	<i>Draba obovata</i> Benth.



INTRODUCCIÓN



Distribución geográfica de la planta *Draba obovata* Benth en el Ecuador



Localización geográfica de Área de Conservación Hídrica Antisana

Hojas



Tipo de hojas de la especie *Draba obovata* Benth.

Inflorescencias



Inflorescencias de la planta *Draba obovata* Benth.

Fruto y semillas



Fruto de la planta *Draba obovata*. Benth.

OBJETIVOS

General

Establecer *in vitro* *Draba obovata* Benth. con miras a procesos de restauración ecológica en el Área de Conservación Hídrica Antisana



OBJETIVOS

Específicos

- Estandarizar el protocolo de desinfección óptimo para las semillas de *Draba obovata* Benth.
- Establecer el medio de cultivo para la germinación *in vitro* de las semillas de *Draba obovata* Benth.
- Determinar el medio de cultivo para la multiplicación *in vitro* de los brotes de *Draba obovata* Benth.
- Establecer el medio de cultivo para el enraizamiento *in vitro* de los explantes de *Draba obovata* Benth.

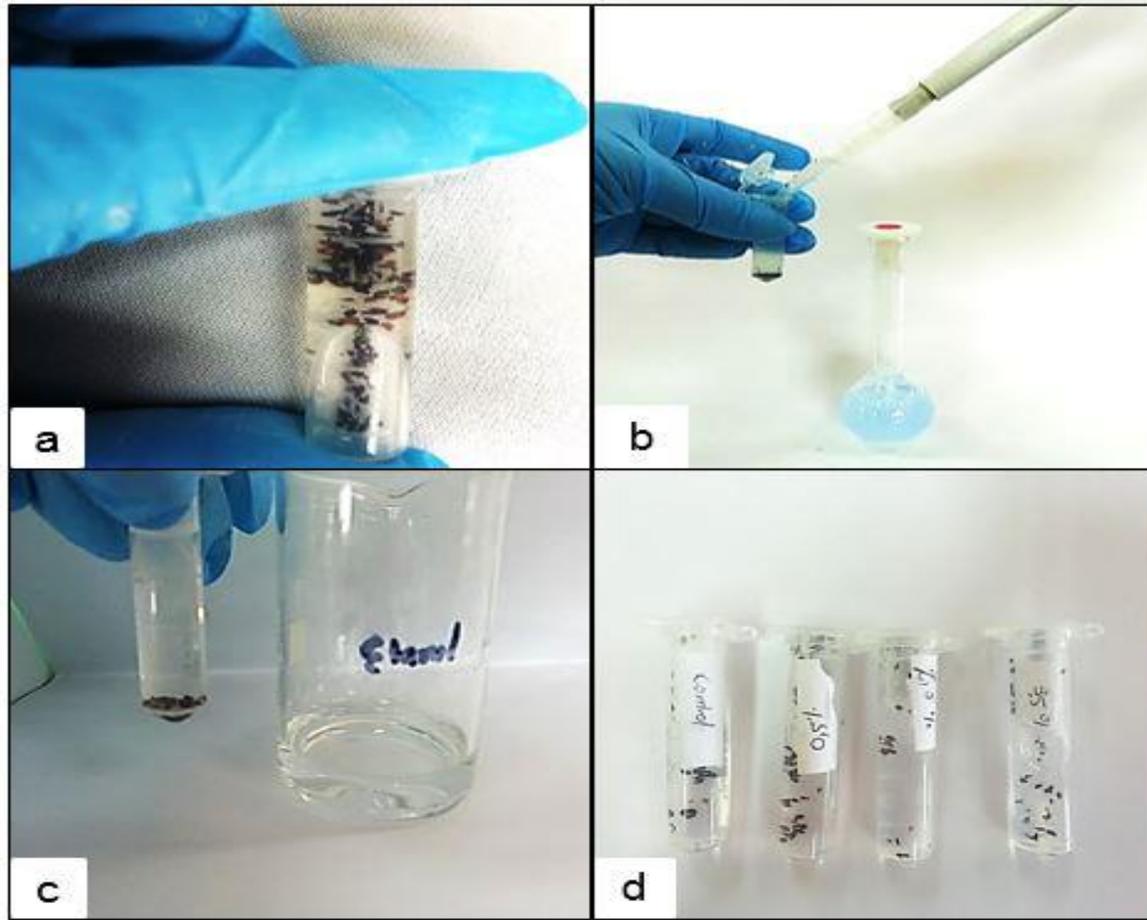




Muestreo de *Draba obovata* Benth. **a.** Área de recolección “Arenal 2”, **b.** Semillas en estado maduro, **c.** Repto presente en semillas

METODOLOGÍA

Fase de laboratorio - Desinfección de semillas

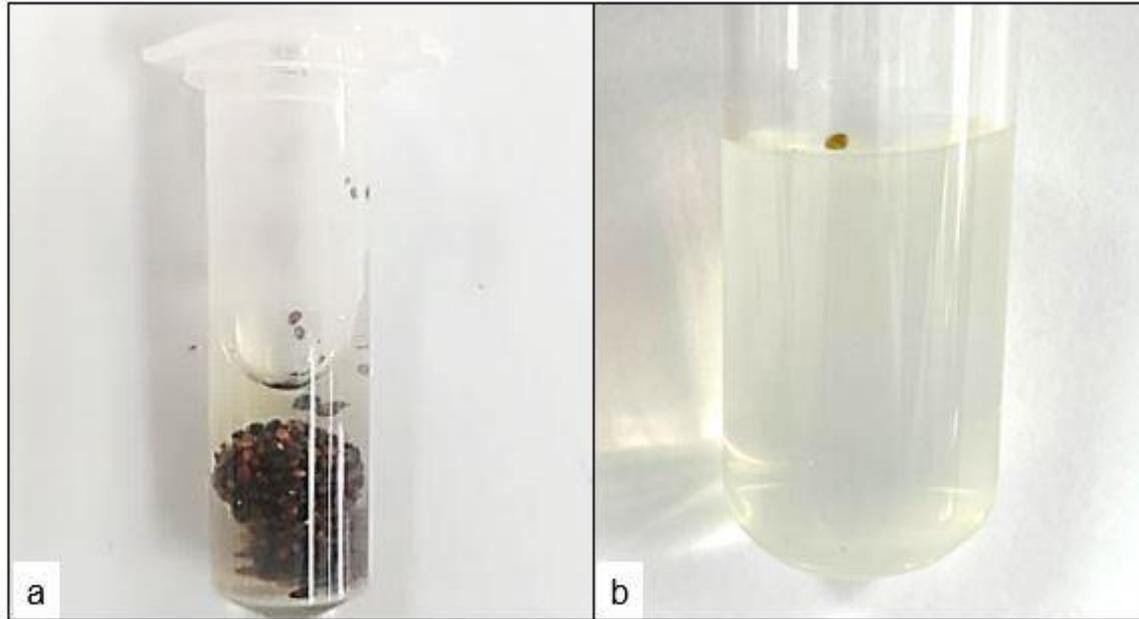


Proceso de desinfección de semillas de *Draba obovata* Benth. **a.** Semillas en agua corriente **b.** Semillas en solución de detergente 2%, **c.** Semillas en solución de etanol al 70% **d.** semillas en diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio.

Tratamientos de desinfección para las semillas de Draba obovata Benth.

Tratamiento	NaClO* (% v/v)	Tiempo de inmersión
		(minutos)
T1	0.5	5
T2	2.5	5
T3	3.5	5
T4	0.5	10
T5	2.5	10
T6	3.5	10

* NaClO : Hipoclorito de sodio

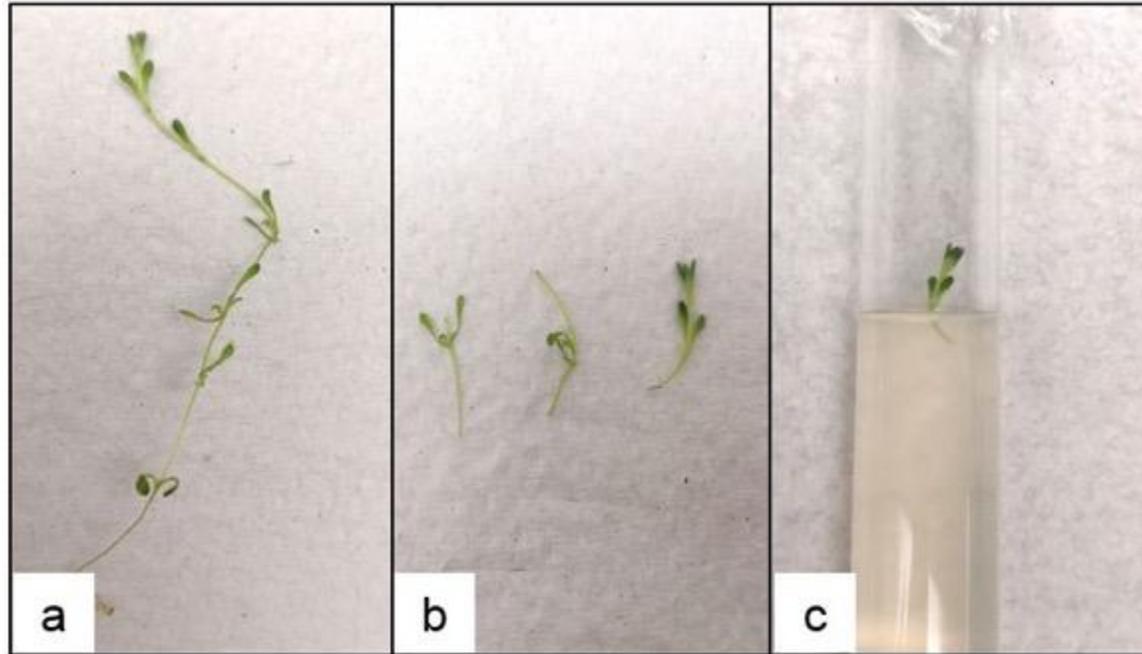


Germinación de semillas de *Draba obovata* Benth. **a.** Semillas de *Draba obovata* Benth. antes de la introducción **b.** Semillas de *Draba obovata* Benth. en medio de germinación.

Tratamientos de germinación para las semillas de Draba obovata Benth.

Tratamiento	MS* (%)	Concentración de sacarosa (g/L)
G1	50	15
G2	50	30
G3	50	40
G4	50	50
G5	50	60
G6	100	30

* MS :Medio Murashige & Skoog



Multiplicación de *Draba obovata* Benth. **a.** Planta robusta **b.** Corte de los segmentos de tallo **c.** Explante introducido en medio de multiplicación

Tratamientos de multiplicación para Draba obovata Benth.

Tratamiento	6-BAP* (mg/L)	AIA** (mg/L)
M1	0.5	0.3
M2	0.5	0.5
M3	0.5	1
M4	3	0.3
M5	3	0.5
M6	3	1

* 6-BAP :6-Bencilaminopurina

** AIA : Ácido indol-3-acético



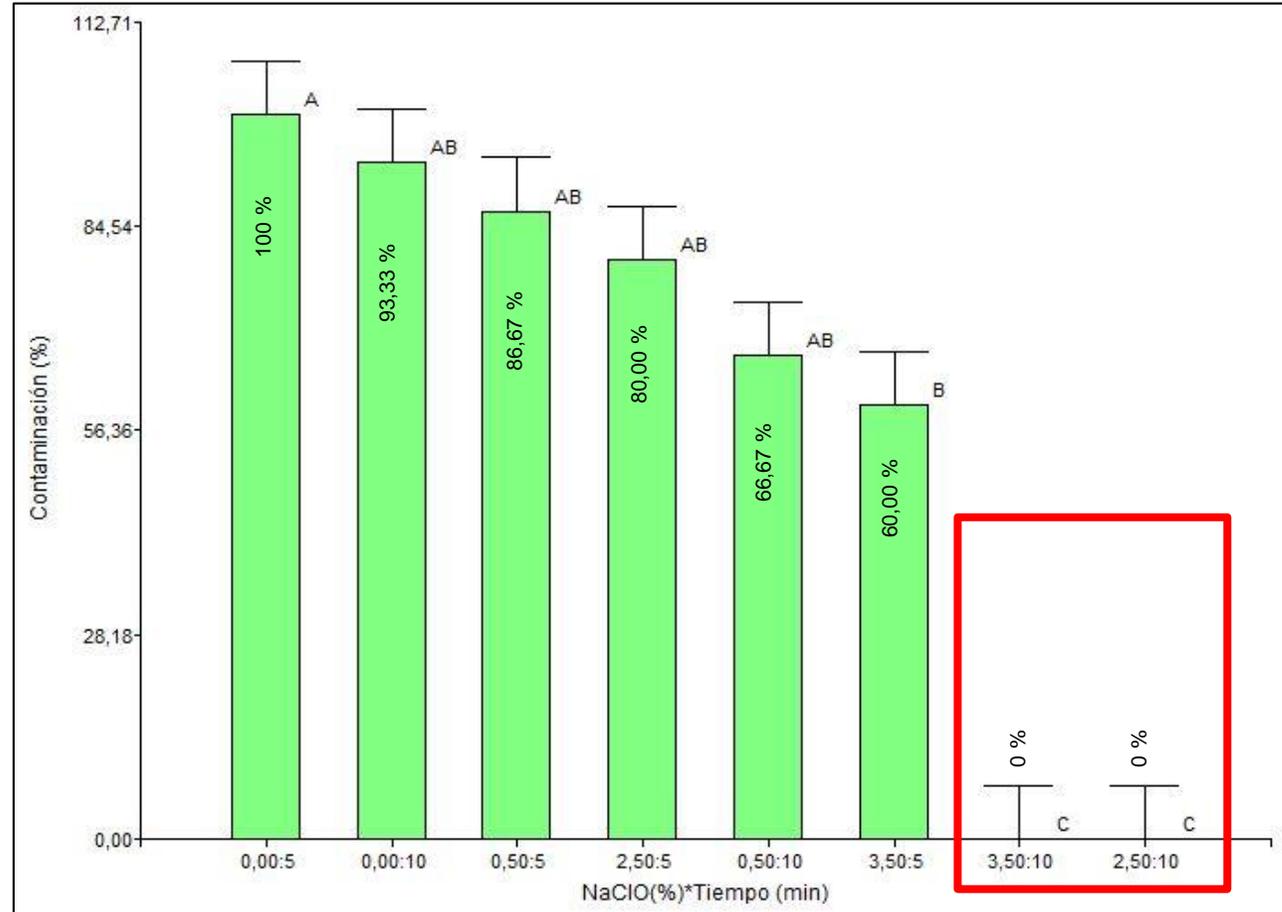
Enraizamiento de *Draba obovata* Benth, **a.** Obtención de explantes de *Draba obovata* Benth, **b.** Siembra de explantes de *Draba obovata* Benth.

Tratamientos de enraizamiento para *Draba obovata* Benth.

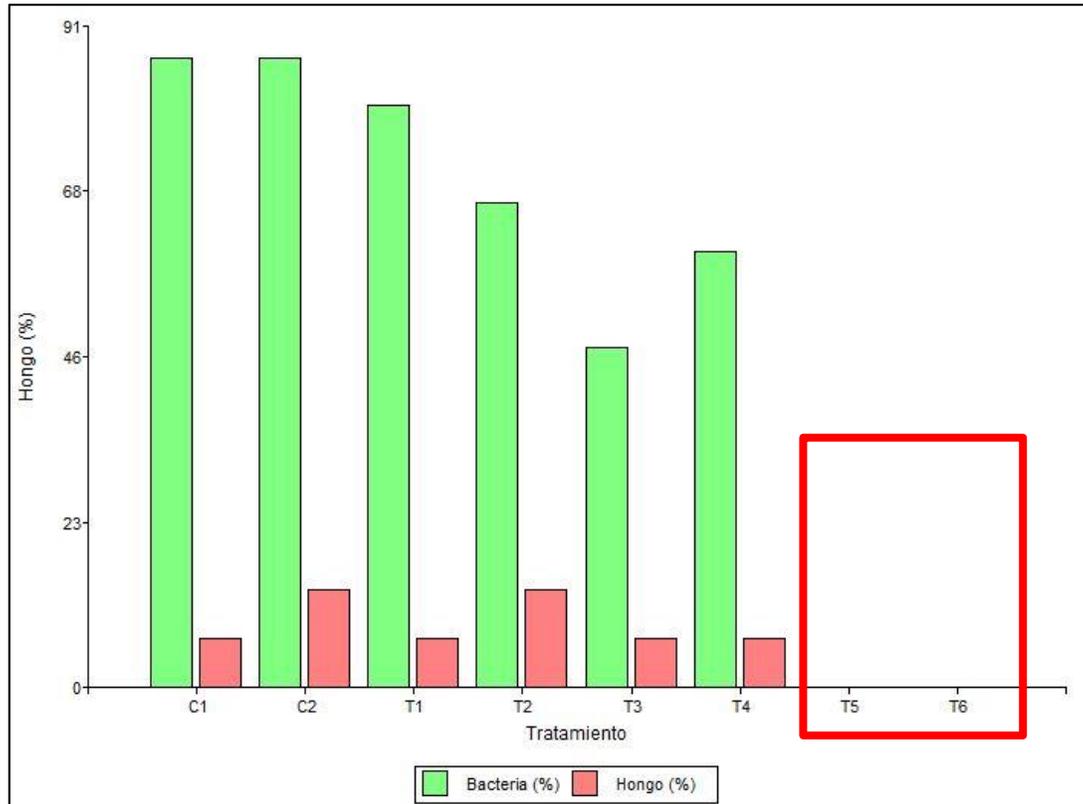
Tratamiento	AIA* (mg/L)
E1	0.2
E2	0.5
E3	1

*AIA : ácido indol-3-acético

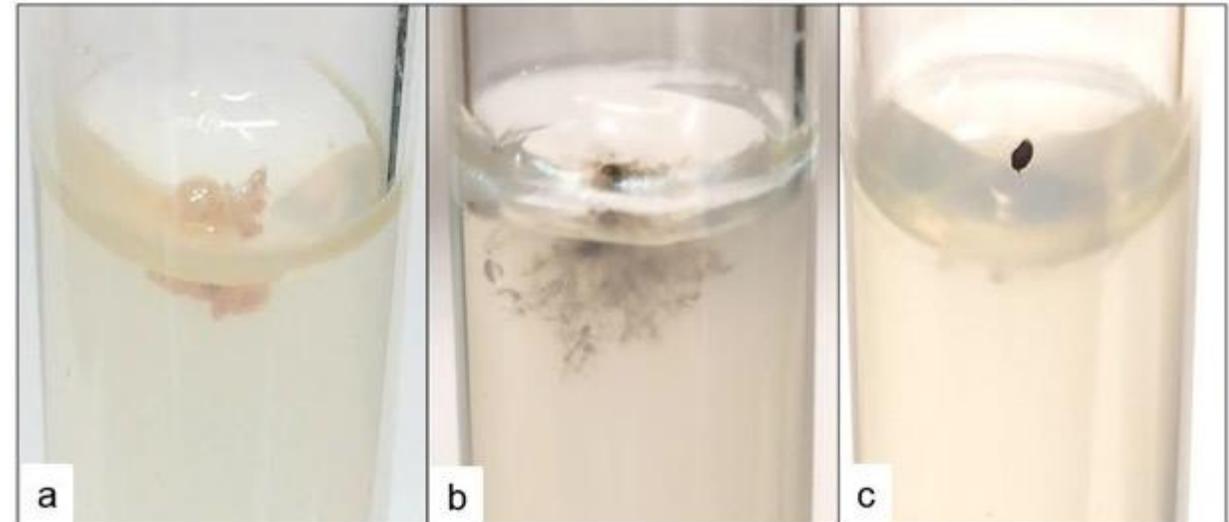
Porcentaje de contaminación



Porcentaje de contaminación en semillas de *Draba obovata* Benth.

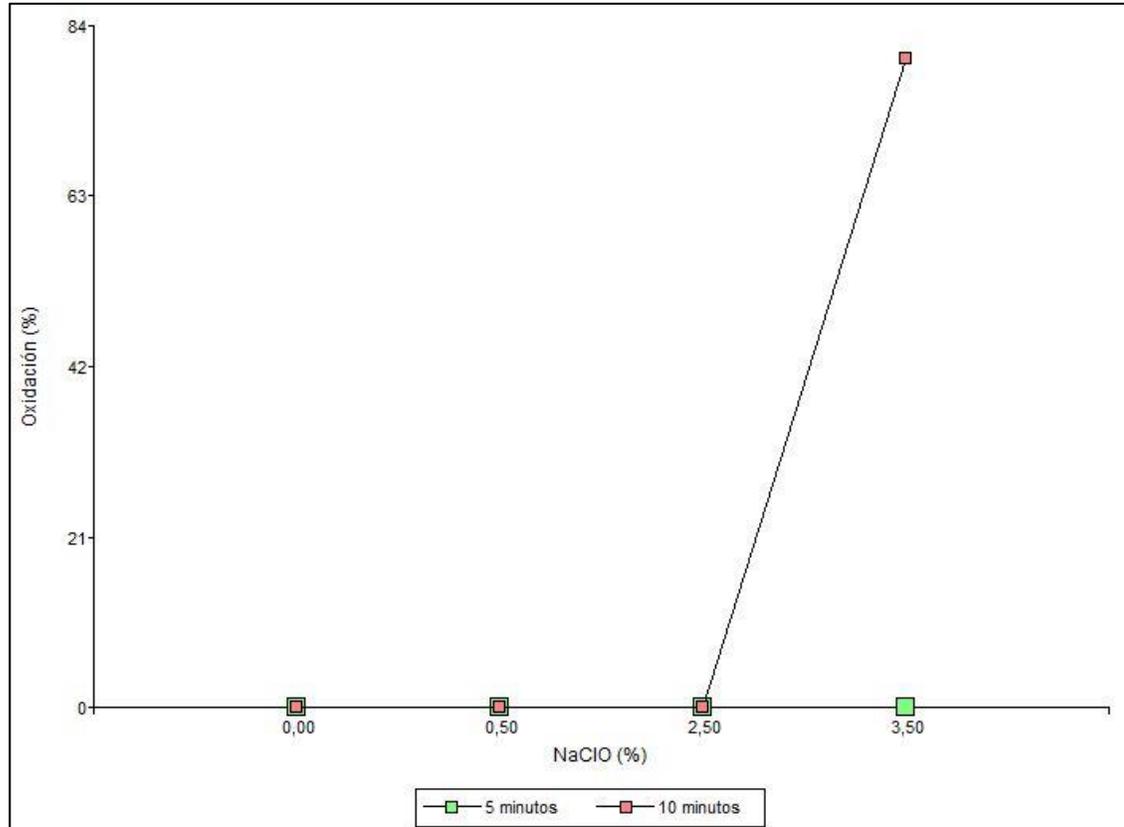


Contaminación por Bacteria y Hongo en las semillas de *Draba obovata* Benth.

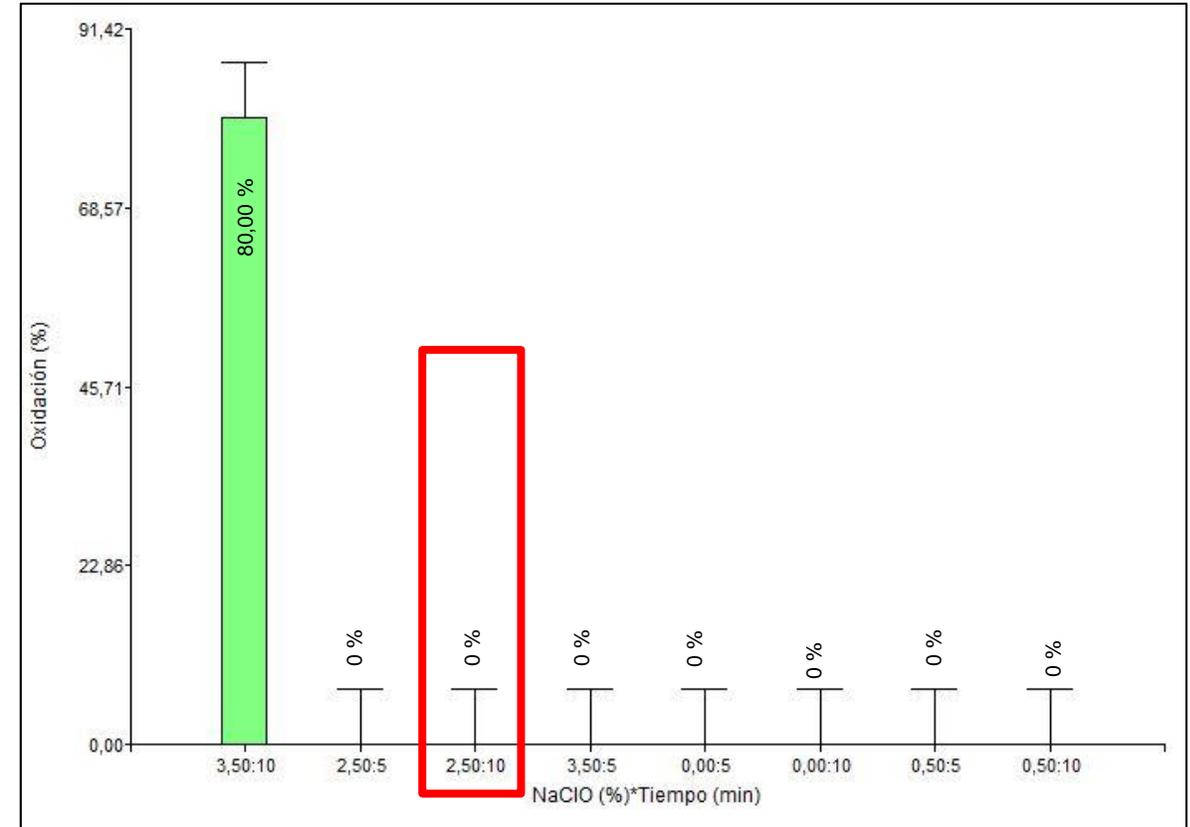


Contaminación observada en las semillas de *Draba obovata* Benth., donde, **a)** Contaminación por bacteria. **b)** Contaminación por hongo. **c)** Semilla no contaminada

Porcentaje de oxidación

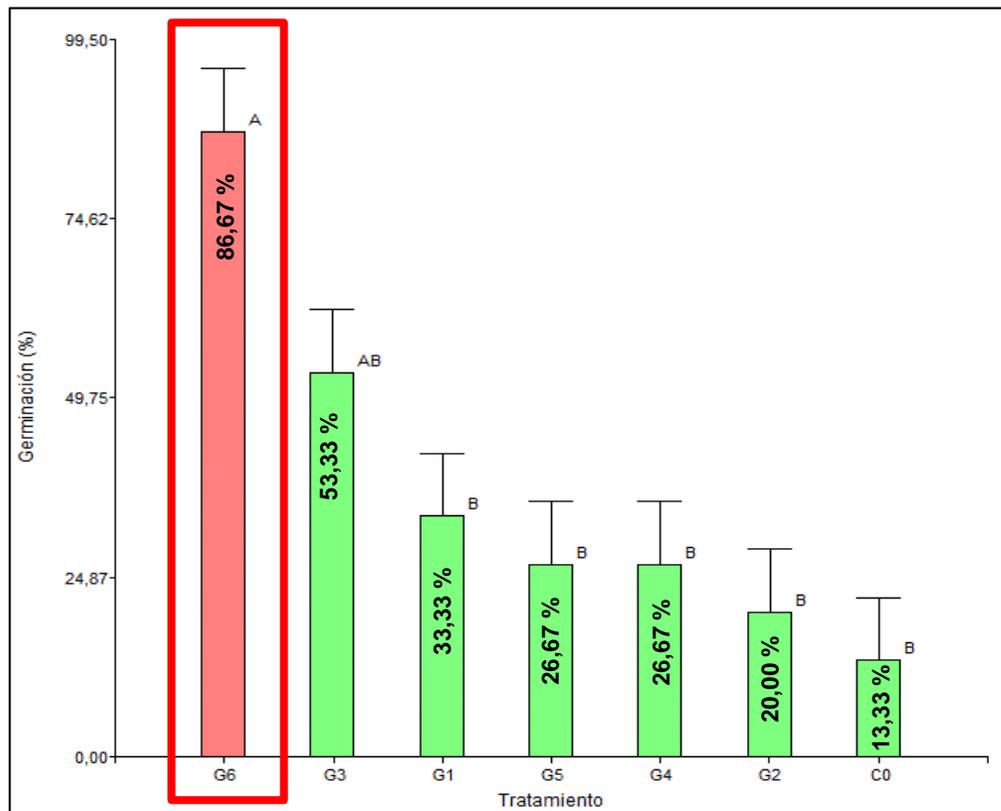


Interacción entre los factores concentración de Hipoclorito de Sodio y tiempo en la variable porcentaje de oxidación.

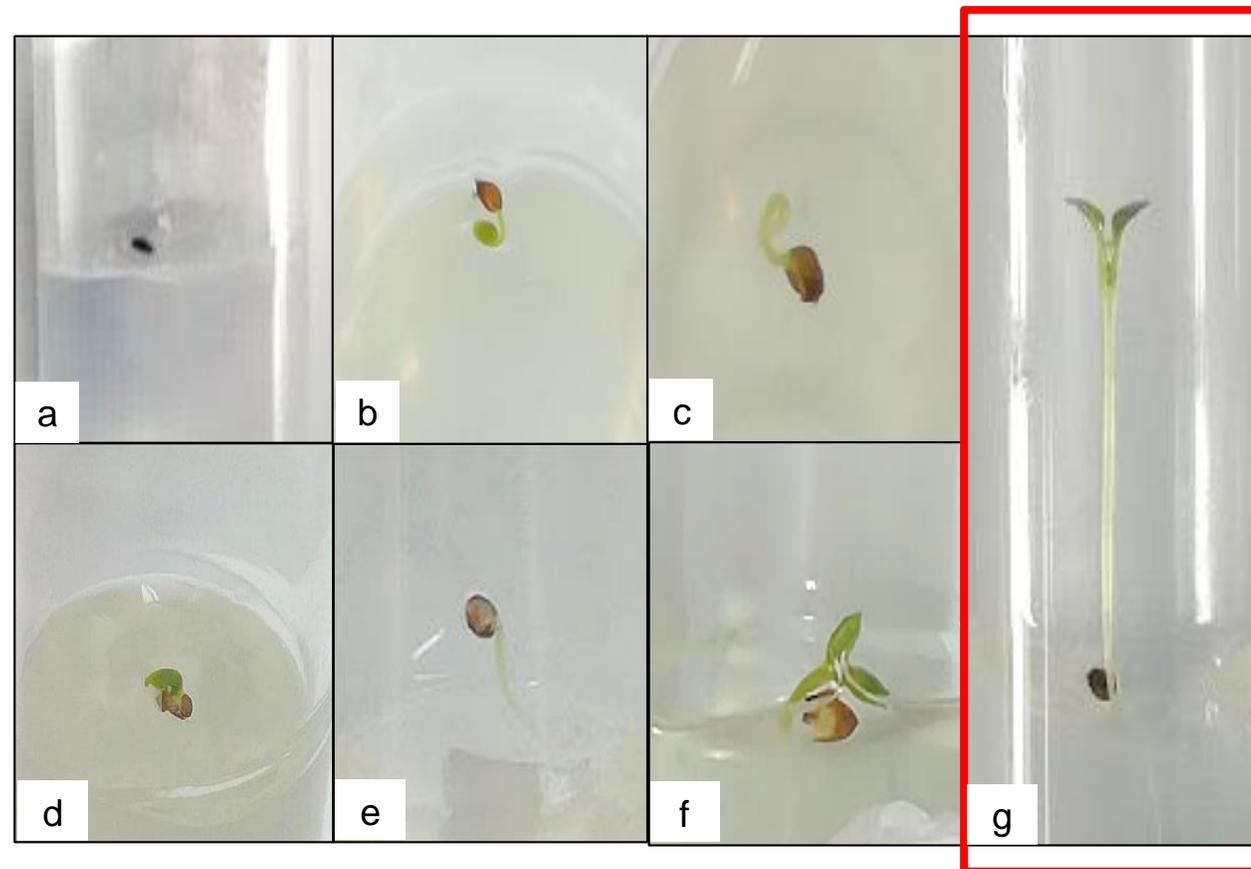


Porcentaje de oxidación en semillas de *Draba obovata* Benth.

Porcentaje de germinación

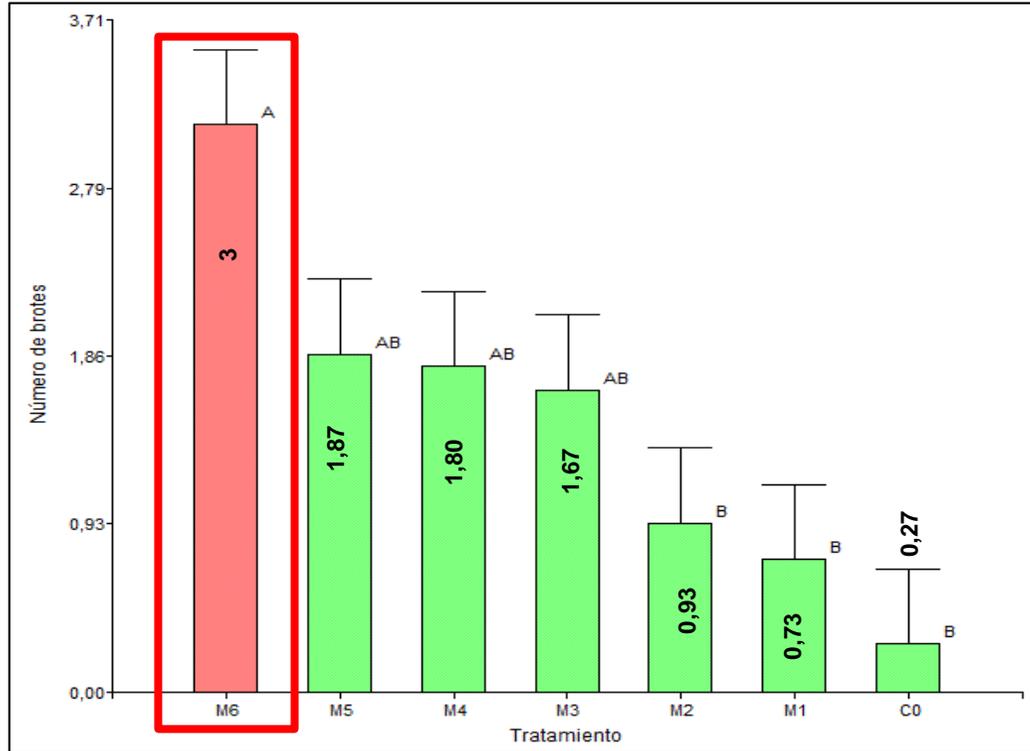


Mejor tratamiento obtenido para la variable porcentaje de germinación en *Draba obovata* Benth.

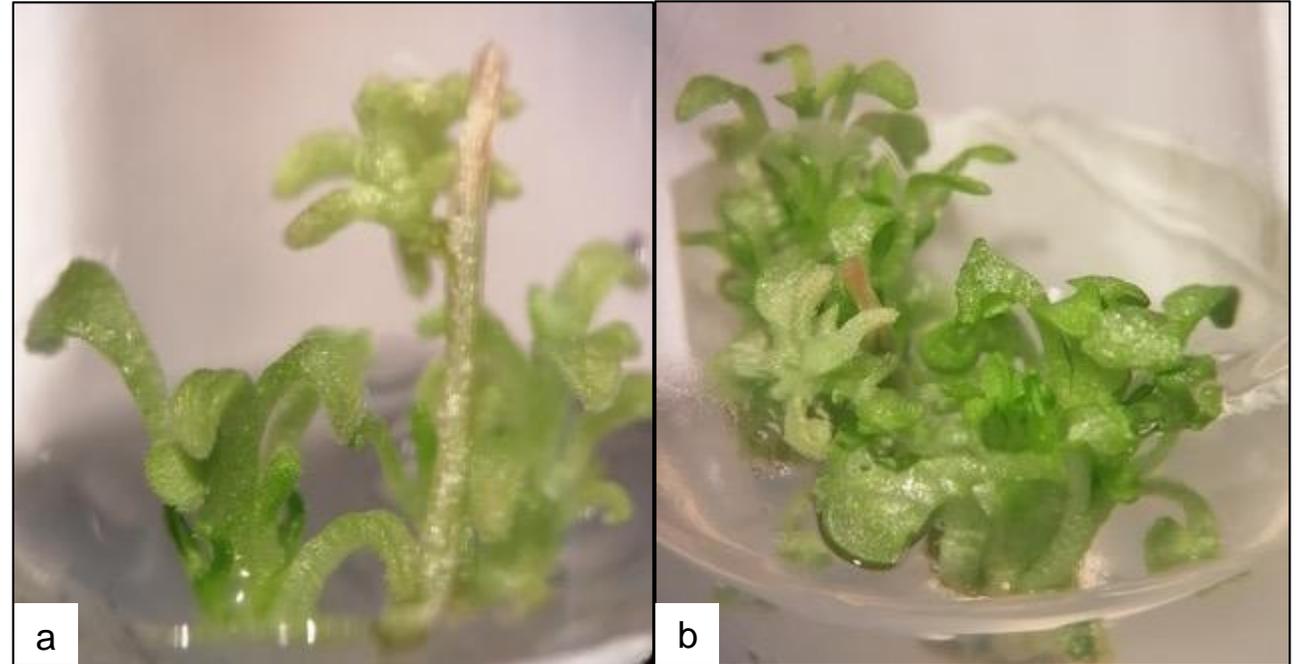


Germinación de semillas de *Draba obovata* Benth. en cada tratamiento aplicado. a. control b. G1. c. G2. d. G3. e. G4. f. G5. g. G6.

Número de brotes

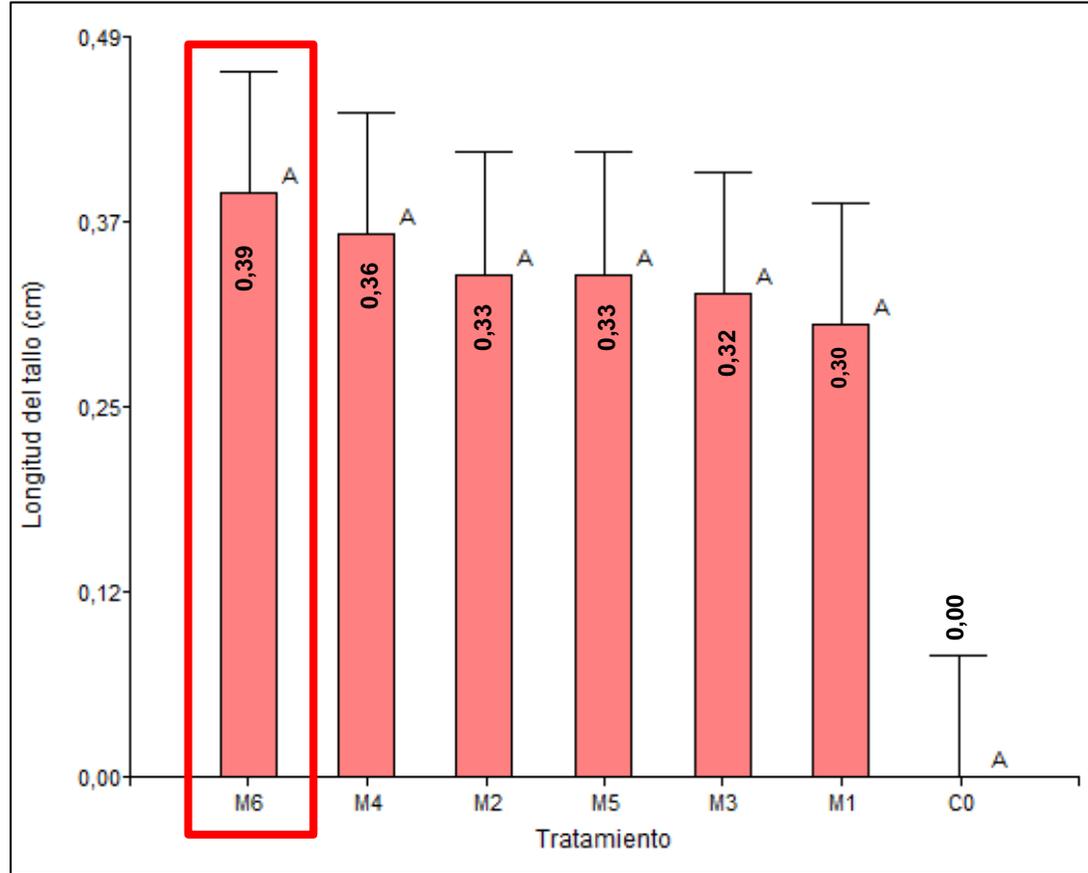


Mejor tratamiento obtenido para la variable número de brotes en *Draba obovata* Benth.



Desarrollo de brotes en *Draba obovata* Benth. con el tratamiento M6. **a.** antes del tratamiento M6. **b.** después de 30 días del tratamiento

Longitud del tallo

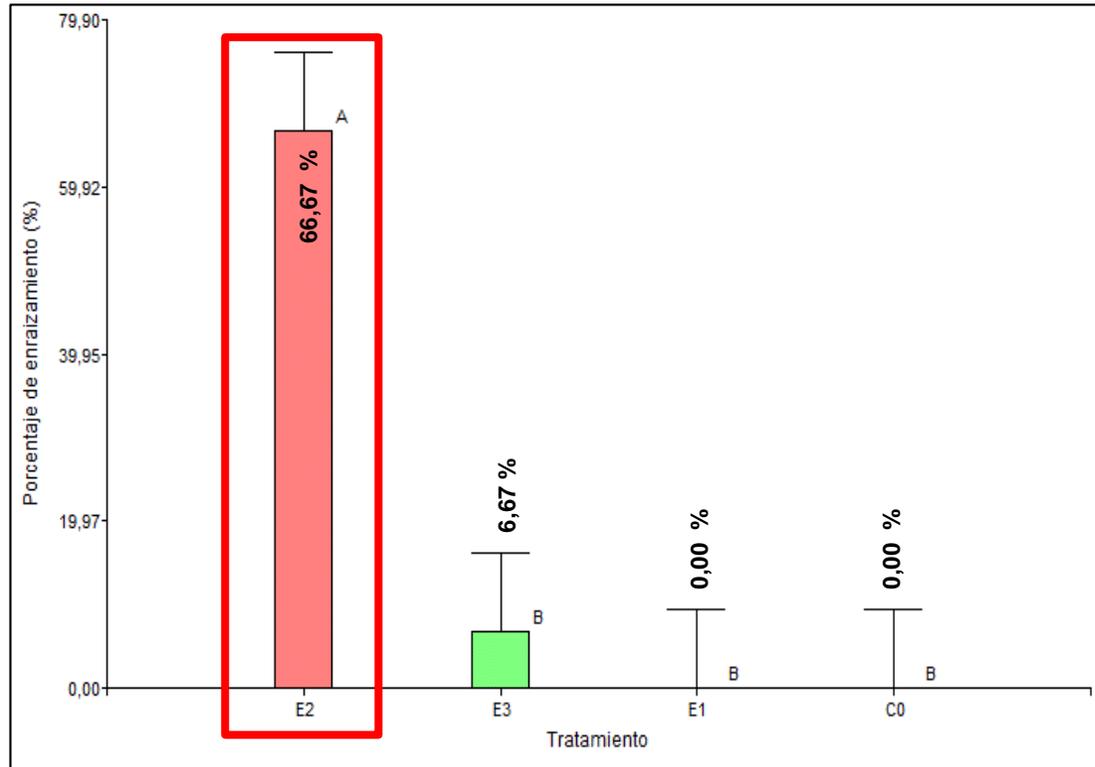


Longitud de tallo en *Draba obovata* Benth.



Segmentos de tallo de *Draba obovata* Benth. con el tratamiento M6. **a.** Inicio del tratamiento. **b.** Después de 30 días del tratamiento

Porcentaje de Enraizamiento



Mejor tratamiento obtenido para la variable porcentaje de enraizamiento en *Draba obovata* Benth.



Explantes enraizados de *Draba obovata* Benth. con el tratamiento E2

CONCLUSIONES

- El protocolo de desinfección óptimo para las semillas de *Draba obovata* Benth. consto de detergente al 2% durante 15 minutos, seguido de etanol al 70% durante 1 minuto y una **concentración de 2.5 % de hipoclorito de sodio**, con un **tiempo de inmersión de 10 minutos** (tratamiento T5), se obtuvo un **porcentaje de contaminación y oxidación del 0%**.
- Para la etapa de germinación *in vitro* de las semillas de *Draba obovata* Benth. se estableció el medio de cultivo **MS al 100% suplementado con 30 g/L de sacarosa** (tratamiento G6), con un **porcentaje de germinación del 86.67%**.



CONCLUSIONES

- En la etapa de multiplicación la mejor combinación de hormonas vegetales fue con una **concentración de 3 mg/L BAP y 1 mg/L AIA** (tratamiento M6), en donde se obtuvo un **promedio de 3.13 brotes** por explante.
- El tratamiento E2 con una **concentración de 0.5 mg/L de AIA**, resultó efectivo para el desarrollo de raíces en explantes de *Draba obovata* Benth. con un porcentaje de **enraizamiento de 66.67%**.



RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de otros agentes descontaminantes como el **hipoclorito de calcio** que es ampliamente utilizado en ciertas especies de la familia Brassicaceae para el proceso de desinfección de semillas y otros tipos de explantes empleados en el cultivo *in vitro*.
- En el caso de que las semillas presenten latencia se pueden utilizar **tratamientos pre germinativos** que permiten romper esta latencia. Los cuales pueden ser aplicados antes o después del tratamiento de desinfección y cuyo objetivo principal es mejorar la tasa de germinación de las semillas.



RECOMENDACIONES

- Para la etapa de multiplicación se recomienda la combinación de **BAP con otras auxinas como ANA**, que han dado buenos resultados en diferentes especies pertenecientes a la familia Brassicaceae, de tal manera que se pueda establecer nuevas combinaciones para **la inducción de brotes y elongación de tallos** en *Draba obovata* Benth.
- Para la etapa de enraizamiento se recomienda utilizar otras auxinas, como el **ANA**, que ha sido utilizado en otras especies de la familia Brassicaceae, obteniendo porcentajes de **explantes enraizados cercanos al 100%**. De tal manera, que se pueda determinar la auxina óptima que genere mayores porcentajes de explantes enraizados de *Draba obovata* Benth.



AGRADECIMIENTOS



Mónica Jadán Guerrero, Ph.D.
Jefe del Laboratorio de Cultivo de Tejidos

María Claudia Segovia Salcedo, Ph.D.
Co-directora del Proyecto de Investigación

Andrea Ortega
Técnica del Laboratorio de Cultivo de Tejidos

Tesistas y pasantes
Laboratorio de Cultivo de Tejidos

Familia y amigos