



**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**

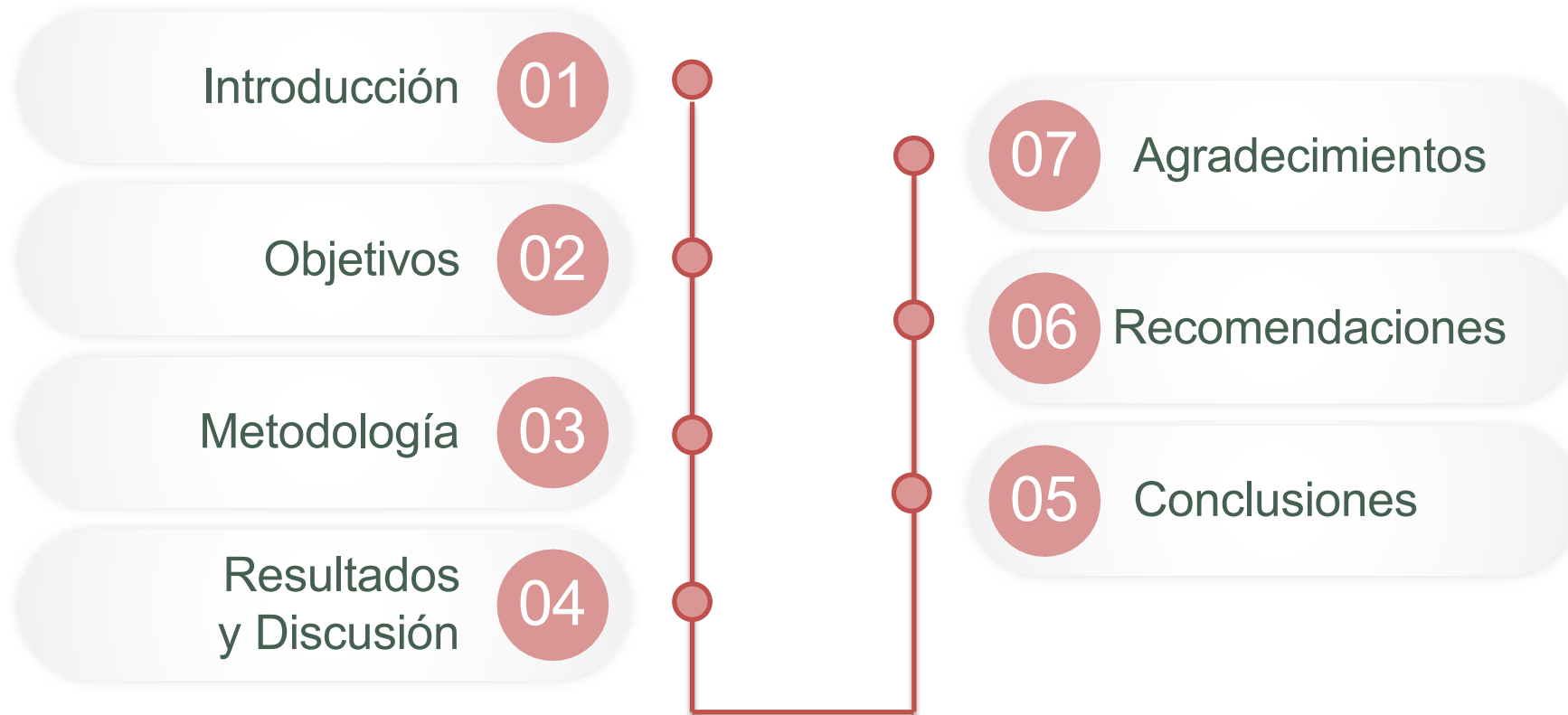
**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

**“Estandarización de un protocolo de propagación *in vitro* para *Eryngium “Blue”* empleando un Sistema de Inmersión Temporal tipo BIT en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Flores del Valle S.A. Valleflor”**

**Elaborado por:** Naranjo López, María Daniela  
**Directora:** Jadán Guerrero, Mónica Beatriz Ph.D.  
**Sangolquí, 2023**



# ÍNDICE DE CONTENIDO



1

# INTRODUCCIÓN

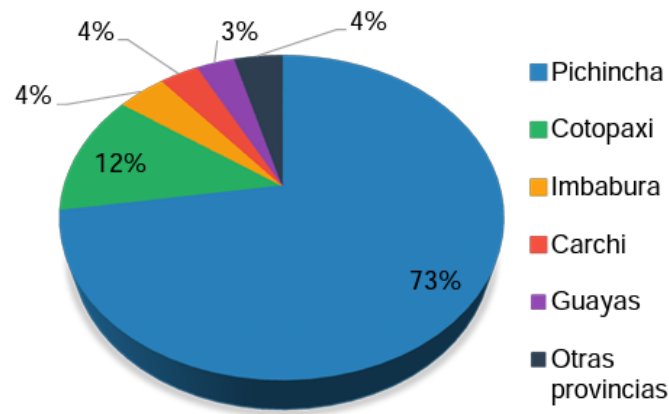


# INTRODUCCIÓN

Número de Empresas y de Empleados

Tamaño de empresa	# Empresas 2020	# Empleados 2020
Grande	35	18,851
Mediana	80	8,074
Pequeña	55	1,502
Microempresa	65	348
ND	2	0
<b>Total</b>	<b>237</b>	<b>28,775</b>

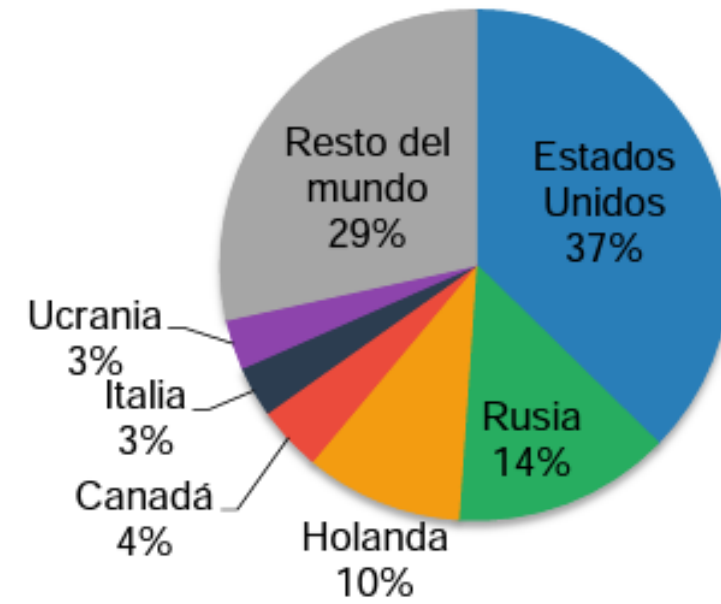
Participación (%) del # de empresas de cultivo de flores 2020



4,5% Participación exportaciones no petroleras



Participación de los países de destino de las Exportaciones 2020



## Reporte estadístico EXPOFLORES Diciembre 2022

	Valor FOB Millones de dólares	Crecimiento Valor	Toneladas	Crecimiento Volumen	Participación en Valor
 Rosas	577	5% ▲	104.284	-0,05% ▼	73%
 Flores de verano	99	3% ▲	15.117	-8% ▼	13%
 Gypsophila	56	1% ▲	8.378	-4% ▼	7%
 Flores preservadas	19	-23% ▼	429	-49% ▼	2%
 Claveles	19	12% ▲	3.362	-2% ▼	2%
 Alstroemeria	6	-2% ▼	1.275	-12% ▼	1%
 Crisantemos	5	-20% ▼	904	0,04% ▲	1%
 Lirios	5	-44% ▼	665	-43% ▼	1%



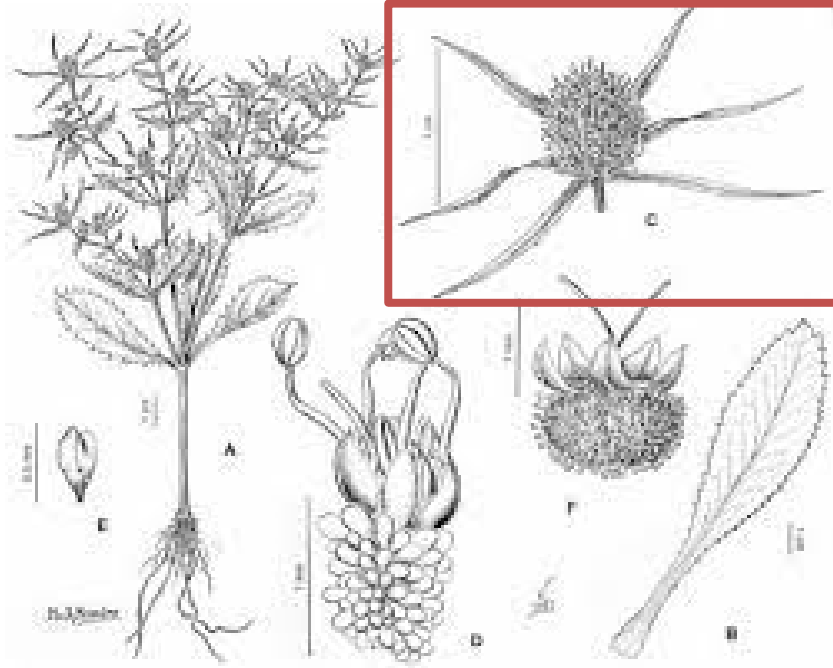
¿El Sistema de Inmersión Temporal es ventajoso para aumentar la tasa de multiplicación *in vitro* de *Eryngium* “Blue” frente al método de propagación convencional?



# INTRODUCCIÓN

*Eryngium* "Blue"

Flores erectas

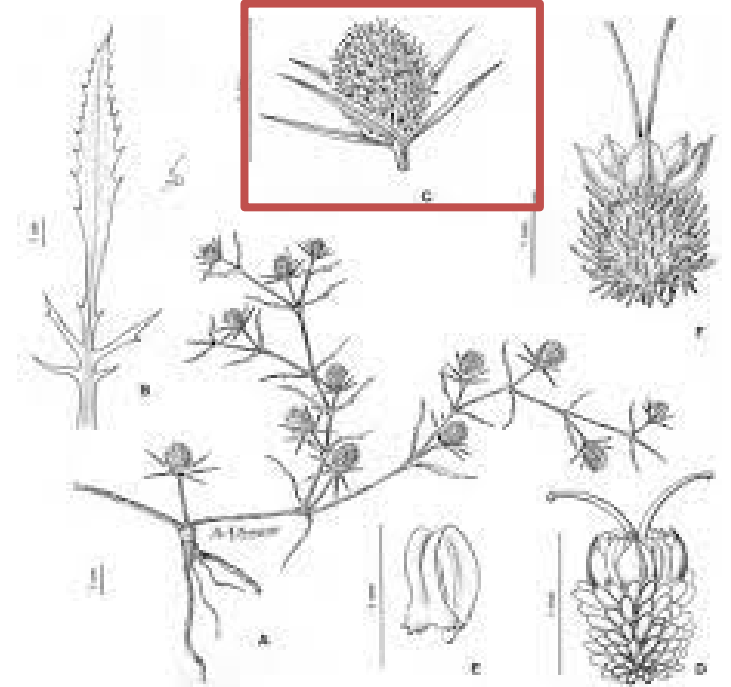


A) Cabezuelas brácteas



B) Florescencia

Flores postradas



C) Pétalos

## Taxonomía

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Subfamilia	Saniculoideae
Género	<i>Eryngium</i>

## Distribución Geográfica



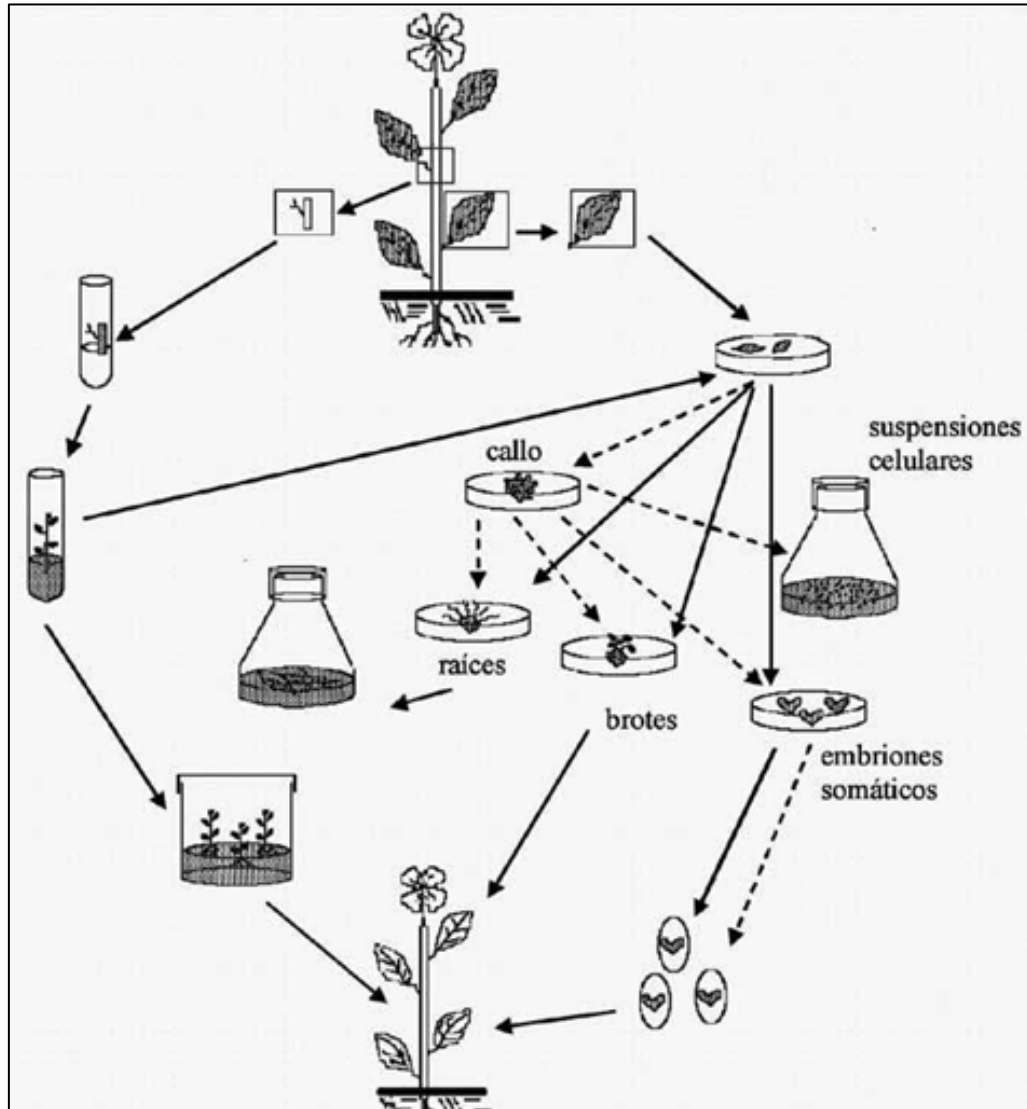
La familia contiene alrededor de 435 géneros y 3780 especies



- Actividades citotóxicas
- Dolencias al tracto digestivo y ginecológico



- Considerada una de las mejores flores de verano



- Micropropagación a través de explantes con meristemos pre-establecidos
- Organogénesis directa
- Organogénesis indirecta
- Embriogénesis somática
- Microinjertos
- Cultivo de embriones



# INTRODUCCIÓN

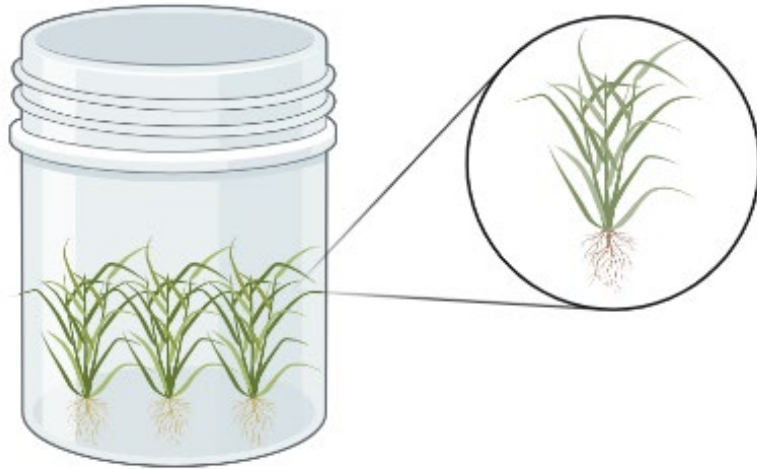
## Micropropagación a través de explantes con meristemos pre-establecidos



# INTRODUCCIÓN

## Micropropagación a través de explantes con meristemos pre-establecidos

4

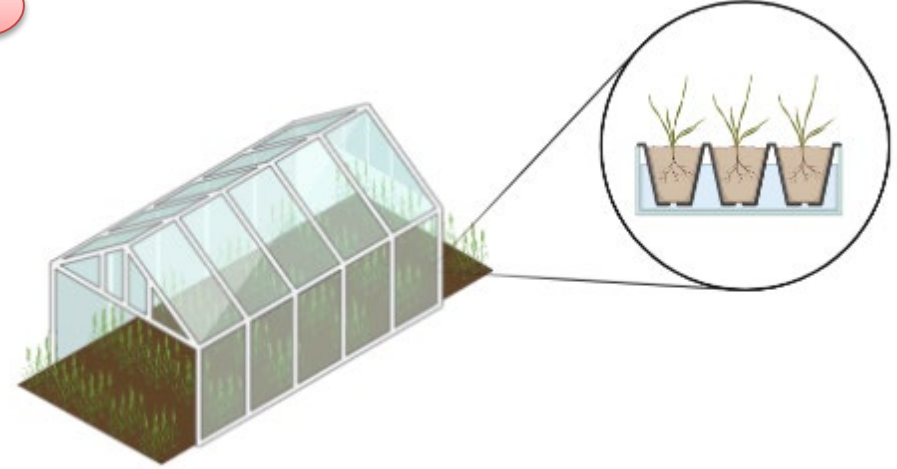


**Enraizamiento**



Auxinas  
Estimular rizogénesis  
Ciclo más costoso

5



**Aclimatación**

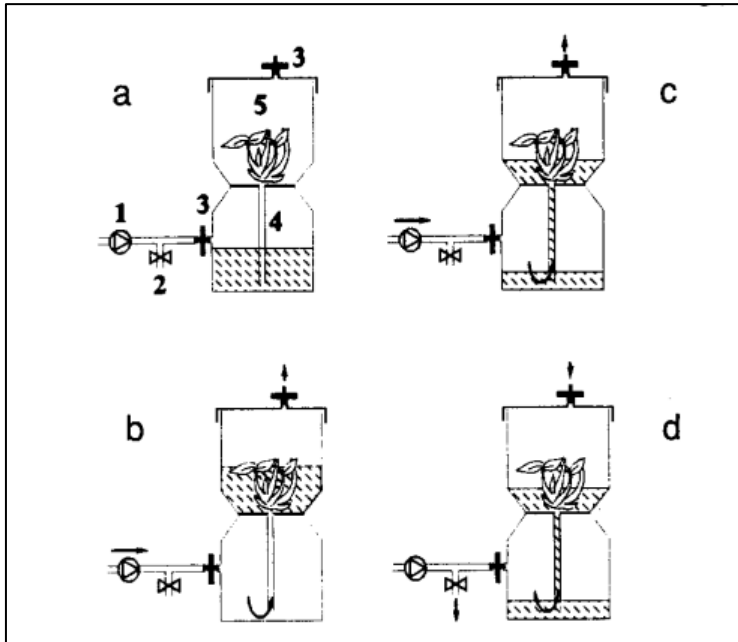


Endurecimiento en  
invernadero



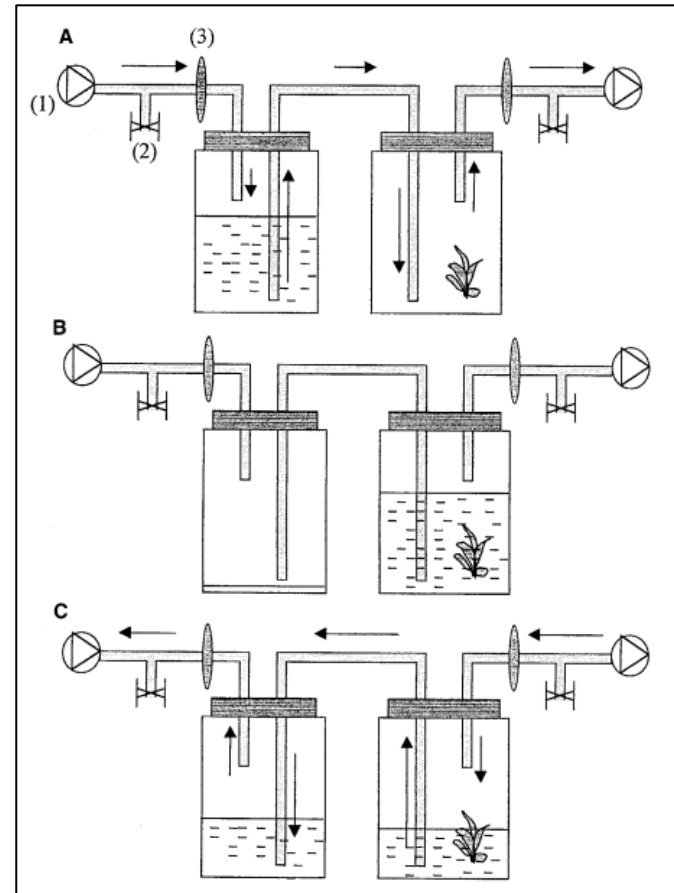
Bajo desarrollo de cloroplastos  
Alta tasa de transpiración

### SIT tipo RITA



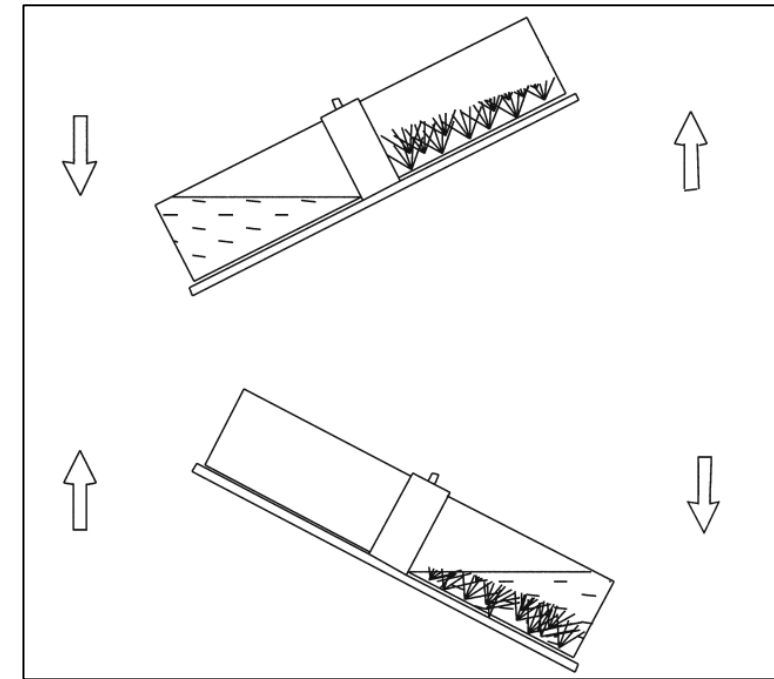
Utilizado en la micropropagación de frutales y especies ornamentales incrementando en un rango de 20 a 70% la tasa de multiplicación

### SIT tipo BIT



SIT de frascos gemelos

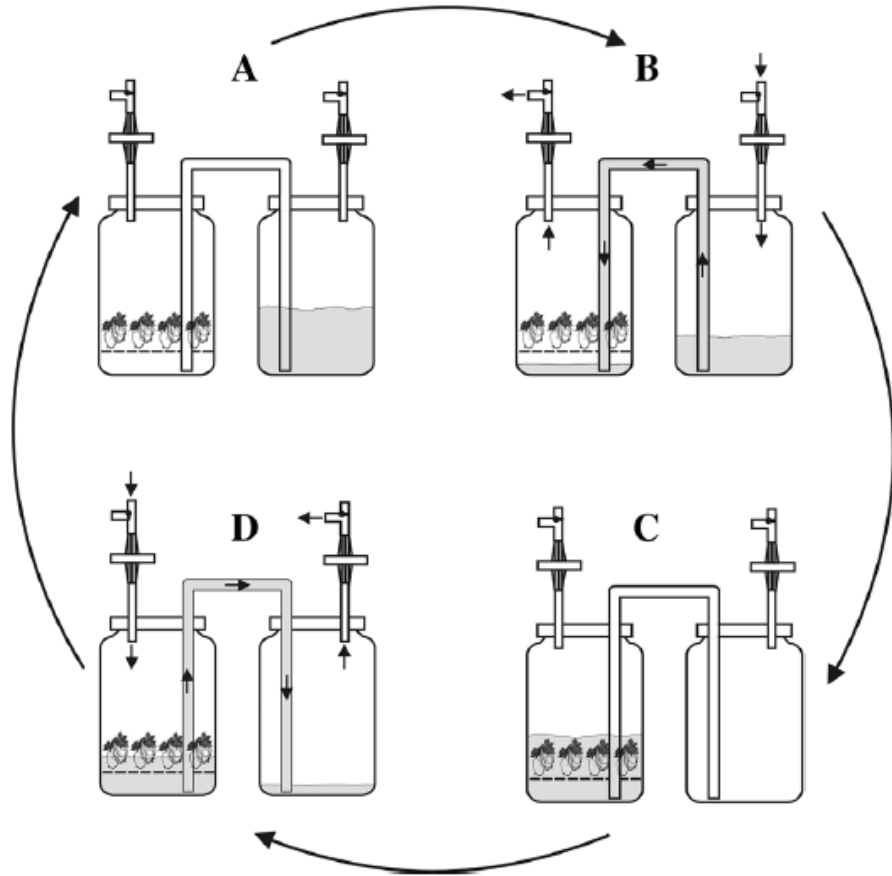
### SIT tipo BioMINT



SIT discontinuado

# INTRODUCCIÓN

## Ventajas del Sistemas de inmersión temporal



Aumenta la tasa de multiplicación

Reducción de costos

Menor espacio

Impurezas del agente gelificante

Mayor superficie de contacto

Control sanidad

Aclimatación y endurecimiento



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

2

## OBJETIVOS





# OBJETIVOS

## Objetivo General

Estandarizar un protocolo de propagación *in vitro* para *Eryngium “Blue”* empleando un Sistema de Inmersión Temporal tipo BIT en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Flores del Valle S.A. Valleflor.



# OBJETIVOS

## Objetivos Específicos

- Establecer las condiciones operacionales: tiempo y frecuencia de inmersión en el sistema de inmersión temporal.
- Determinar la tasa de multiplicación más alta para *Eryngium* “Blue” en el sistema de inmersión temporal.
- Comparar la tasa de multiplicación experimental obtenida en el sistema de inmersión temporal frente a la tasa de multiplicación lograda mediante el método convencional que normalmente realiza el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Flores del Valle S.A. Valleflor.



# HIPÓTESIS

**H0:** El sistema de inmersión temporal tipo BIT no es viable para incrementar la tasa de multiplicación de *Eryngium "Blue"* en comparación con el método de propagación convencional.

**H1:** El sistema de inmersión temporal tipo BIT es viable para incrementar la tasa de multiplicación de *Eryngium "Blue"* en comparación con el método de propagación convencional.



3

## METODOLOGÍA



# METODOLOGÍA

## Introducción y Establecimiento



**Esquejes del material vegetal**



**Semiproceto I**



**Lavados con solución detergente y pesticidas**



**Semiproceto II**



**Almacenamiento cuarto de cultivo caliente**



**Establecimiento**





# METODOLOGÍA

## *Ensamblaje del Sistema de Inmersión Temporal*



**Manguera de silicona**



**Puntas de micropipetas**



**Discos de acrílico**



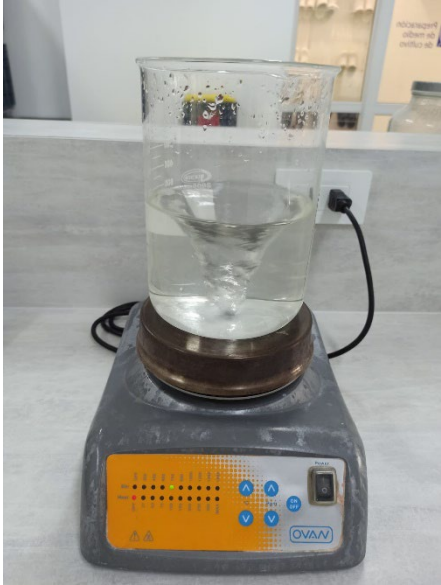
**Conectores de plástico**



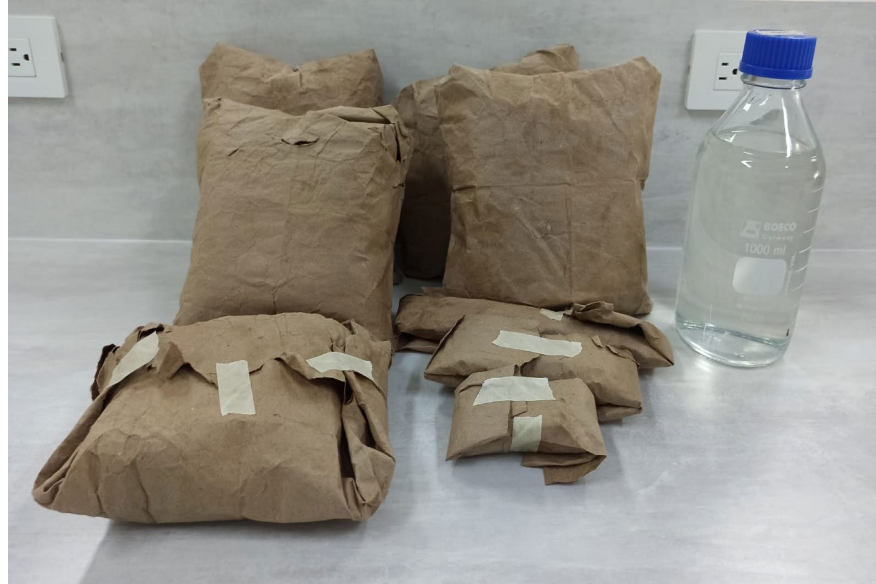
**Desinfección**



**Juego de biorreactores**



Medio de cultivo



Autoclavado



Ensamblaje



Sistema tipo BIT



Bomba de presión y compresor



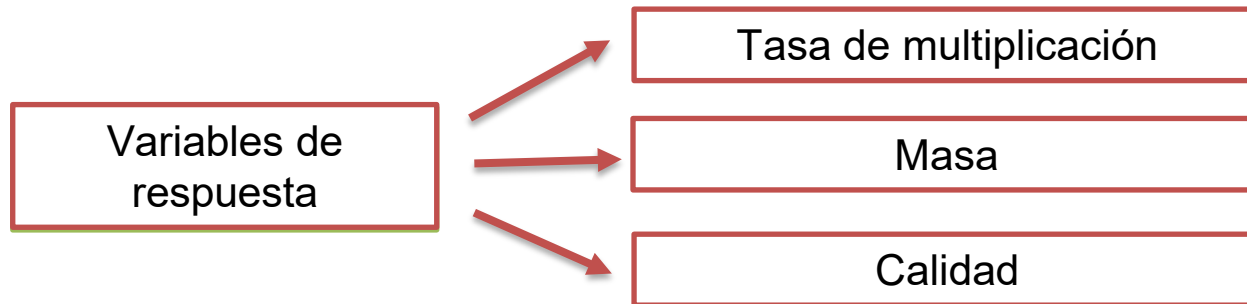
Sistema de Control PLC



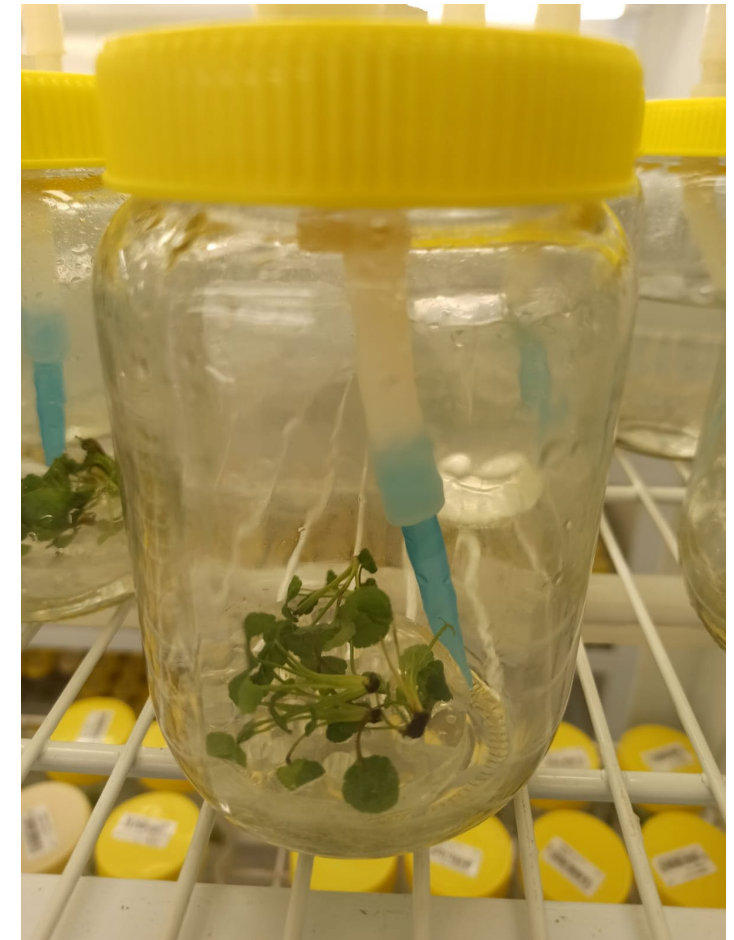


Cuatro tratamientos con dos variables independientes: tiempo y frecuencia de inmersión

Variables	Frecuencia de Inmersión	Tiempo de
	(horas)	inmersión (minutos)
F4T2	4	2
F5T2	5	2
F6T1	6	1
F6T3	6	3



Unidad experimental con 5 explantes de *Eryngium "Blue"*



4

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

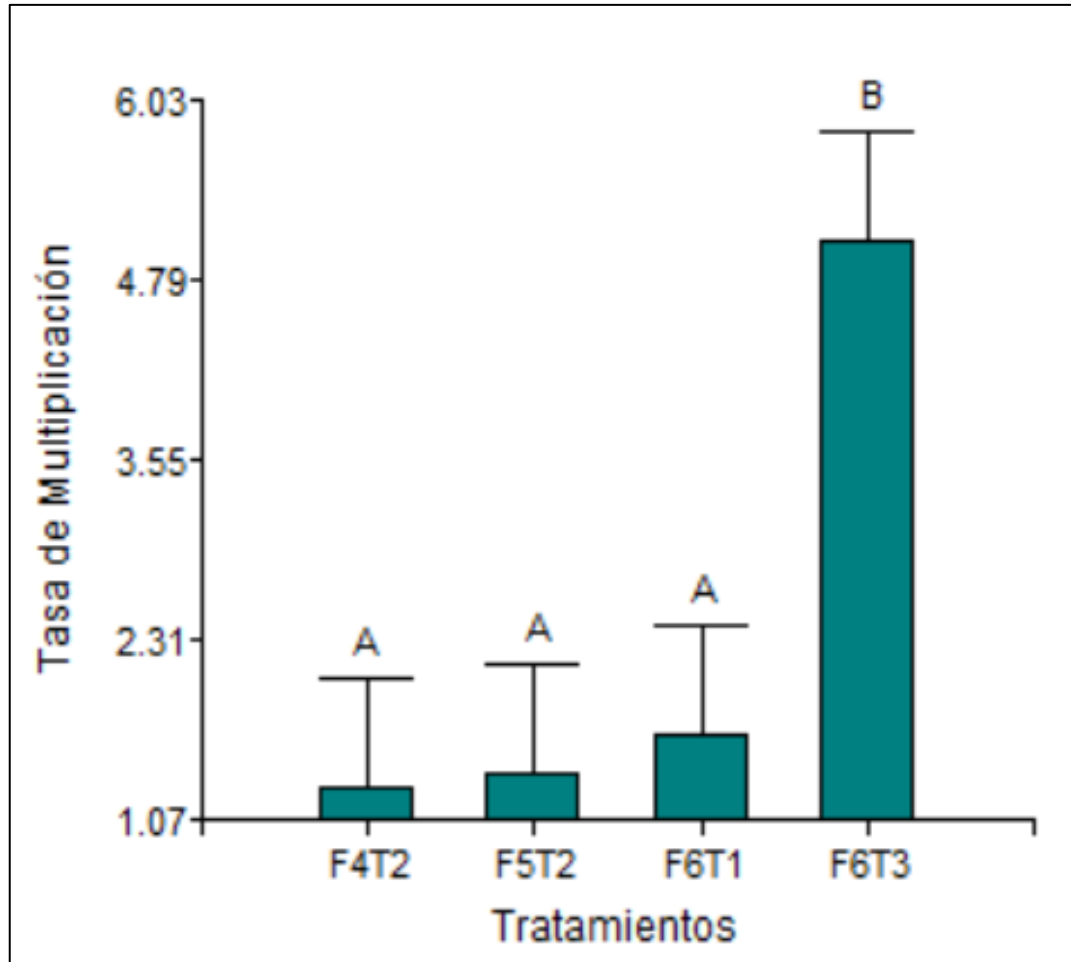




# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Efectos de los tratamientos en la tasa de multiplicación

Prueba de Duncan de las tasa de multiplicación de acuerdo a los tratamientos

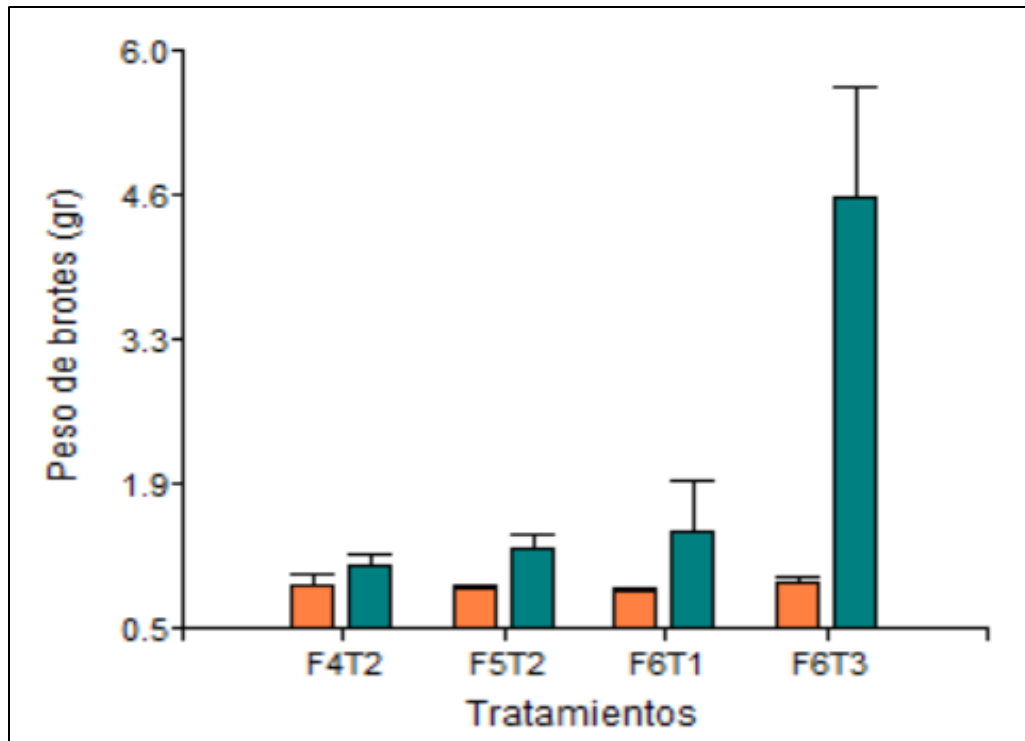


Tasa de multiplicación de *Eryngium* "Blue" en SIT tras 28 días de cultivo. A) Grupo estadístico A, tratamiento F4T2 B) Grupo estadístico B, tratamiento F6T3

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Efectos de los tratamientos en la masa

Diagrama de barras de las masas iniciales y masas finales de los brotes al concluir un ciclo de propagación en el SIT



Masa inicial del tratamiento F6T3

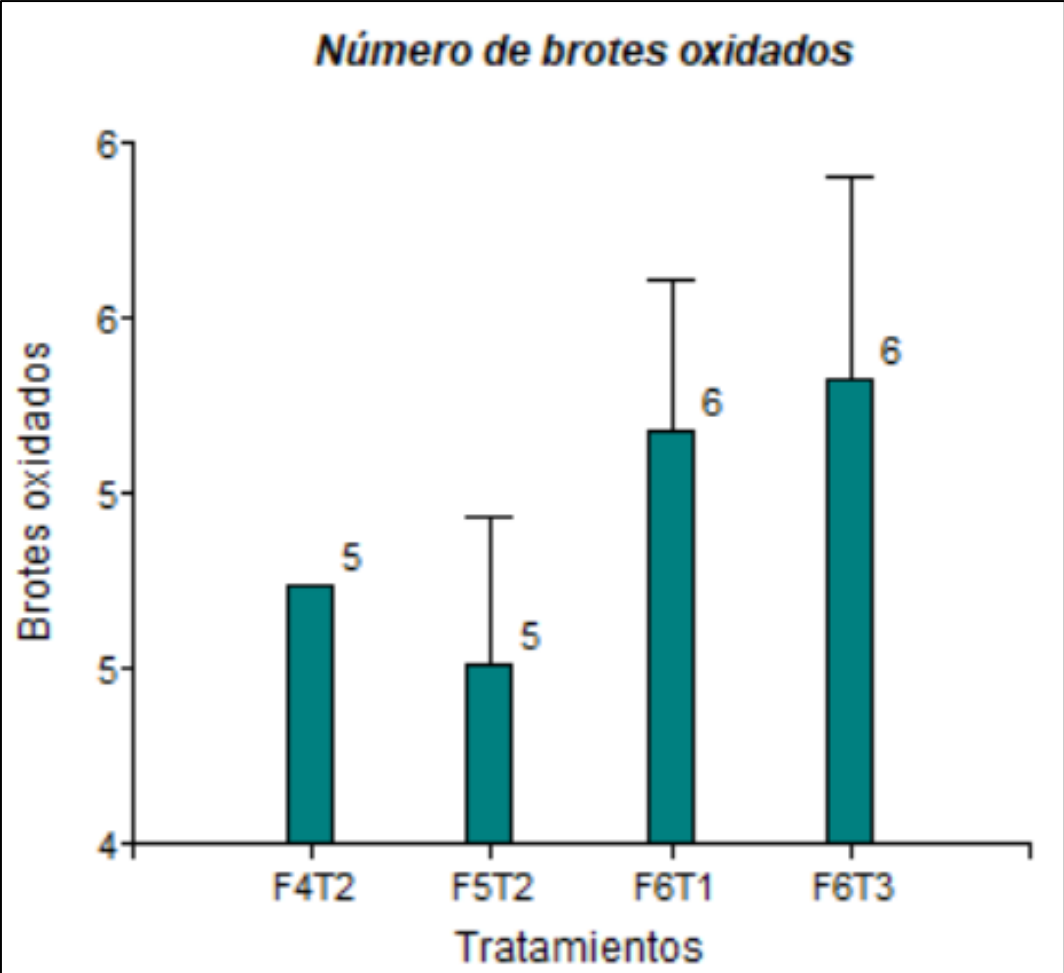


Masa final del tratamiento F6T3

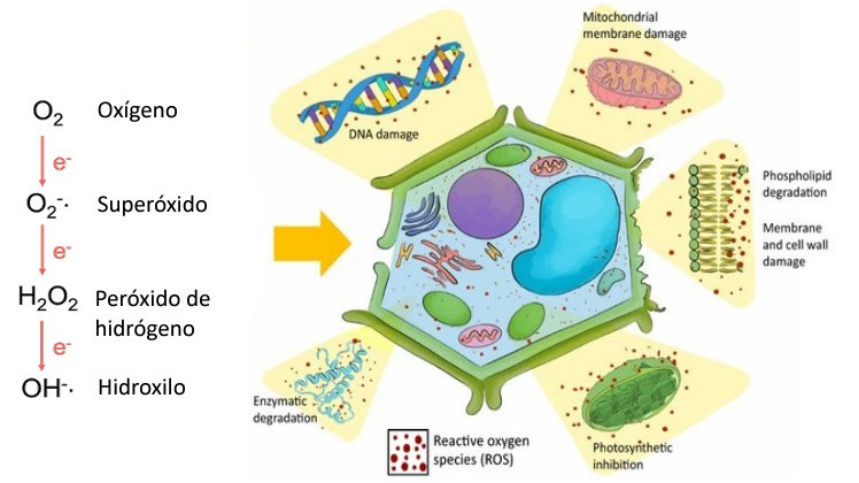


# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Efectos de los tratamientos en la calidad



Brotes oxidados de *Eryngium* "Blue" al concluir un ciclo en el SIT



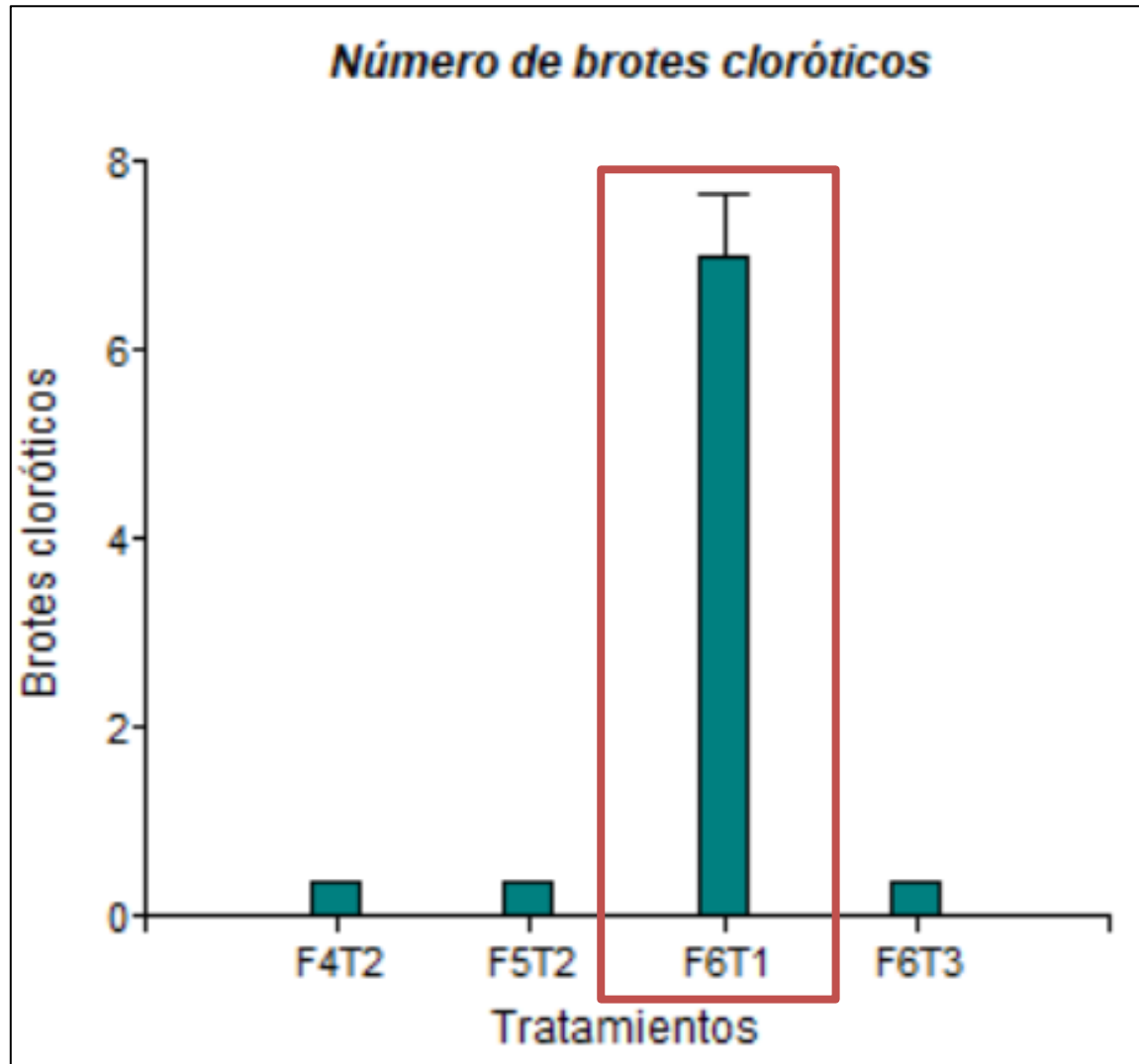
Efectos de las especies reactivas en oxígeno

(Martre et al., 2001, Espinosa et al., 2011)



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Efectos de los tratamientos en la calidad



A



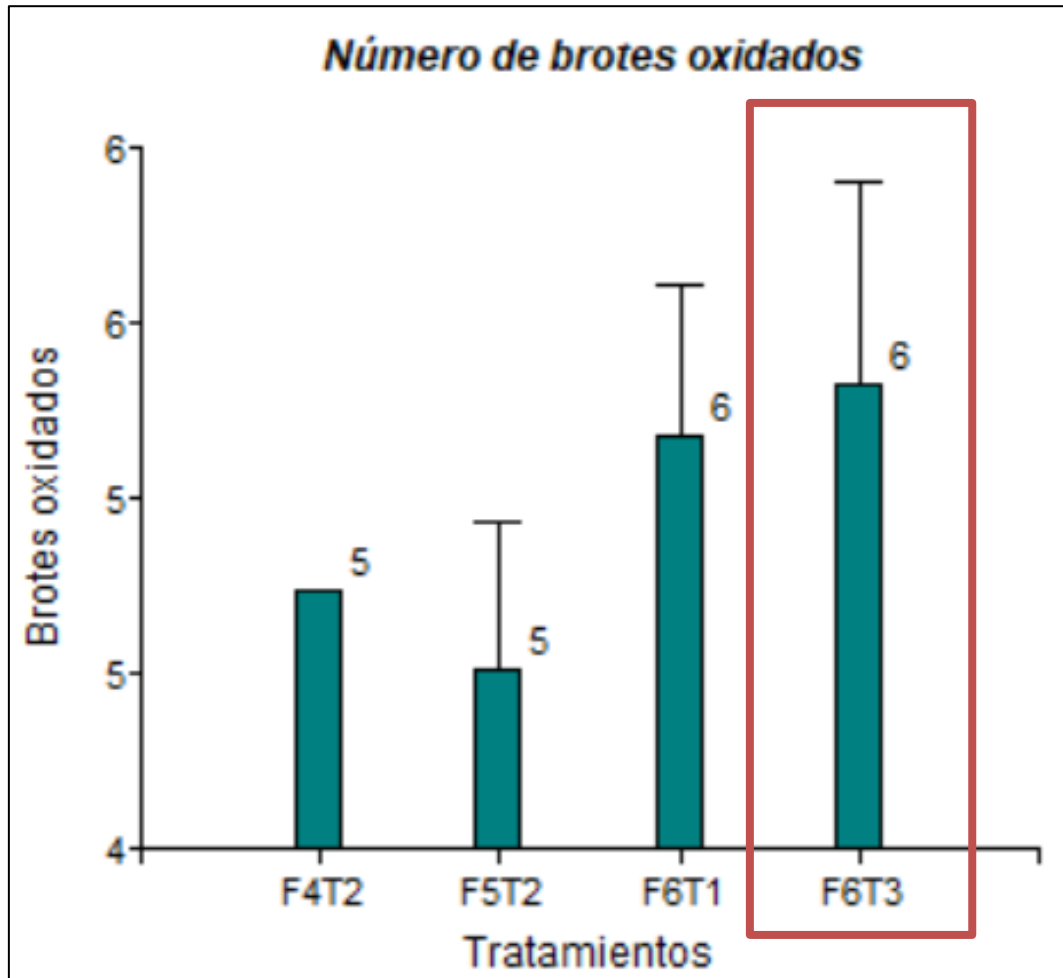
B



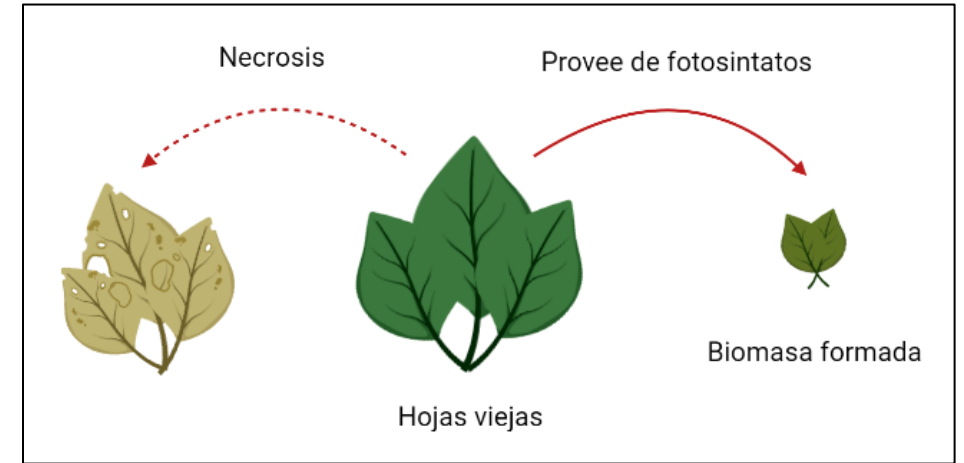
A) Brotes cloróticos de *Eryngium* "Blue" B)  
Brotes no cloróticos de *Eryngium* "Blue"

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

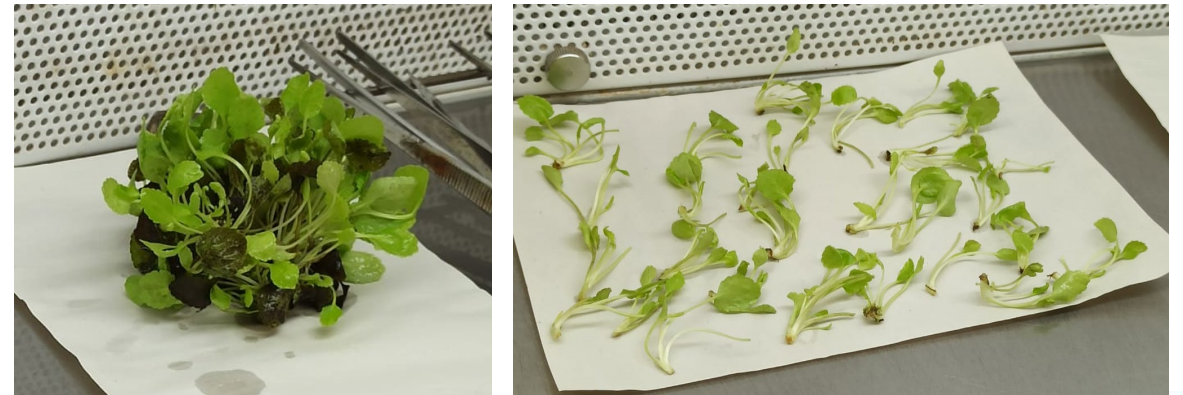
## Efectos de los tratamientos en la calidad



### Desequilibrio nutricional



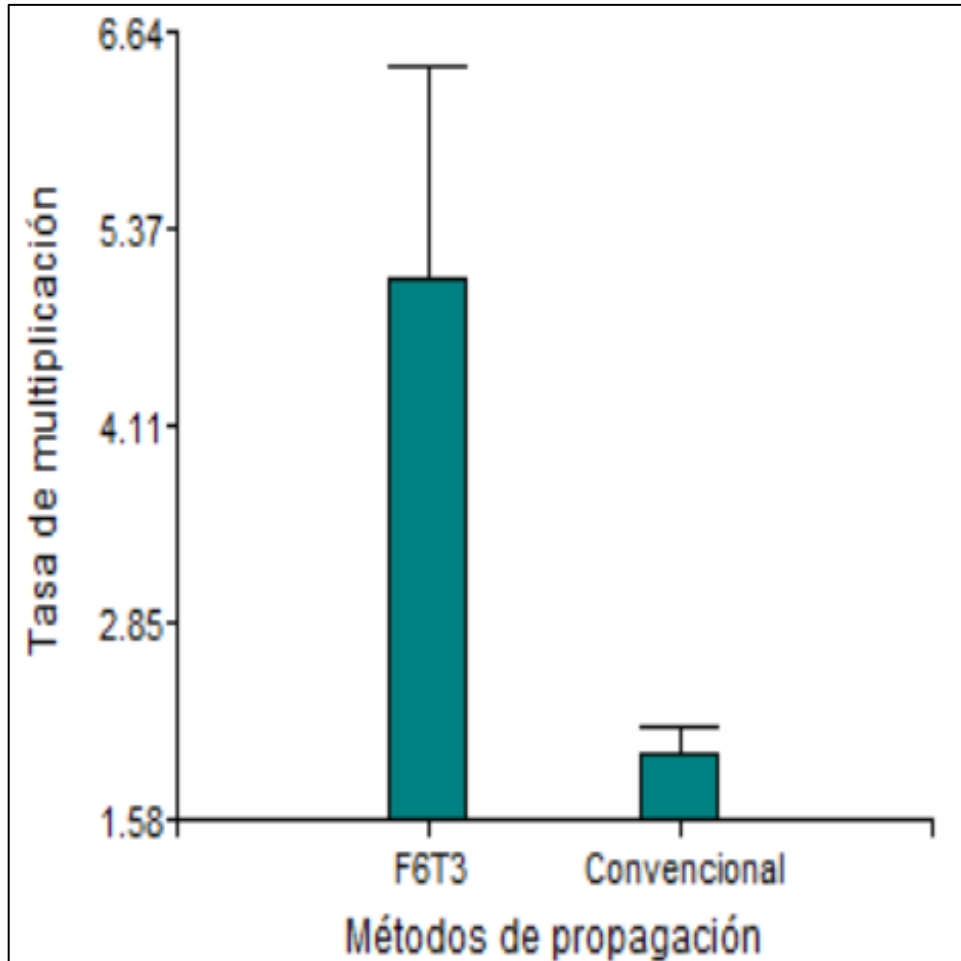
Brotes obtenidos del tratamiento F6T3 tras concluir un ciclo de propagación en el SIT





# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba T para muestras independientes sobre la influencia del método de propagación sobre la tasa de multiplicación de *Eryngium* "Blue"



A



B



A) Plantas de *Eryngium* "Blue" provenientes del SIT B) Plantas de *Eryngium* "Blue" provenientes del método convencional

5

## CONCLUSIONES



# CONCLUSIONES

- Las condiciones operacionales del sistema de inmersión temporal para la propagación de *Eryngium* “Blue” fueron: frecuencia de inmersión de 6 horas y tiempo de inmersión de 3 minutos.
- La tasa de multiplicación obtenida mediante la propagación en el sistema de inmersión temporal de *Eryngium* “Blue” fue de 5.05 brotes por explantes.
- La tasa de multiplicación obtenida por la propagación mediante el sistema de inmersión temporal tipo BIT fue aproximadamente el doble en comparación con el método de propagación convencional, 5.05 y 2.0 respectivamente.
- Con el desarrollo de la investigación se generó un protocolo de propagación alternativo al método convencional para la propagación *in vitro* de *Eryngium* “Blue” en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Flores del Valle S.A. Valleflor.



## 6 RECOMENDACIONES



# RECOMENDACIONES

- Implementar el sistema de inmersión temporal en las etapas de **multiplicación** y **enraizamiento** en la **propagación *in vitro*** de *Eryngium “Blue”* para **amentar** el rendimiento de productividad.
- Propagar explantes que provengan de **cultivos limpios** para evitar la pérdida total del material vegetal a propagar en el SIT, y **reducir el tiempo de propagación** al evitar problemas de contaminación.
- **Renovar** el medio de cultivo cada 5 días después de iniciar la propagación en el SIT para **restablecer los nutrientes y eliminar los desechos tóxicos**.
- Verificar que la **hermeticidad** de los biorreactores que componen el SIT para evitar **fugas de aire** que dificulten correcto funcionamiento del sistema.
- Envases de plástico para alimentos o envases de vidrio para granos **no se recomienda usar** como **biorreactores**.
- **Incentivar la investigación** experimental de la propagación *in vitro* por medio del SIT del género *Eryngium* para generar datos comparativos en futuras investigaciones.





## 7 AGRADECIMIENTOS



# AGRADECIMIENTOS



**Flores del Valle S.A. Valleflor**

**Rosalía Paladines**

Gerente de Investigación y Desarrollo  
Flores del Valle S.A. Valleflor

**Mónica Jadán, Ph.D.**

Directora del Proyecto de Investigación

**Familia**

**Amigas y Amigos**



**VALLEFLOR**

Est. 1996



**¡GRACIAS POR  
SU ATENCIÓN!**



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA