



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 INGENIERA
BIOTECNÓLOGA

“Inducción a células madre en hojas de *Rumex crispus* L., utilizando tres concentraciones de Citoquininas y auxinas”

Elaborado por
GUATAPI GALARZA MARÍA ISABEL

Director
JADÁN GUERRERO MÓNICA BEATRIZ , PhD.

SANGOLQUÍ
2023



1. Introducción

2. Objetivos e Hipótesis

3. Materiales y Métodos

4. Resultados y Discusión

5. Conclusiones

6. Recomendaciones

7. Agradecimientos



INTRODUCCIÓN



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INTRODUCCIÓN

Origen de *Rumex crispus* L.

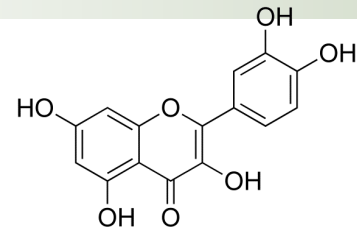


Taxonomía de *Rumex crispus* L.

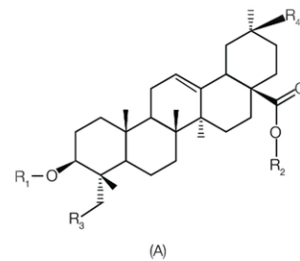
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Polygonaceae
Género	<i>Rumex</i>
Especie	<i>Rumex crispus</i> L.

INTRODUCCIÓN

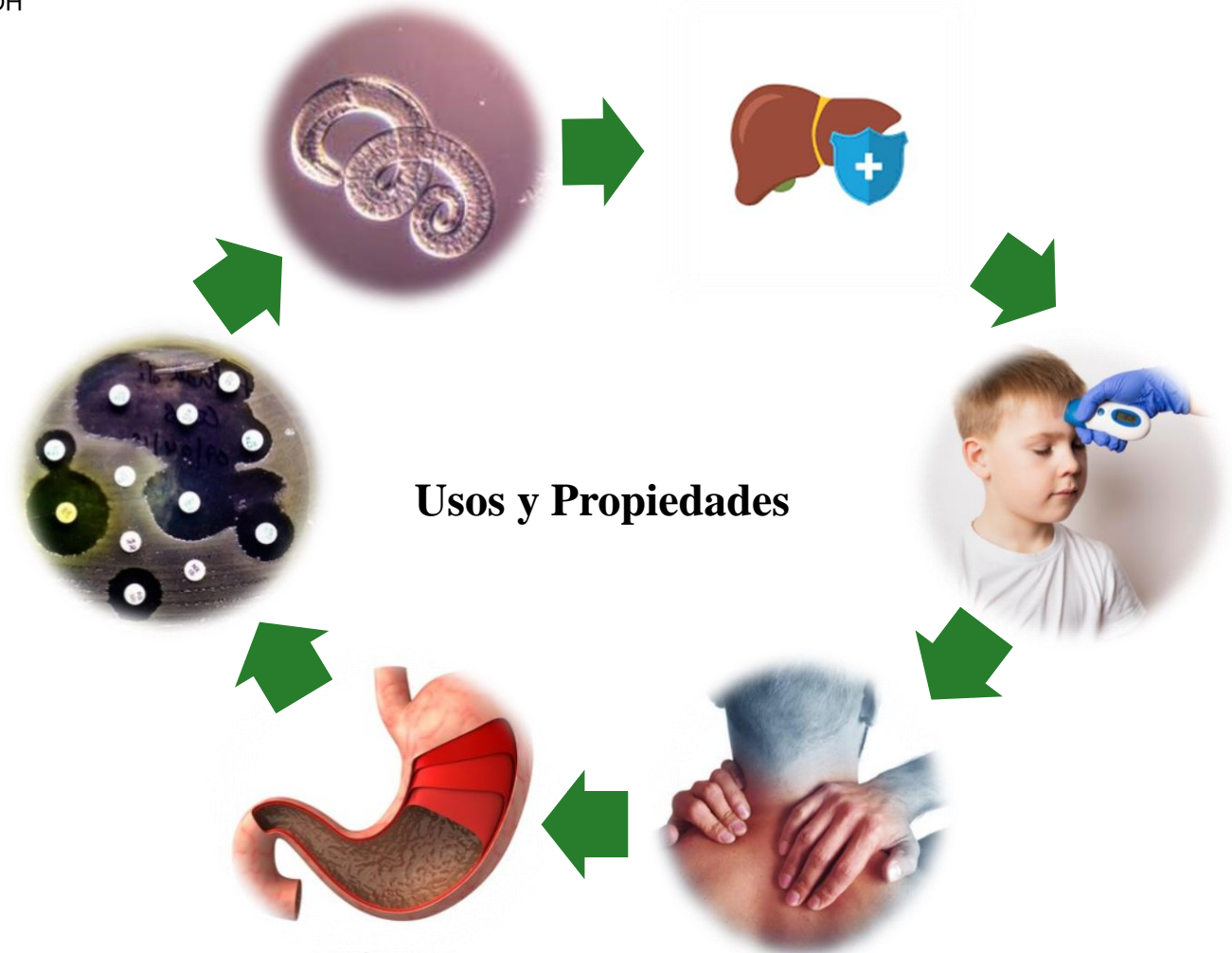
Características botánicas de *Rumex crispus* L.



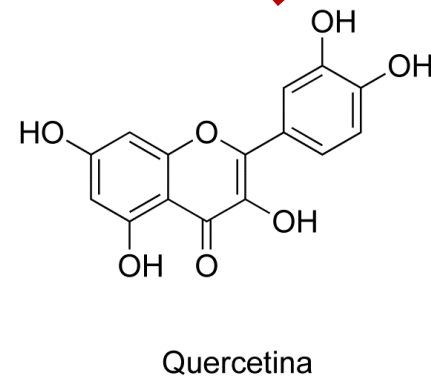
Quercetina
Flavonoides



Saponinas



Cultivo *in vitro*

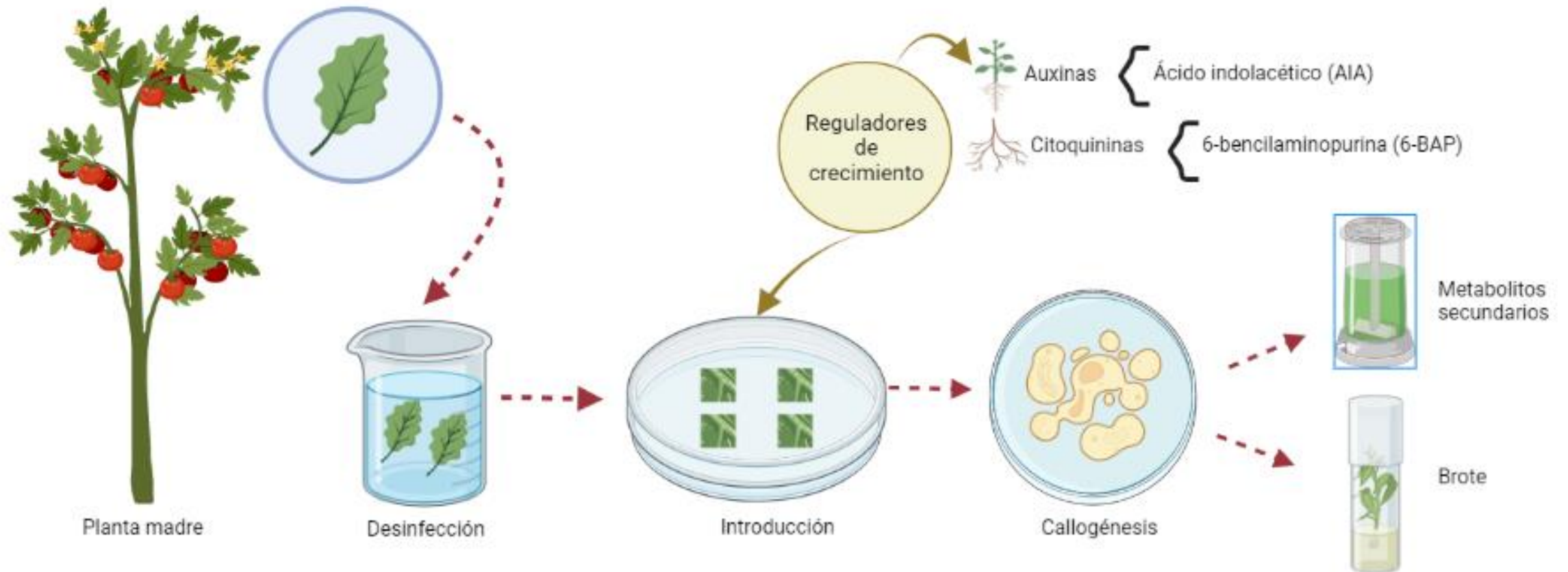


Aplicaciones



INTRODUCCIÓN

Etapas para la obtención de células madre



OBJETIVOS E HIPÓTESIS



OBJETIVO GENERAL

Inducir a células madre en hojas de *Rumex crispus* L., utilizando tres concentraciones de citoquininas y auxinas



OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar un protocolo de desinfección en hojas de *Rumex crispus* L., para la obtención de células madre 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
- Optimizar un medio de cultivo para la inducción a células madre de *Rumex crispus* L. y su conservación en el banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en la provincia de Pichincha.
- Obtener células madre de *Rumex crispus* L., para su conservación en el banco de germoplasma de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, utilizando tres concentraciones de 6- Bencilaminopurina (6-BAP) y Ácido indolacético (AIA).



HIPÓTESIS

Las diferentes concentraciones de citoquininas y auxinas inducen a la formación de células madre a partir de hojas en *Rumex crispus* L.



MATERIALES Y MÉTODOS

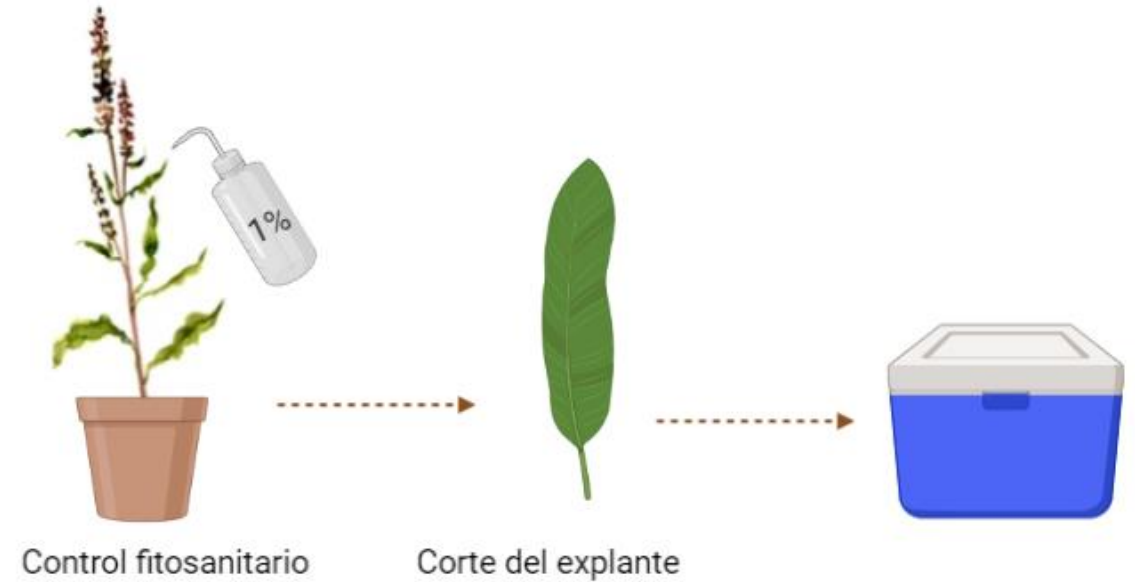


Obtención del material vegetal

Ubicación de recolección de las plantas

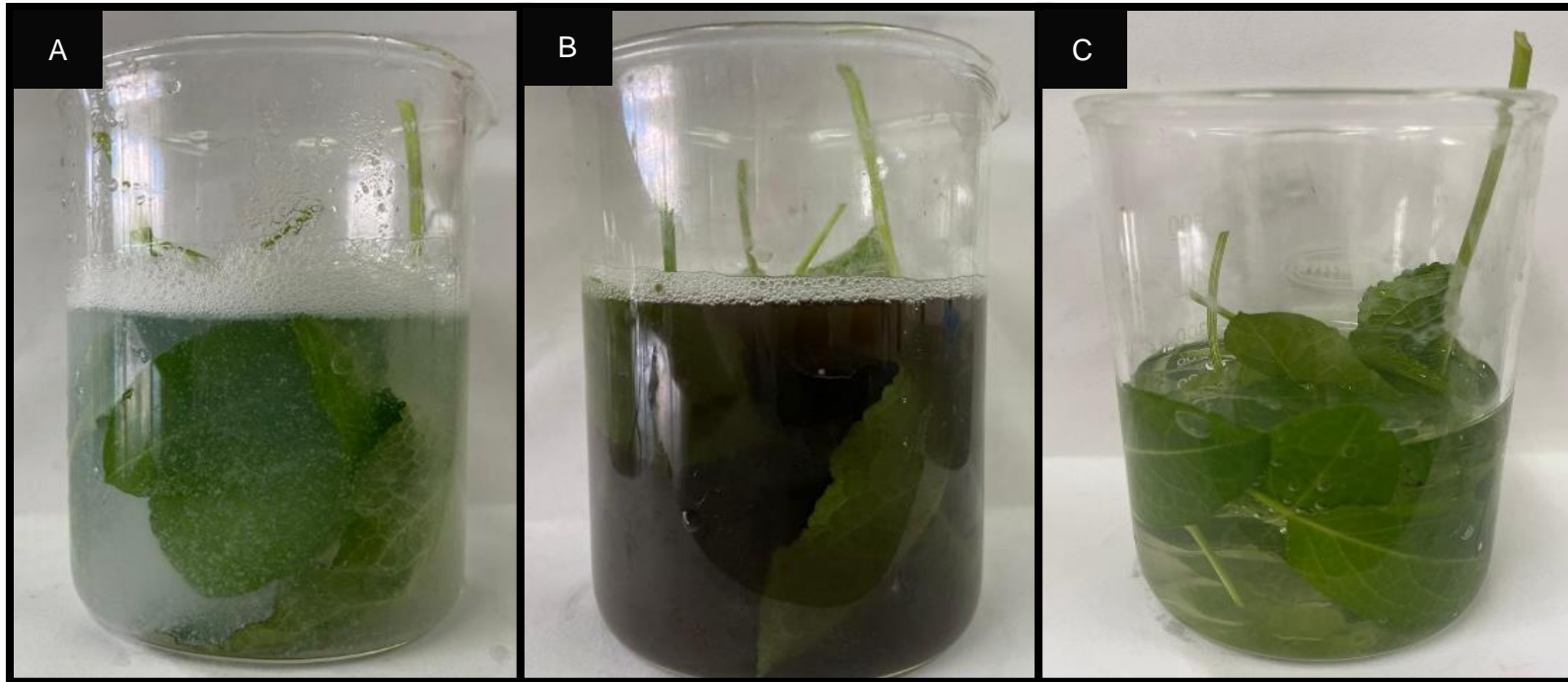


Proceso de obtención de la muestra



Fase de laboratorio

1. Desinfección



Explantos expuestos a soluciones de A) Detergente 2% (p/v), B) Fungicida (Phyton) 1% y 0.5 mL/L de Tween 20, C) **Hipoclorito de sodio**

Fase de laboratorio

1. Desinfección

Tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio

Tratamiento	Concentración de NaClO (% v/v)
T0	0
T1	4
T2	5
T3	6

Variable de respuesta

Contaminación

Fase de laboratorio

2. Optimización del medio de cultivo

Tratamientos utilizados para la optimización del medio de cultivo semisólido

Tratamiento	Concentración de sales Murashige y Skoog MS (g/L)	Concentración de Sacarosa comercial (g/L)
R1	1/2	15
R2	1	30

Variable de respuesta

Viabilidad



Fase de laboratorio

3. Inducción a células madre

Tratamientos de inducción a células madre para hojas de *Rumex crispus* L.

Tratamiento	6-BAP (mg/L)	AIA (mg/L)
T0	0	0
T1	1	0,39
T2	2	0,78
T3	3	1,17

Variable de respuesta

Presencia de células madre



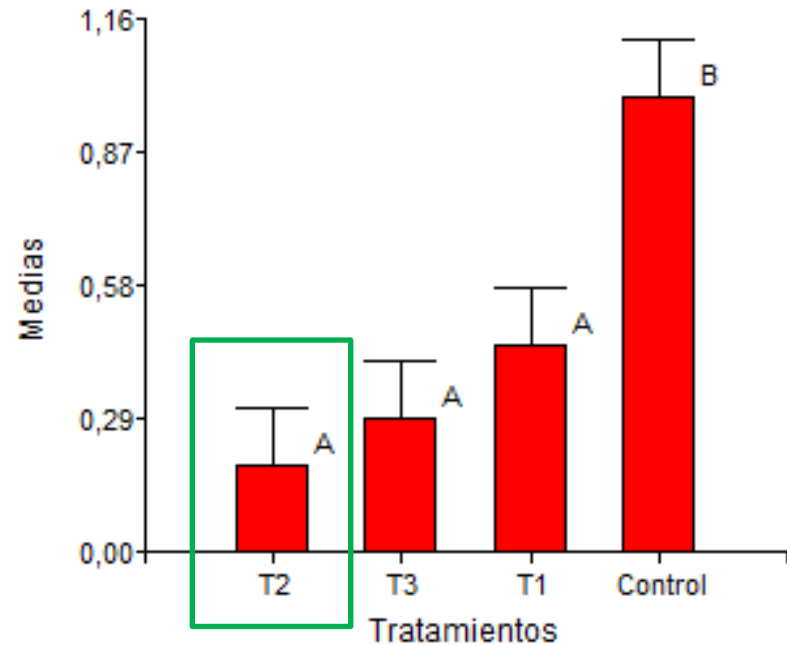
RESULTADOS Y DISCUSIÓN



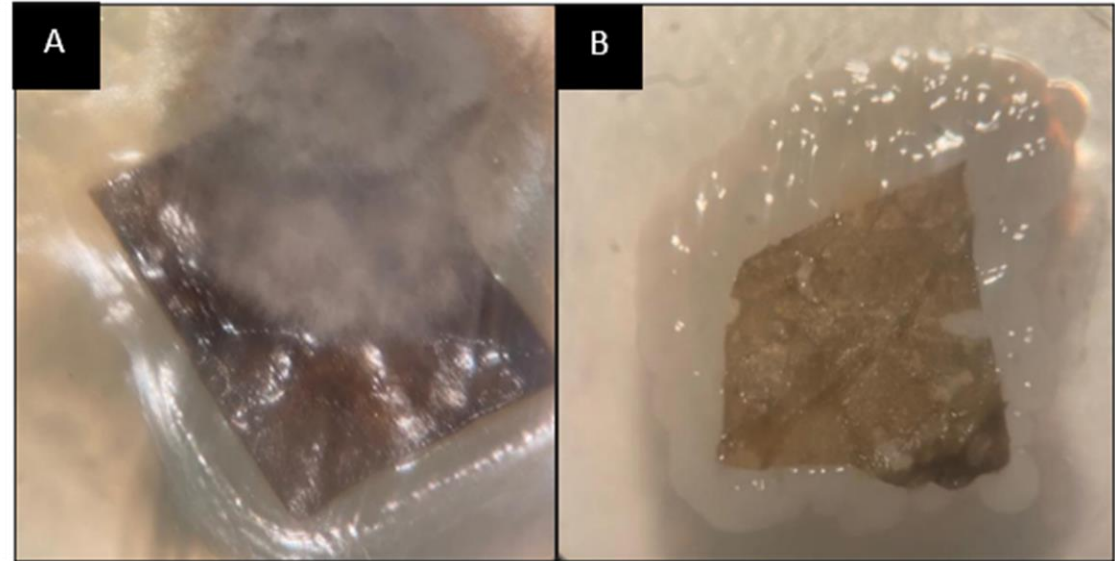
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Desinfección



Análisis de varianza Duncan a los 14 días de siembra.

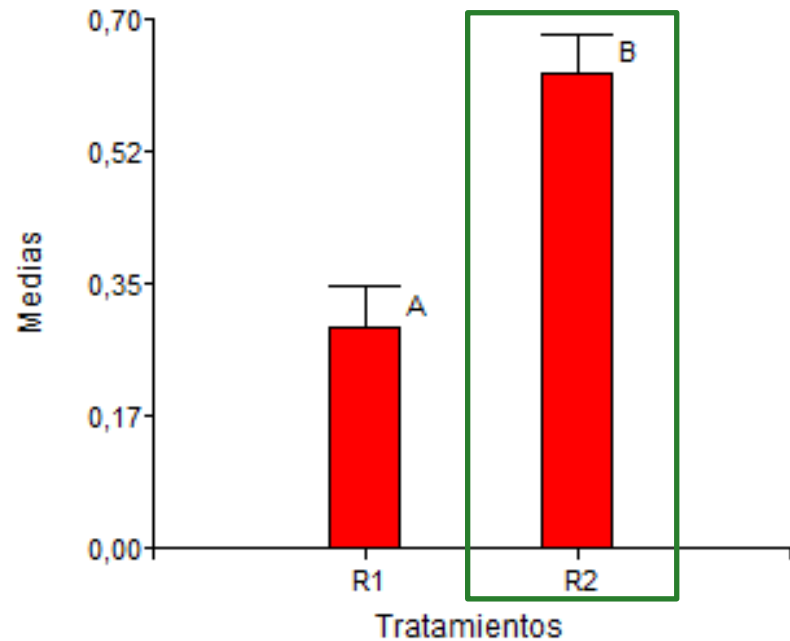


A) Contaminación por hongo, B) Contaminación por bacteria, a los 7 días de siembra

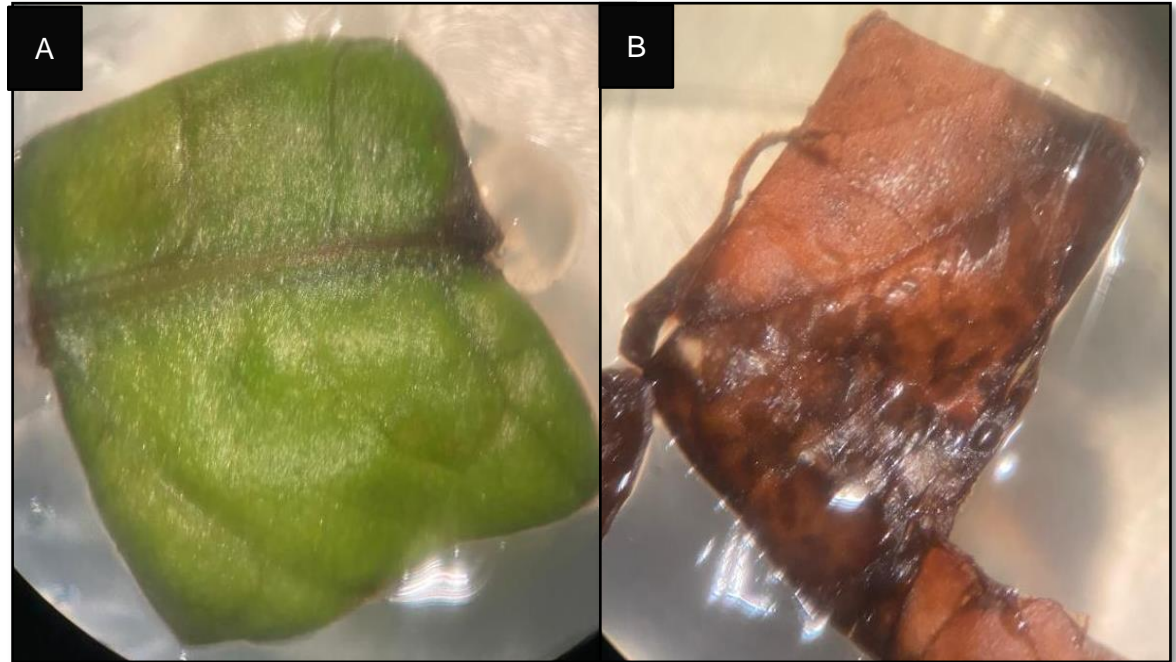


Uromyces rumicis

2. Optimización del medio de cultivo

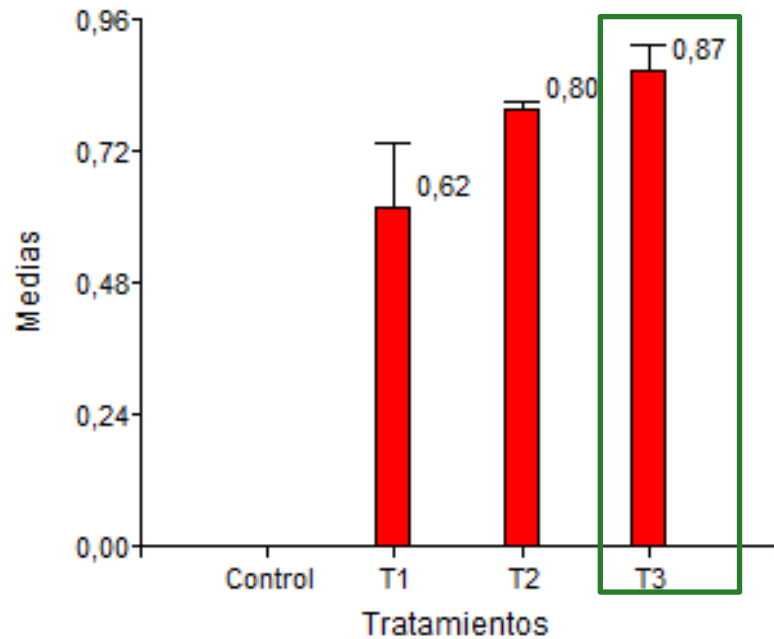


Análisis de varianza Duncan a los 14 días de siembra: R1, MS ½ y R2 MS completo

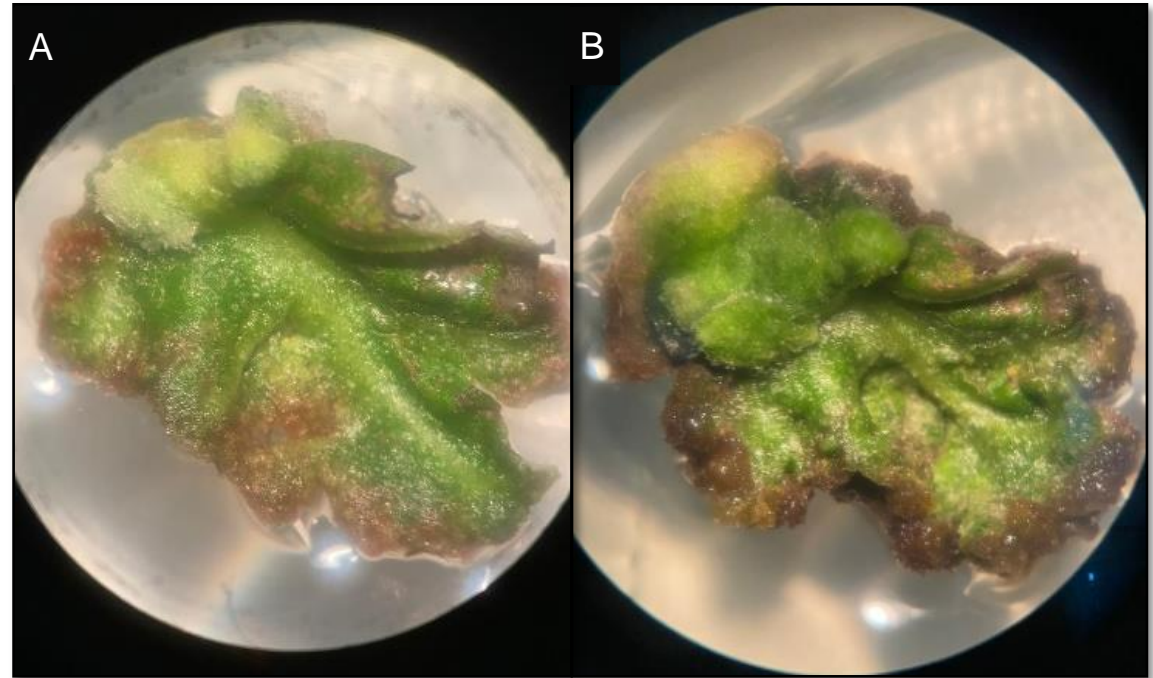


A) Explante viable MS completo y B) Explante no viable MS ½

3. Inducción a células madre

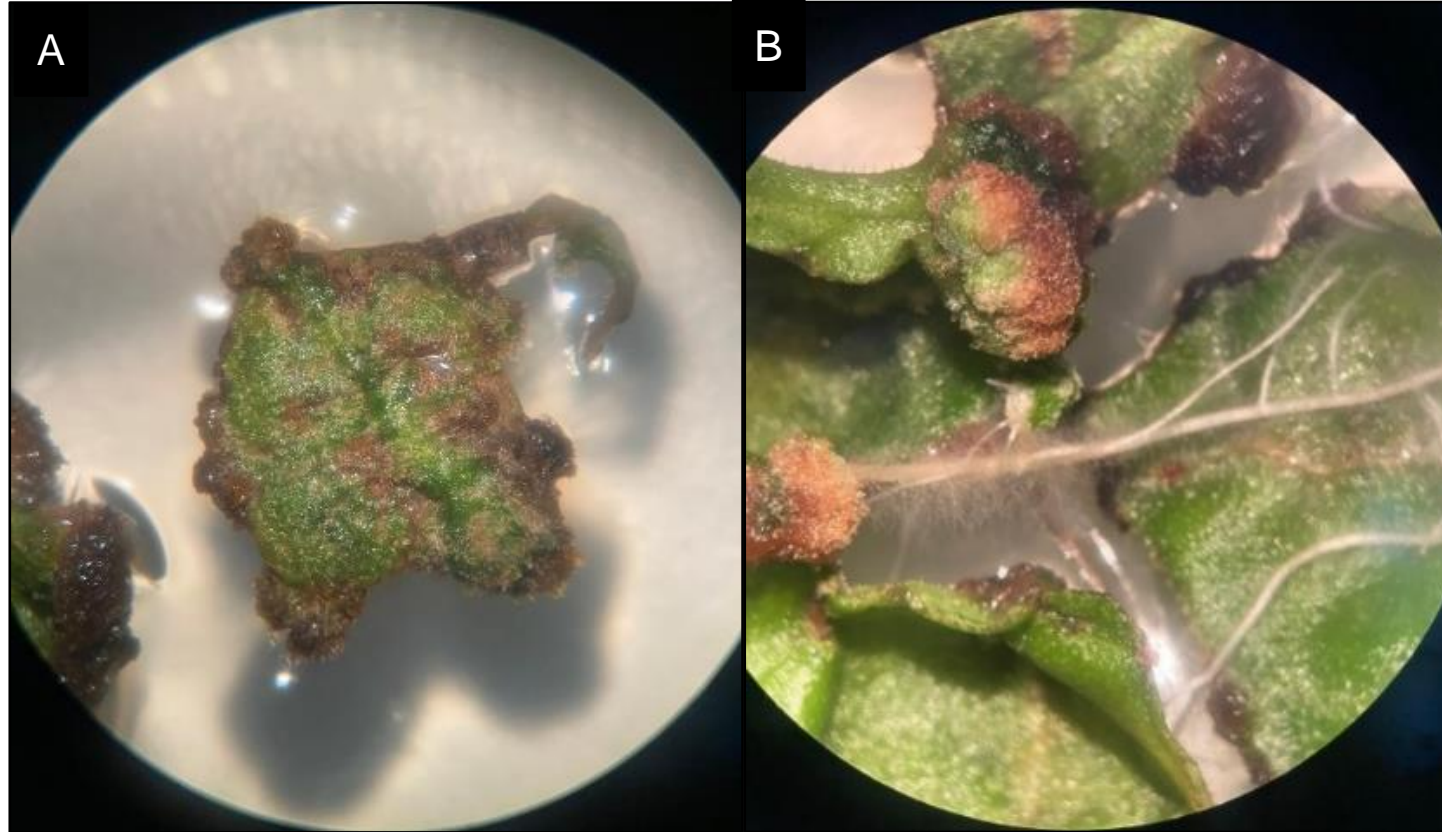


Medias correspondientes a los tratamientos T1, T2, T3 y control a los 49 días de siembra



Proceso de dediferenciación celular A) Células madre en el día 7 de cultivo B) Células madre en el día 49 de cultivo

3. Inducción a células madre



A) Células madre, B) Raíces adventicias a los 22 días de siembra

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

CONCLUSIONES

- Se estandarizó el protocolo de desinfección en hojas de *Rumex crispus* L., para la obtención de células madre. El mejor tratamiento obtenido corresponde al tratamiento 2, el cual se conforma de: detergente al 2% por 15 min, fungicida al 1% por 10 min, hipoclorito de sodio al 5% por 3 min, con un porcentaje del **81%** de explantes libres de contaminación.
- Se optimizó un medio de cultivo semisólido para la inducción a células madre de *Rumex crispus* L., donde el mejor tratamiento obtenido corresponde al tratamiento 2 que pertenece al medio con sales MS concentración completa, con un porcentaje de viabilidad del **62%**.
- Se obtuvo células madre a partir de hojas de *Rumex crispus* L., con un porcentaje de inducción a callo del **87%** en el mejor tratamiento, perteneciente al tratamiento 3, con las concentraciones de: 3 mg/L de 6-BAP + 1,17 mg/L AIA.

RECOMENDACIONES

- Es importante realizar la recolección del material vegetal en zonas con diferentes condiciones climáticas y seleccionar las hojas visiblemente sanas y jóvenes para analizar si su viabilidad aumenta.
- Se recomienda utilizar un mayor porcentaje de fungicida Phyton, el cual reduce la cantidad de agentes patógenos como hongos dentro del protocolo de desinfección de hojas de *Rumex crispus* L.,
- Se sugiere utilizar la combinación de diferentes reguladores de crecimiento como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), que ayuden a determinar la formación de células madre en la especie *Rumex crispus* L.



AGRADECIMIENTOS



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Mónica Jadán, Ph.D.

Directora del Proyecto de Investigación

Andrea Ortega, Mgtr

Técnica del laboratorio de cultivo de tejidos

Tesistas y pasantes

Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales

Familia

Amigas y Amigos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

¡MUCHAS GRACIAS!



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA