



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 BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN
BIOTECNOLOGÍA

“Inducción a células madre en *Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers., a partir de hojas”

Autor: Masabanda Hidrovo, Kevin Andrés

Director: Jadán Guerrero, Mónica Beatriz Ph. D.

Sangolquí, 08 de marzo del 2023



1. Introducción

2. Objetivos

3. Metodología

4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones



1. Introducción

2. Objetivos

3. Metodología

4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones

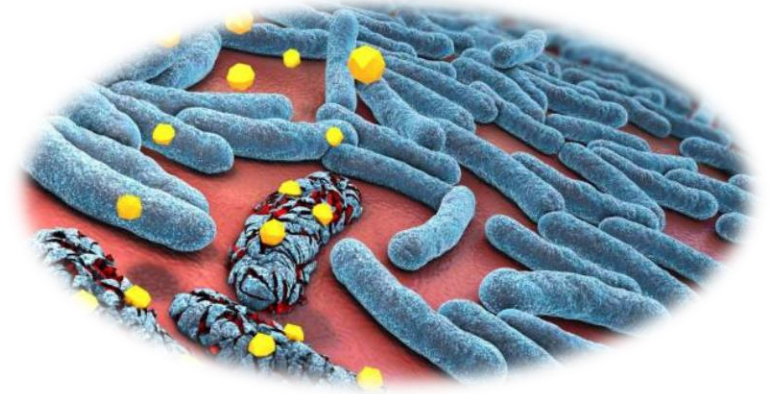
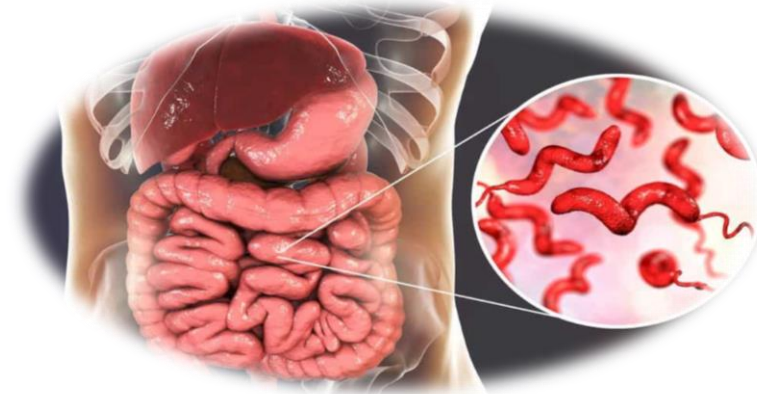
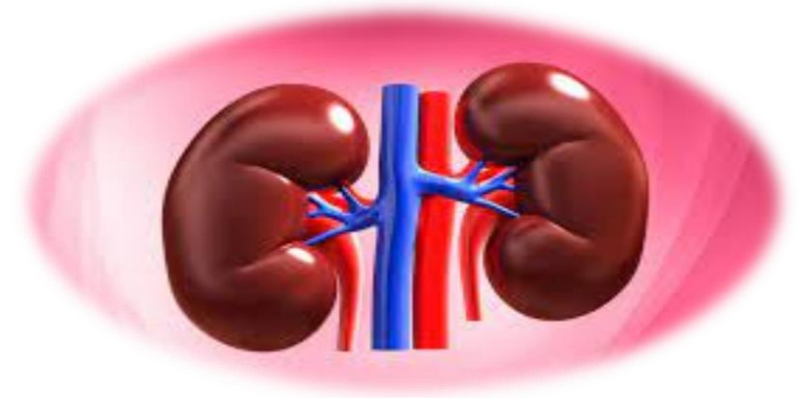
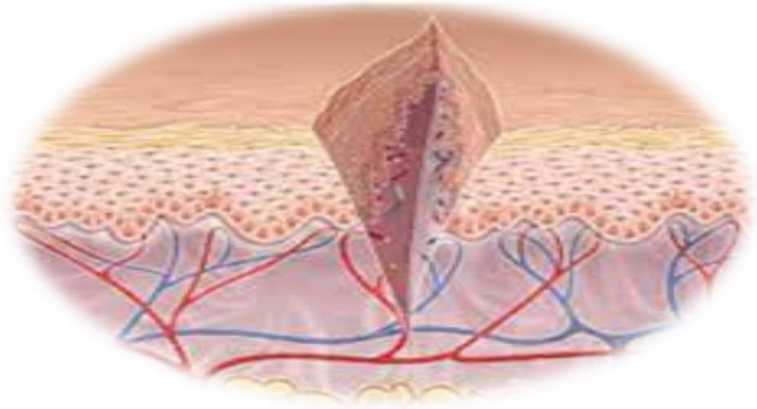


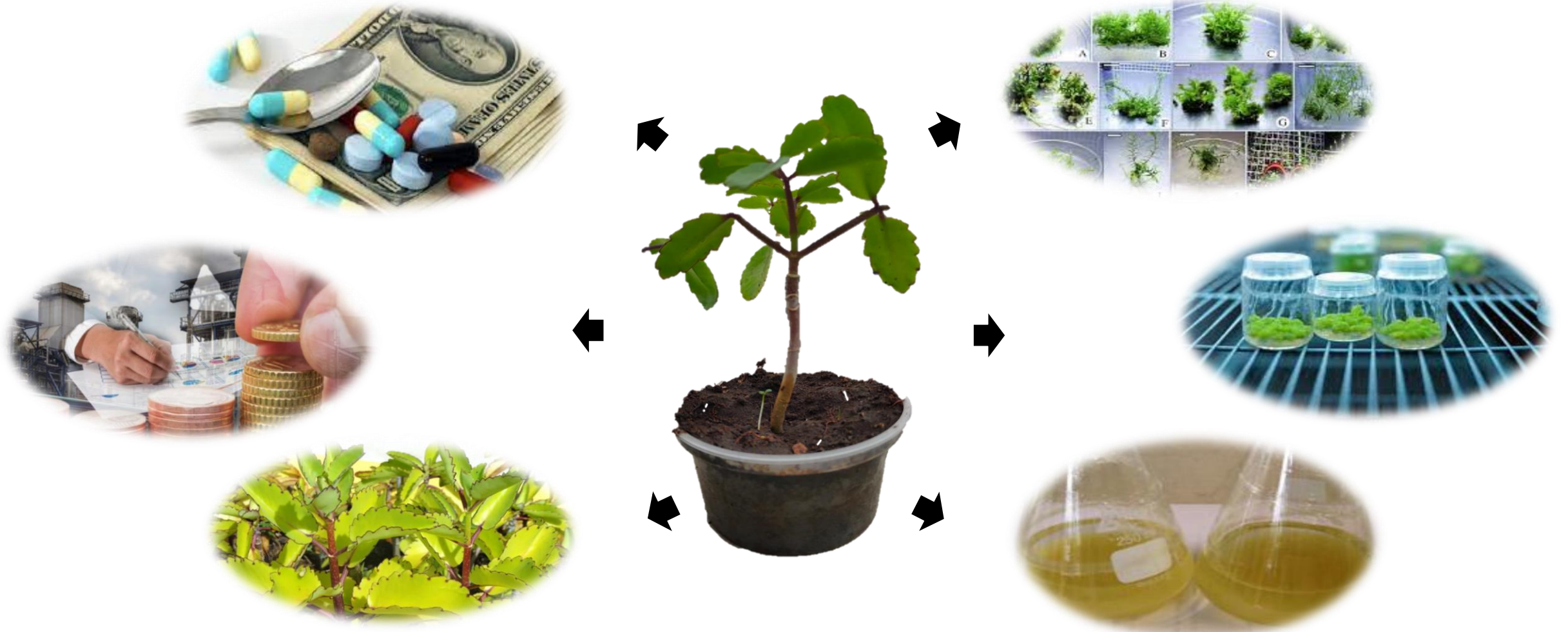
Clasificación taxonómica

Categoría	Taxón
Reino	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Saxifragales
Familia:	Crassulaceae
Subfamilia	Kalanchoideae
Especie	<i>Kalanchoe pinnata</i>

Características morfológicas







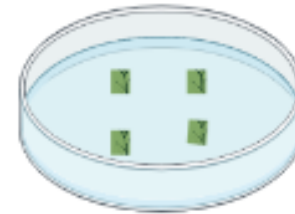
Fase de preparación



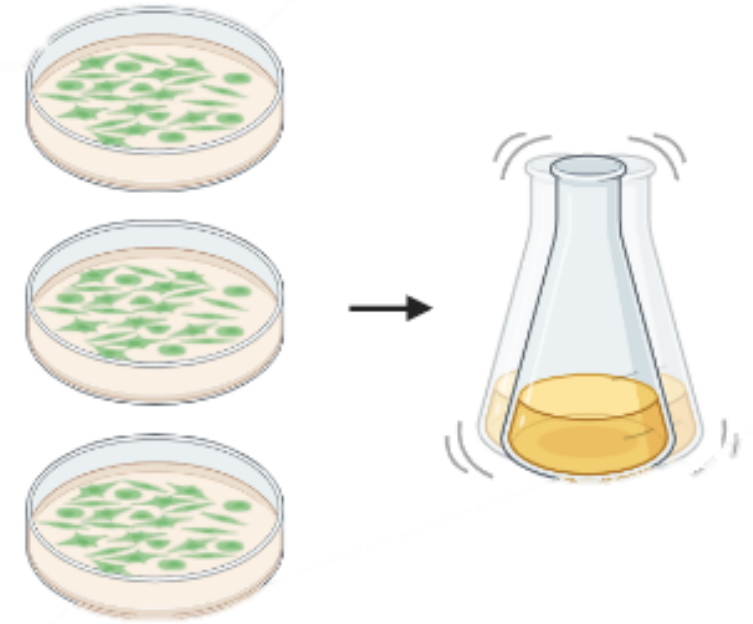
Fase de desinfección



Fase de establecimiento



Fase de multiplicación



Componentes de los medios de cultivo

Murashige y Skoog		Woody Plant	
Componentes	mg/l	Componentes	mg/l
Macro sales			
KNO_3	1900	NH_4NO_3	400
NH_4NO_3	1650	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1800.54
KH_2PO_4	170	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	72.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	386.8
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	KH_2PO_4	1700
		K_2SO_4	990
Micro sales			
H_3BO_3	6.2	H_3BO_3	6.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	MnSO_4	22.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25

Concentración
utilizada



MS

4,432 g/L



WPM

2,210 g/L

Fitorreguladores

Regulan el crecimiento y desarrollo morfológico en plantas

Auxinas

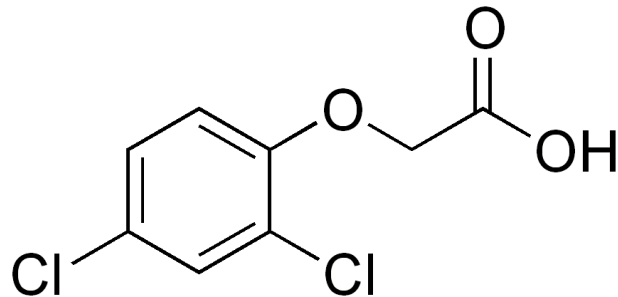
Citoquininas

Etileno

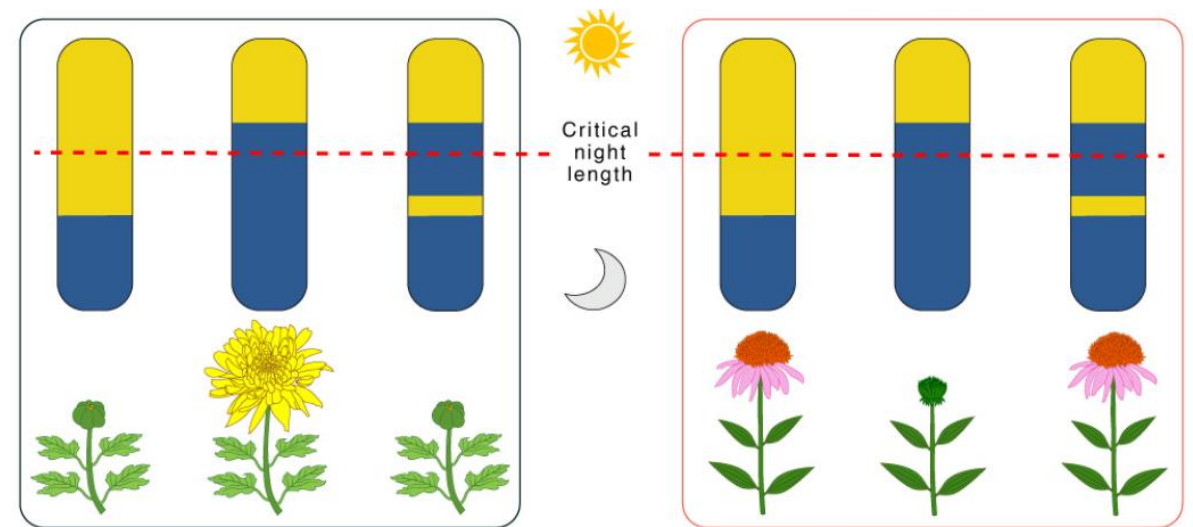
Giberelinas

Ácido abscísico

Estructura química de la auxina ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)



Fotoperiodo



1. Introducción

2. Objetivos

3. Metodología

4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones



- Inducir a células madre en *Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers, a partir de hojas.



- Optimizar un medio de cultivo adecuado para la inducción a células madre de *Kalanchoe pinnata* L. y su conservación en el banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, utilizando cultivo *in vitro*, en la provincia de Pichincha.
- Inducir a la formación de células madre de *Kalanchoe pinnata* L., utilizando tres concentraciones de 2,4-D para su conservación en el banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, utilizando cultivo *in vitro*, en la provincia de Pichincha.



- Exponer los cultivos de células madre de *Kalanchoe pinnata* L., a diferentes fotoperiodos para observar el mejor desarrollo y su posterior conservación en el banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, utilizando cultivo *in vitro*, en la provincia de Pichincha



- La fitohormona 2,4-D induce la obtención de células madre de *Kalanchoe pinnata* L., a partir de hojas



1. Introducción

2. Objetivos

3. Metodología

4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones



Localización de las plantas obtenidas



Ciudad del Puyo S1°29'1.28" O78°0'9.25"

Localización de las plantas aclimatizadas



Ciudad del Sangolquí 0° 18,81 S; 78° 26,64 O



Desinfección



Lavado con agua
corriente

Detergente 1%
10 min

Fungicida 1%
10 min

Cloro 1%
10 min

Inducción a células madre

Optimización de medio de cultivo

Medio	Sacarosa comercial g/L
MS	30
½ MS	15
WPM	30
½ WPM	15

Tratamiento	Medio de cultivo	2,4-D (mg/l)
T0 (control)	MS	0
T1		0.5
T2		1
T3		1.5
T0 (control)	WPM	0
T1		0.5
T2		1
T3		1.5



Cultivo de explantes



Cortes de los bordes



Cortes transversales de la hoja



Cultivo en medio de cultivo

1. Introducción

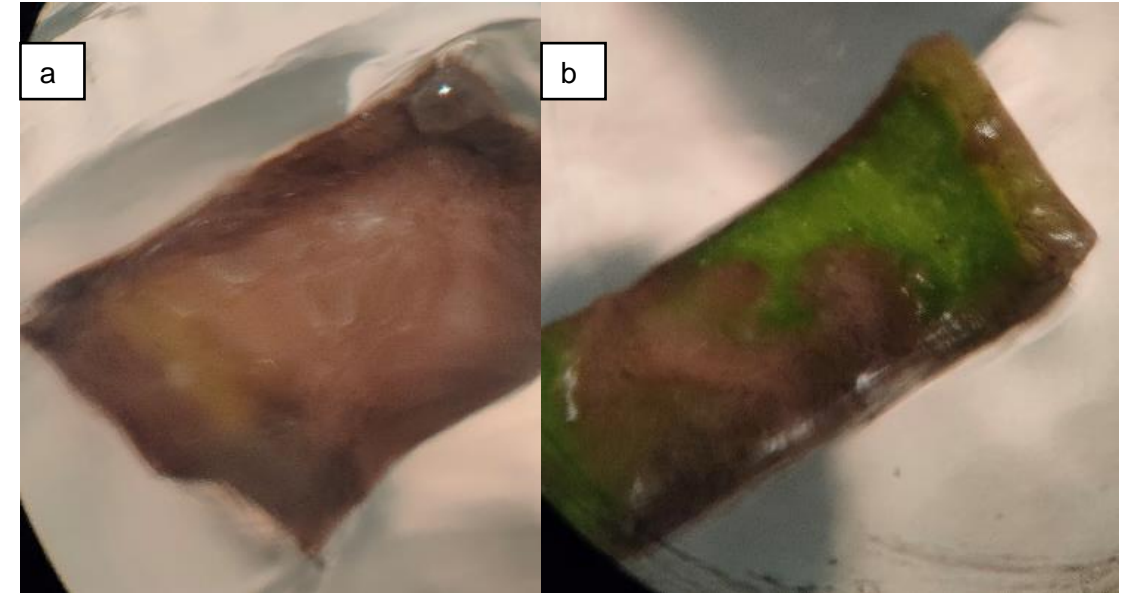
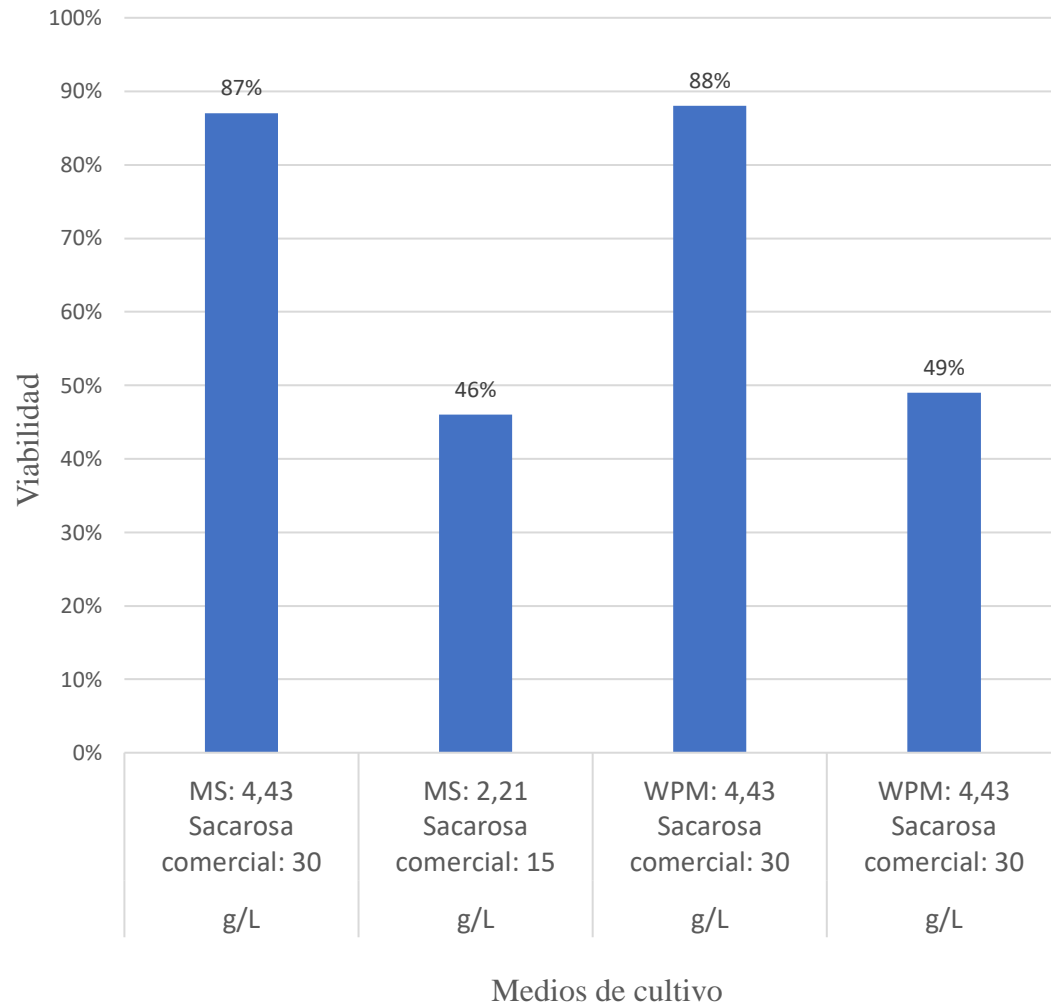
2. Objetivos

3. Metodología

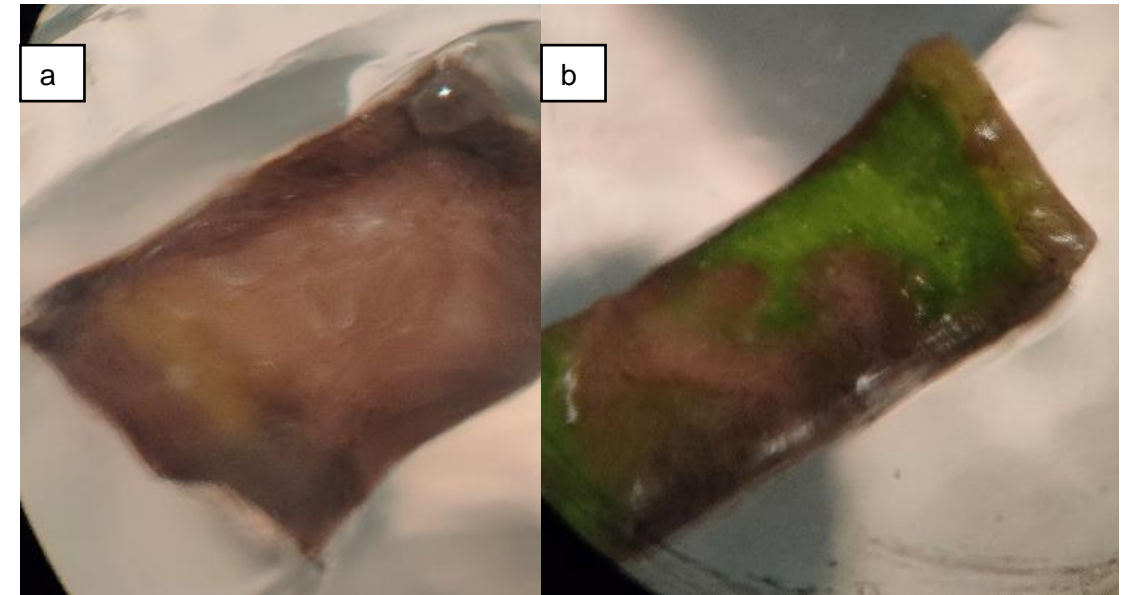
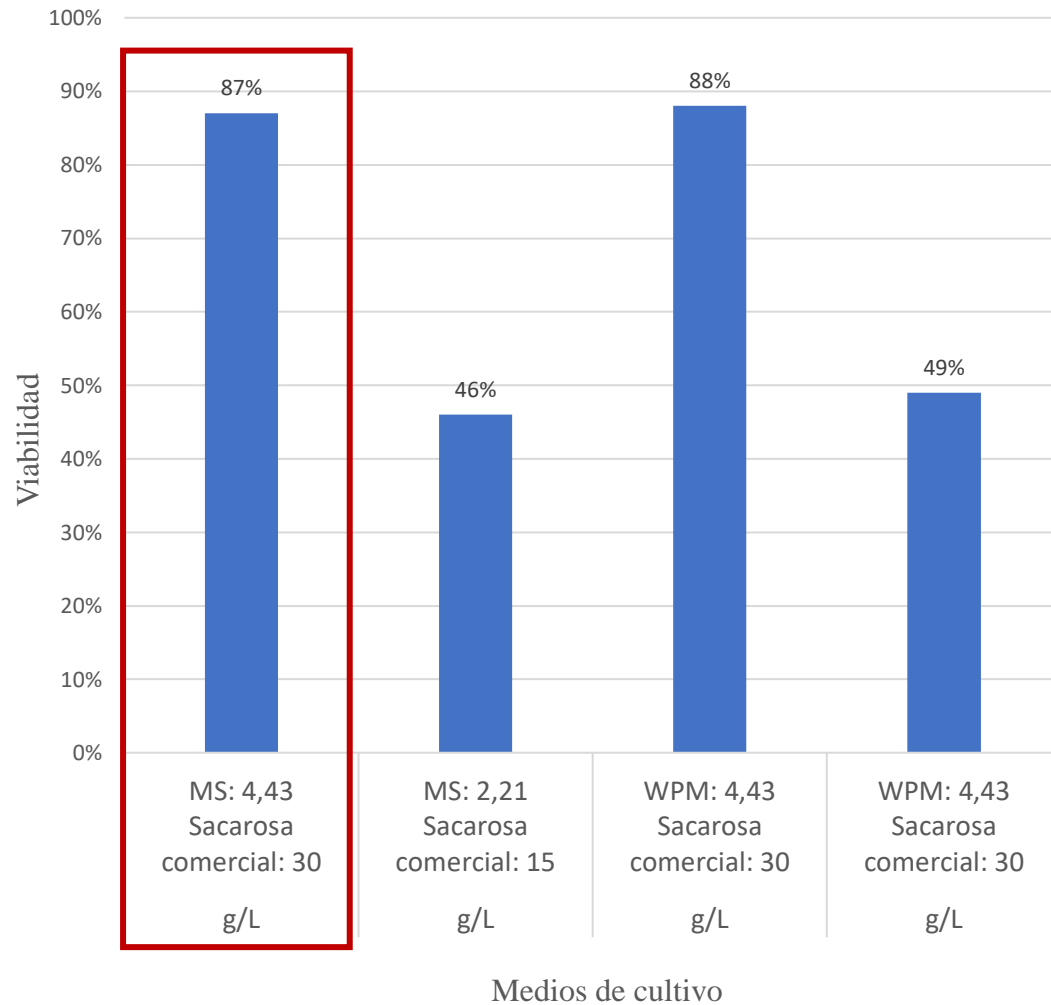
4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones

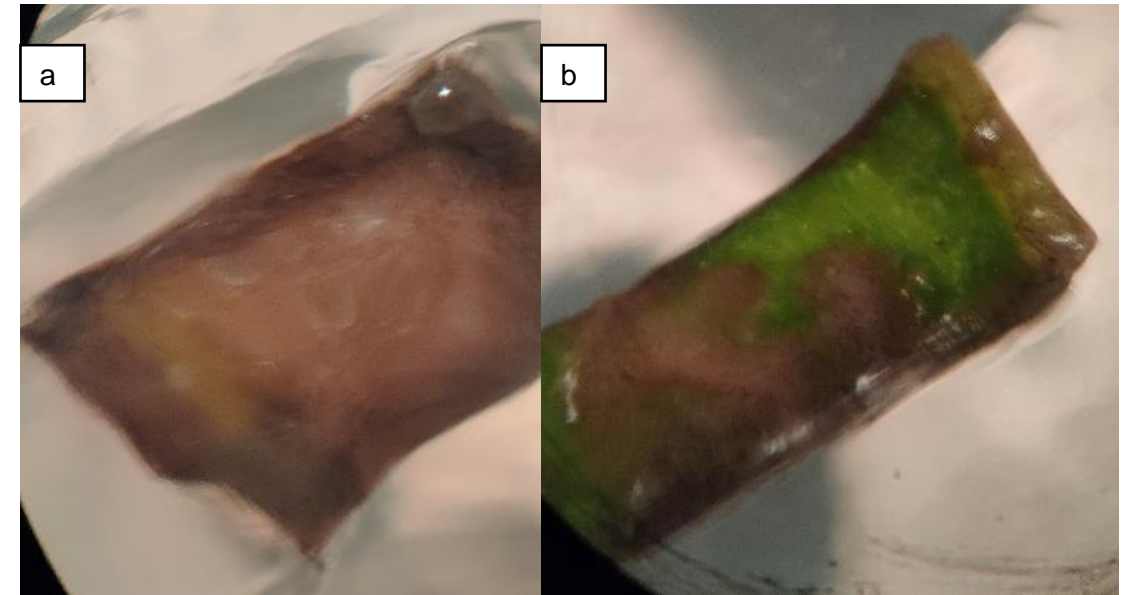
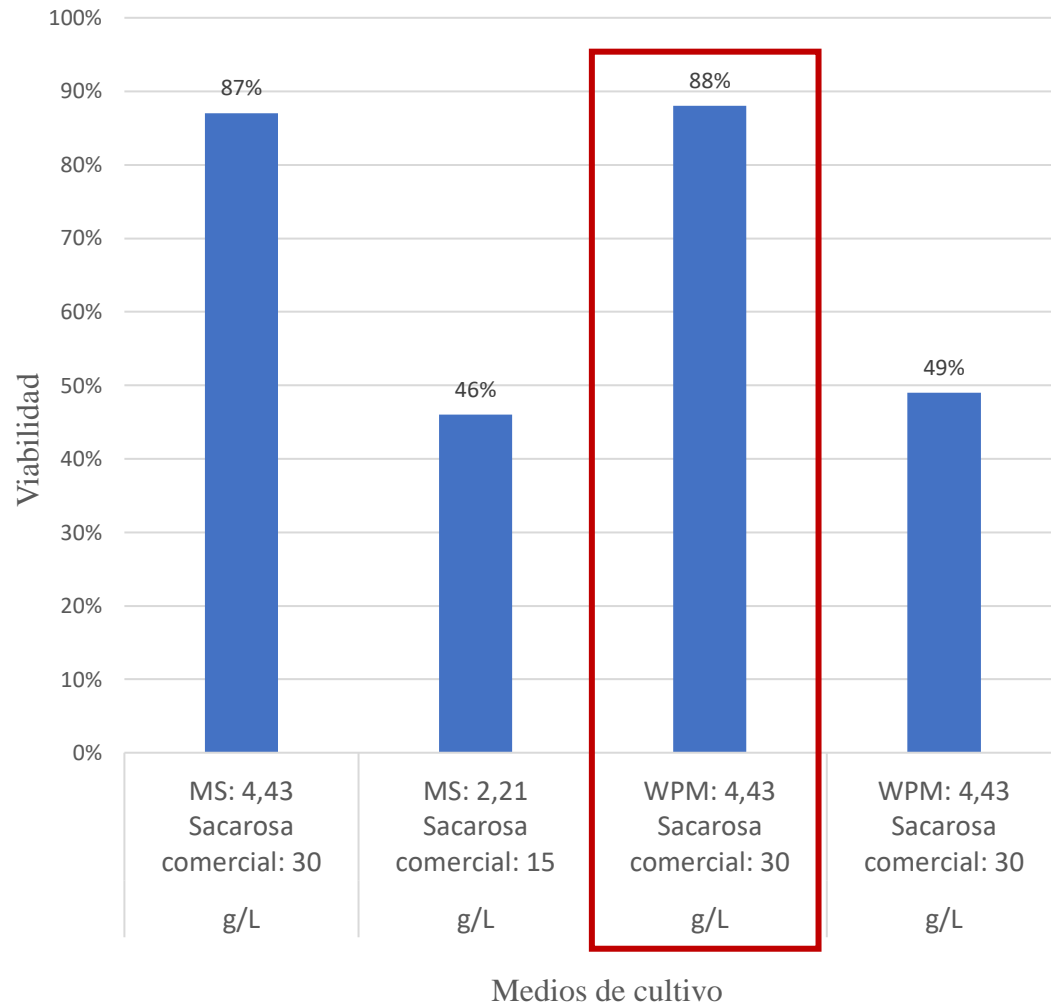




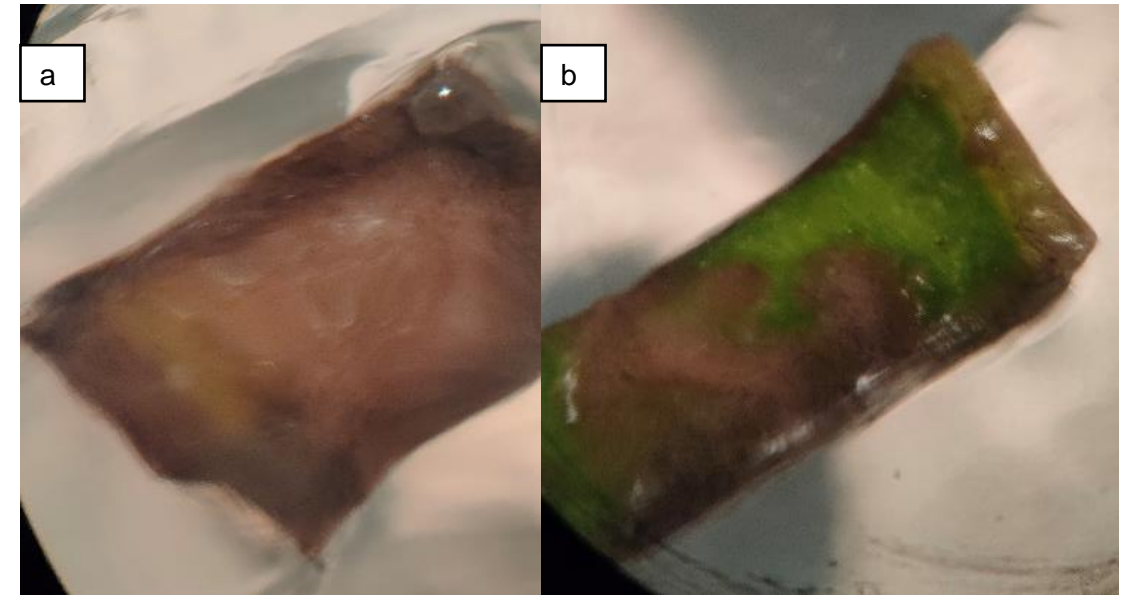
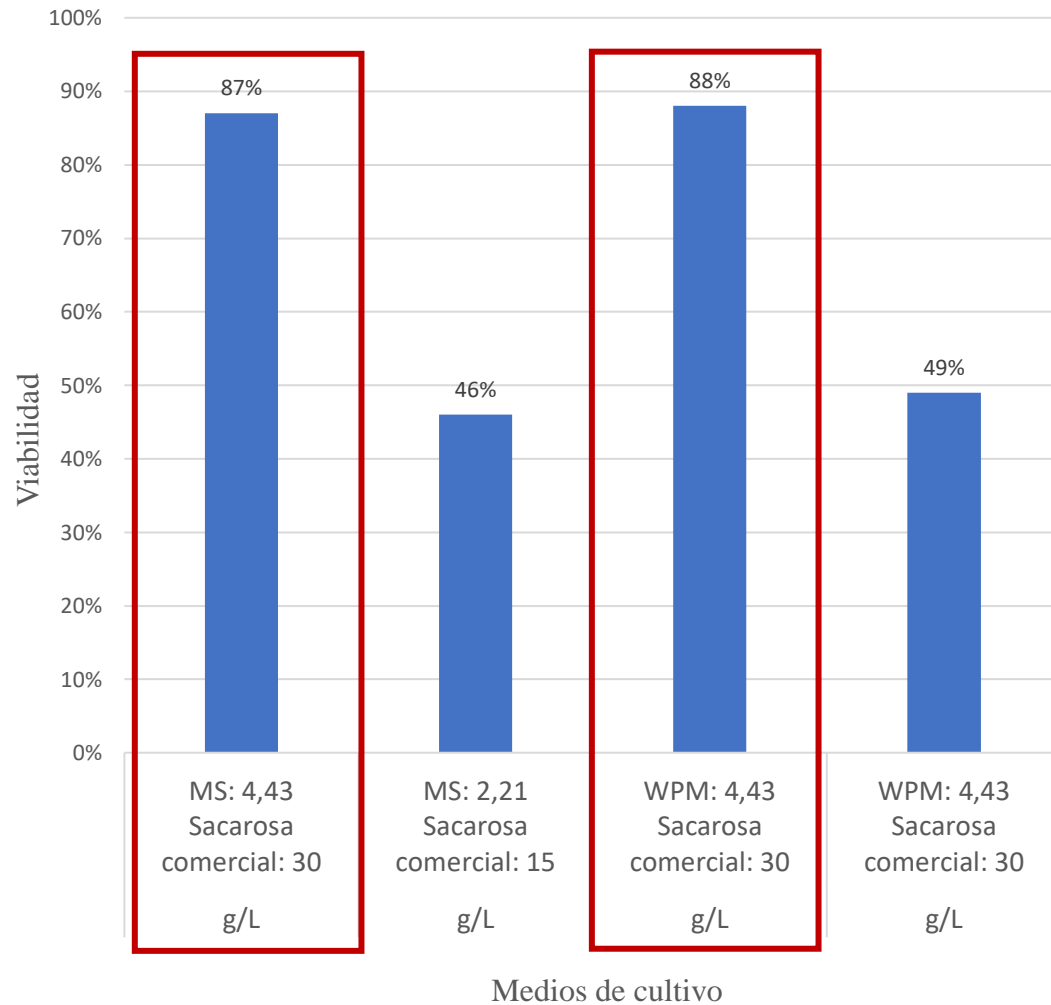
a) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS, b) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ WPM.



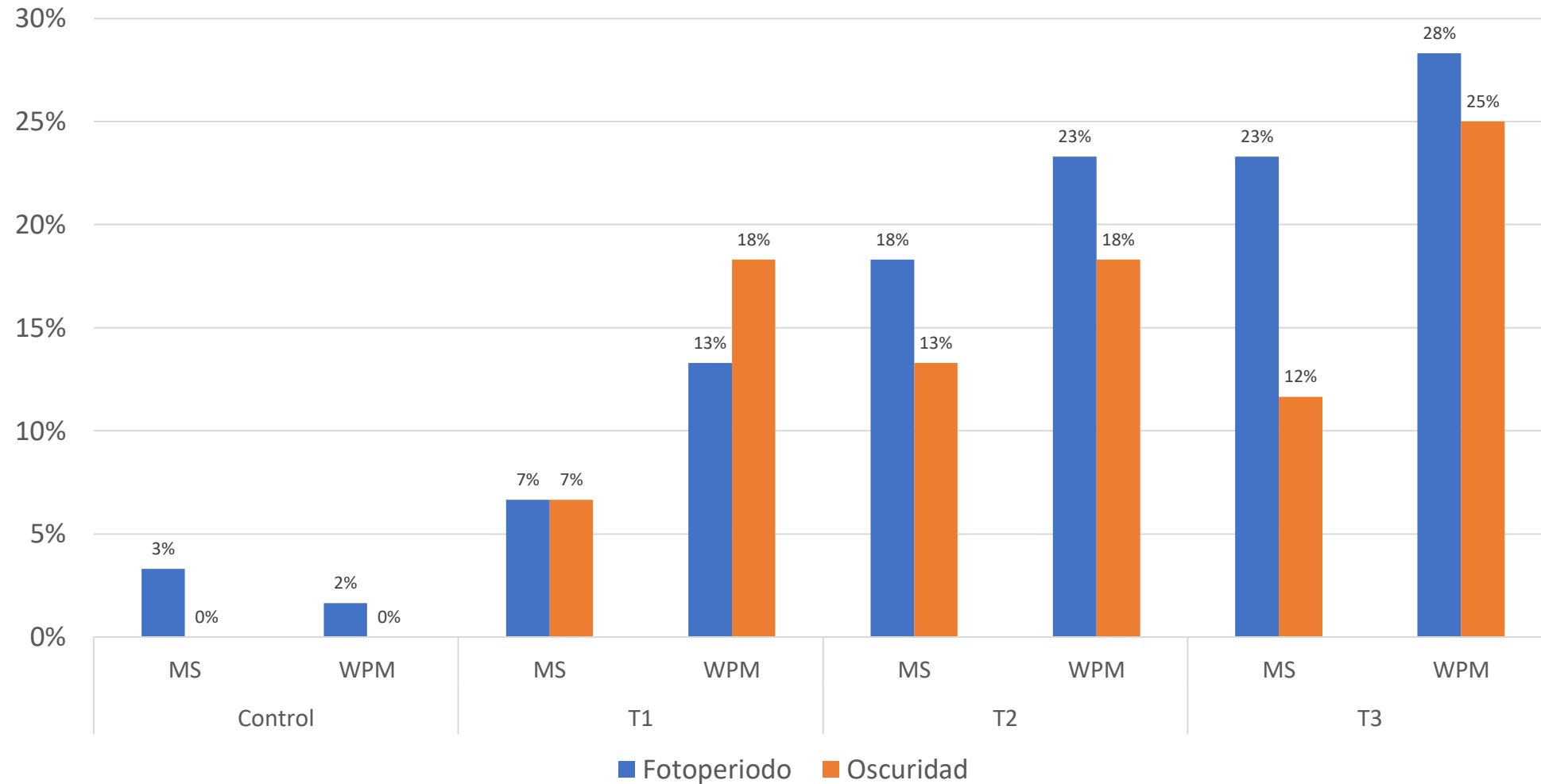
a) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS, b) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ WPM.

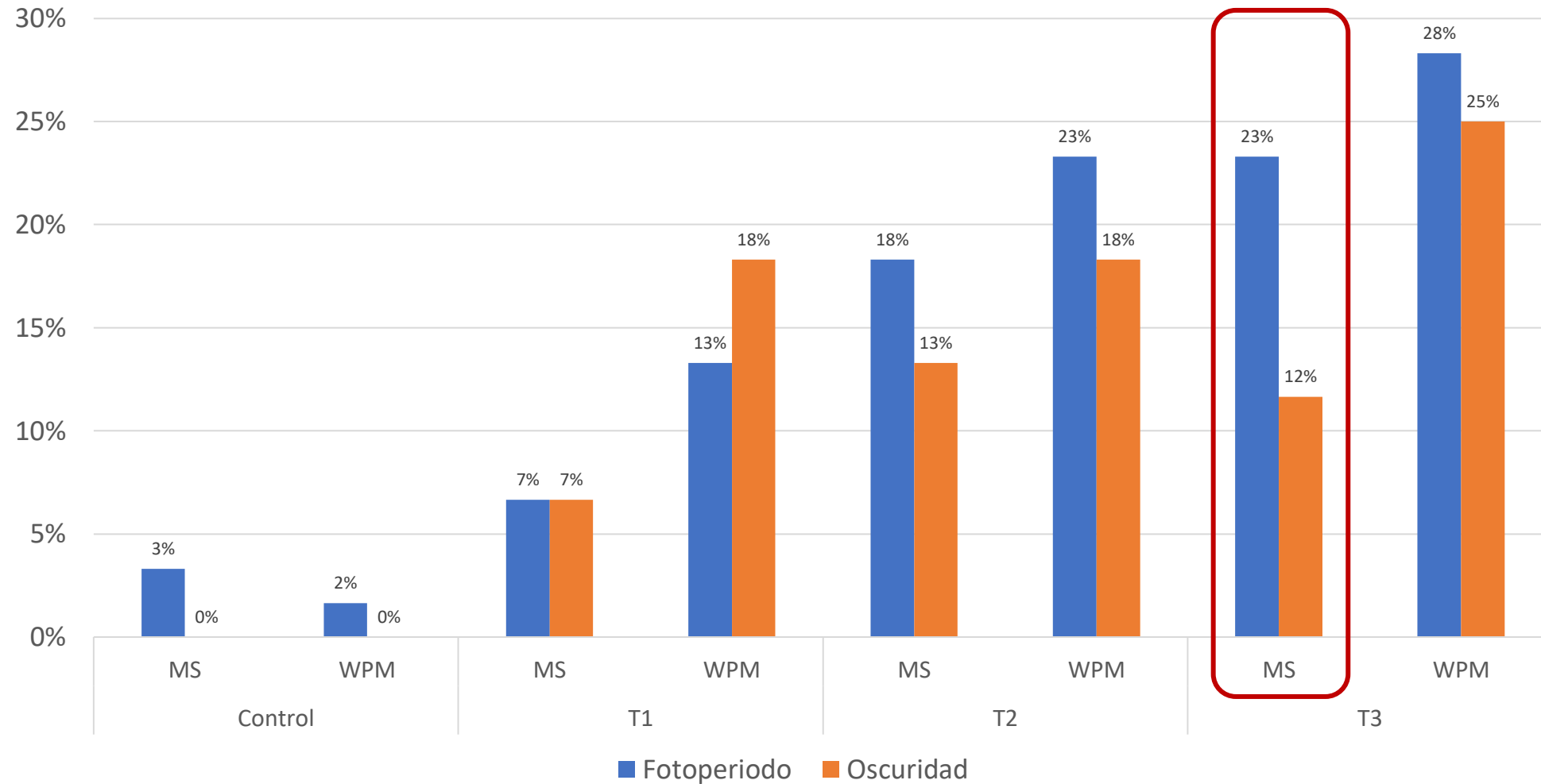


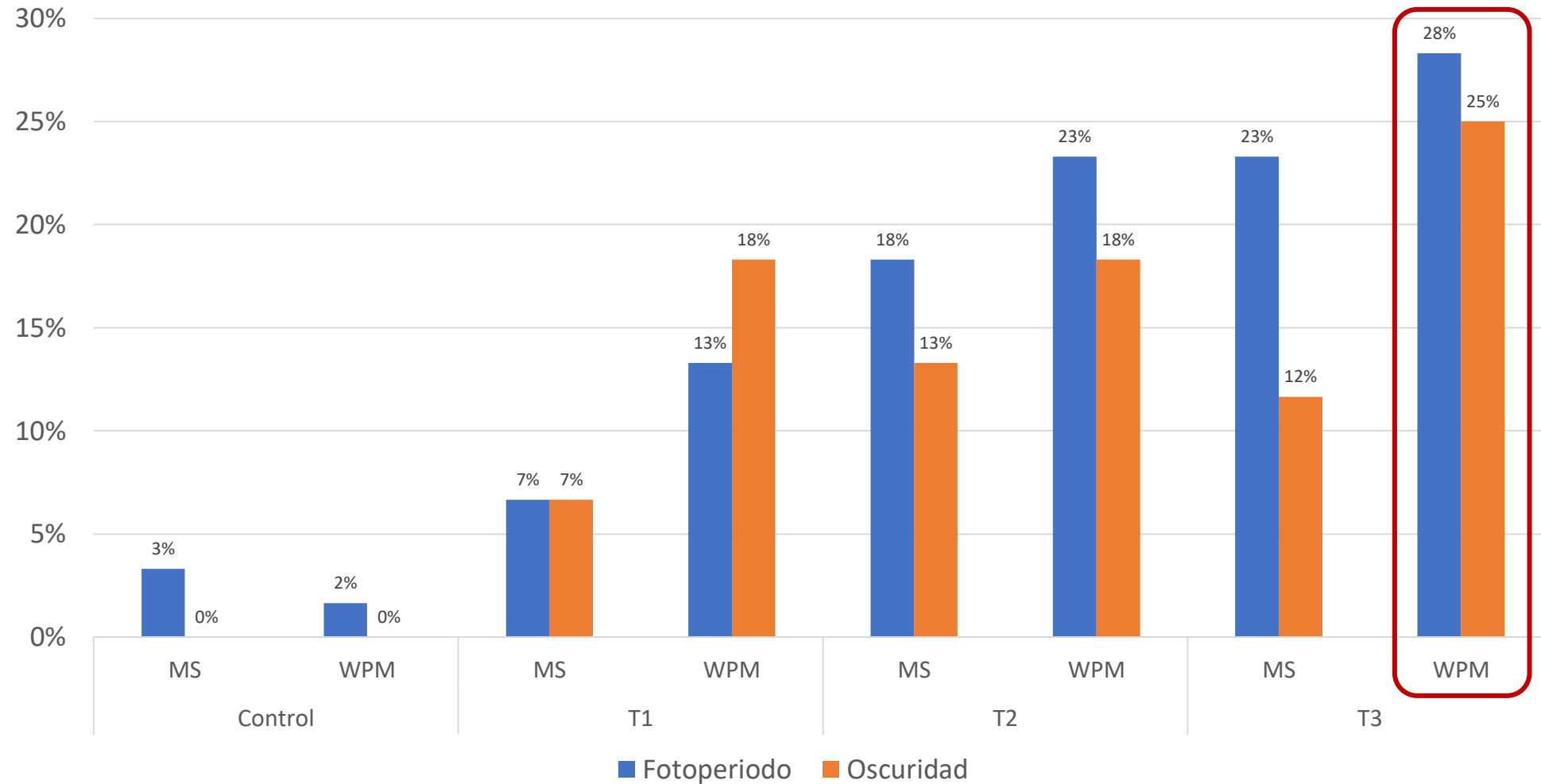
a) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS, b) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ WPM.

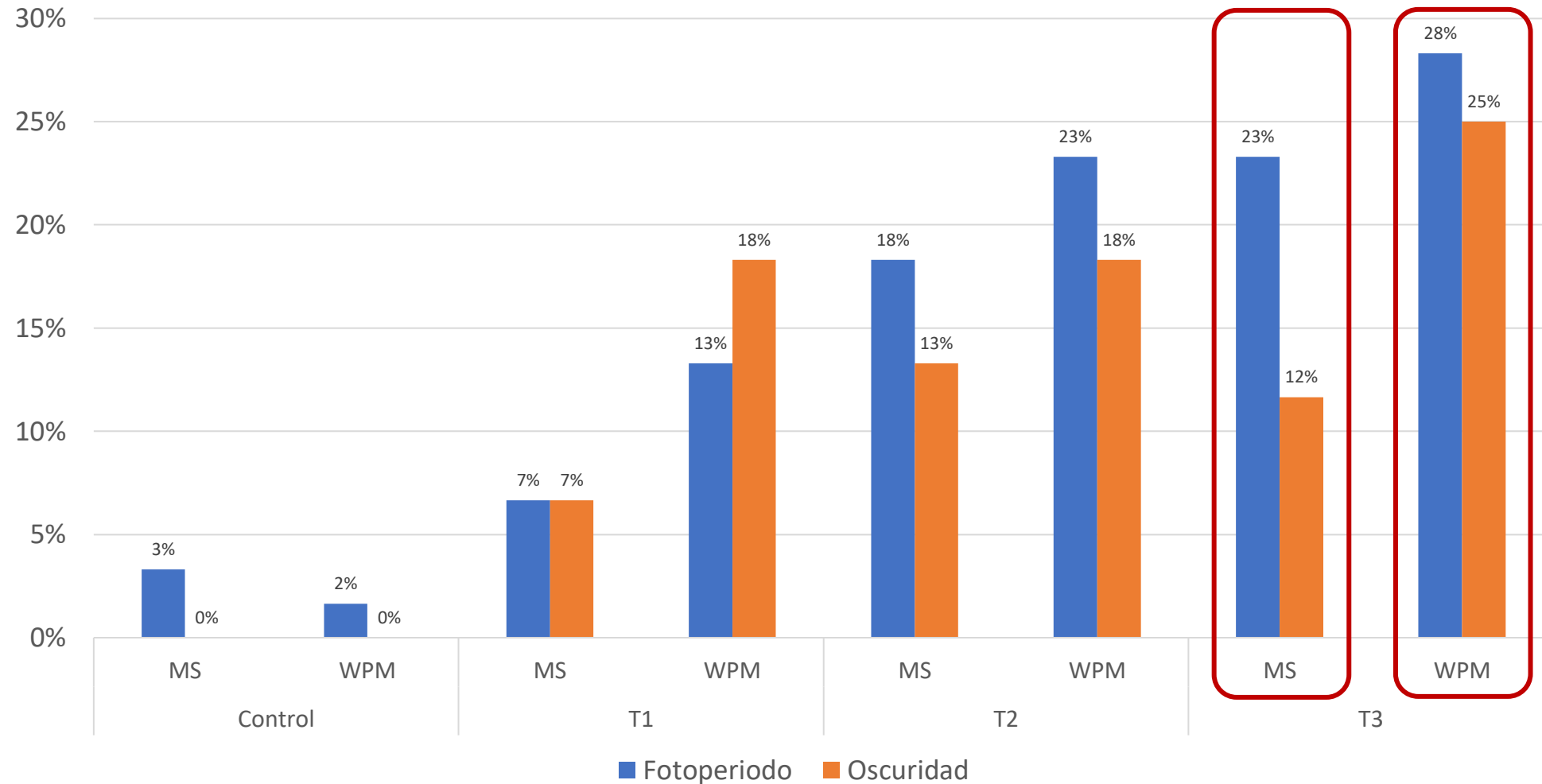


a) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS, b) Explante de hoja de *Kalanchoe pinnata* L. inducido en medio de cultivo $\frac{1}{2}$ WPM.

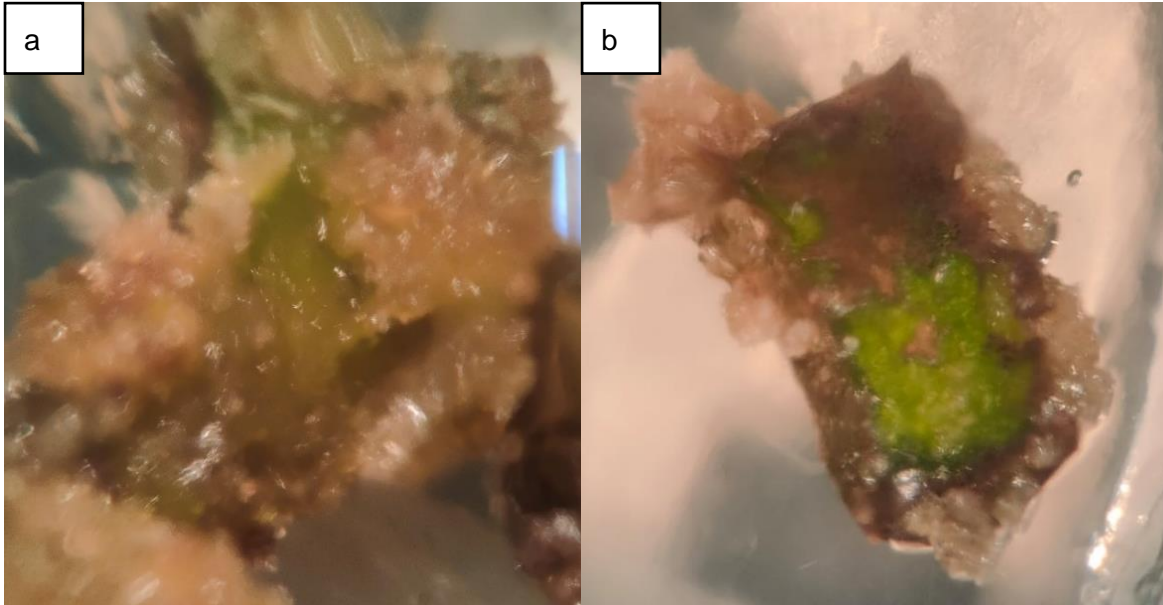






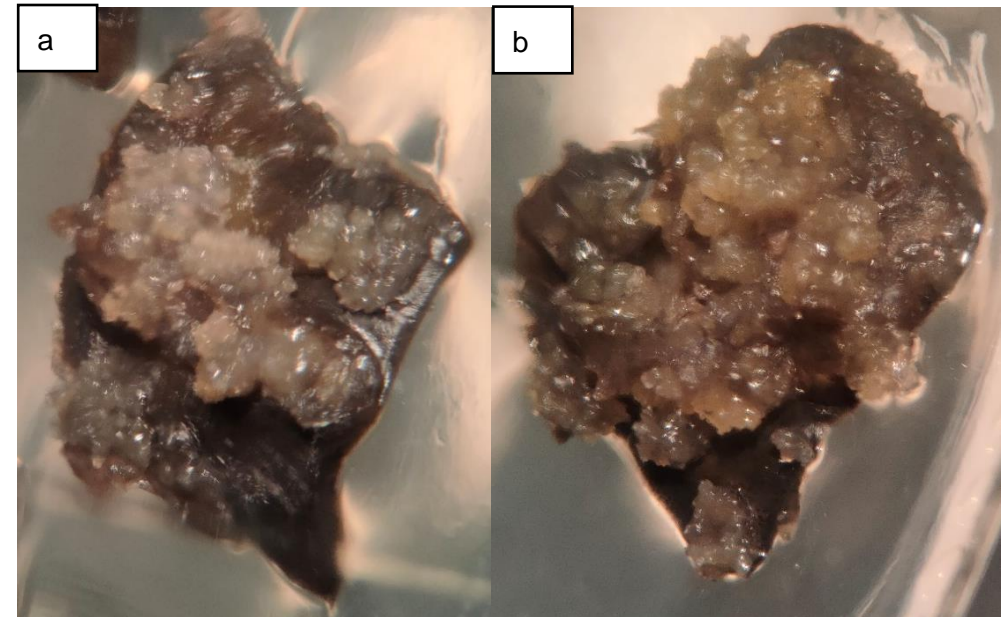


Fotoperiodo



a) Callo en medio de cultivo MS, b) Callo en medio de cultivo WPM.

Oscuridad



a) Callo en medio de cultivo MS, b) Callo en medio de cultivo WPM.

1. Introducción

2. Objetivos

3. Metodología

4. Resultados y
Discusión

5. Conclusiones y
Recomendaciones



- La composición óptima de medio de cultivo para la introducción de la especie *Kalanchoe pinnata* L., es la **concentración completa de sales minerales MS y WPM**, en ambos casos suplementados con **30g/L de sacarosa comercial**. Pues, evita la oxidación u oscurecimiento de los explantes en un 87% y 88%, respectivamente.
- La fitohormona 2,4-D en **concentración de 1,5 mg/L** induce la formación de células madre de *Kalanchoe pinnata* L., a partir de hojas, en fotoperiodo tanto en los medios de cultivo MS como WPM con porcentajes de 23% y 28%, respectivamente.



- Los explantes de *Kalanchoe pinnata* L., inducidos a células madre en **fotoperiodo presentaron callo de morfología friable con coloración verdosa**, en comparación con los callos incubados en **oscuridad que presentaron morfología friable y coloración blanquecina**.



- Es **recomendable utilizar sales minerales WPM** para futuros ensayos de introducción de *Kalanchoe pinnata* L., considerando que, si bien su costo es similar al de las sales minerales MS, la cantidad utilizada es de 2,41 g/L frente a 4,423 g/L; permitiendo obtener el doble de rendimiento, aproximadamente.
- Posterior a las ocho semanas de la introducción de los explantes de *Kalanchoe pinnata* L. en un medio de cultivo para la inducción a células madre, se recomienda realizar la **separación de los callos y el cambio a un medio de cultivo** suplementado con el fitorregulador 2,4-D, para la conservación de las células madre de *Kalanchoe pinnata* L. dentro del banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.



- Es recomendable realizar **ensayos adicionales** que permitan la **identificación de los metabolitos** secundarios de las células madre de *Kalanchoe pinnata* L., expresados en fotoperiodo y oscuridad; con el fin de estandarizar un protocolo de inducción a células madre en dependencia del metabolito que se requiera obtener.





Mónica Jadán, Ph.D.
Directora del Proyecto de Investigación

Mgtr. Andrea Ortega
Técnica del Laboratorio de Cultivo de Tejidos

Tesistas y pasantes
Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales

Familia

Amigas y Amigos



*Muchas
Gracias*



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA