



**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*



# INTRODUCCIÓN

## Origen de *Rumex crispus* L.

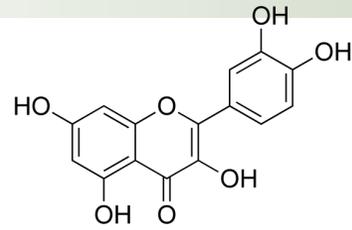


## Taxonomía de *Rumex crispus* L.

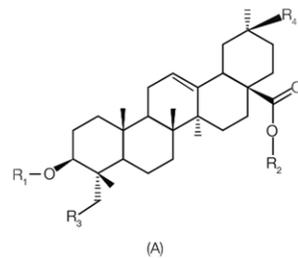
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Caryophyllales
<b>Familia</b>	Polygonaceae
<b>Género</b>	<i>Rumex</i>
<b>Especie</b>	<i>Rumex crispus</i> L.

# INTRODUCCIÓN

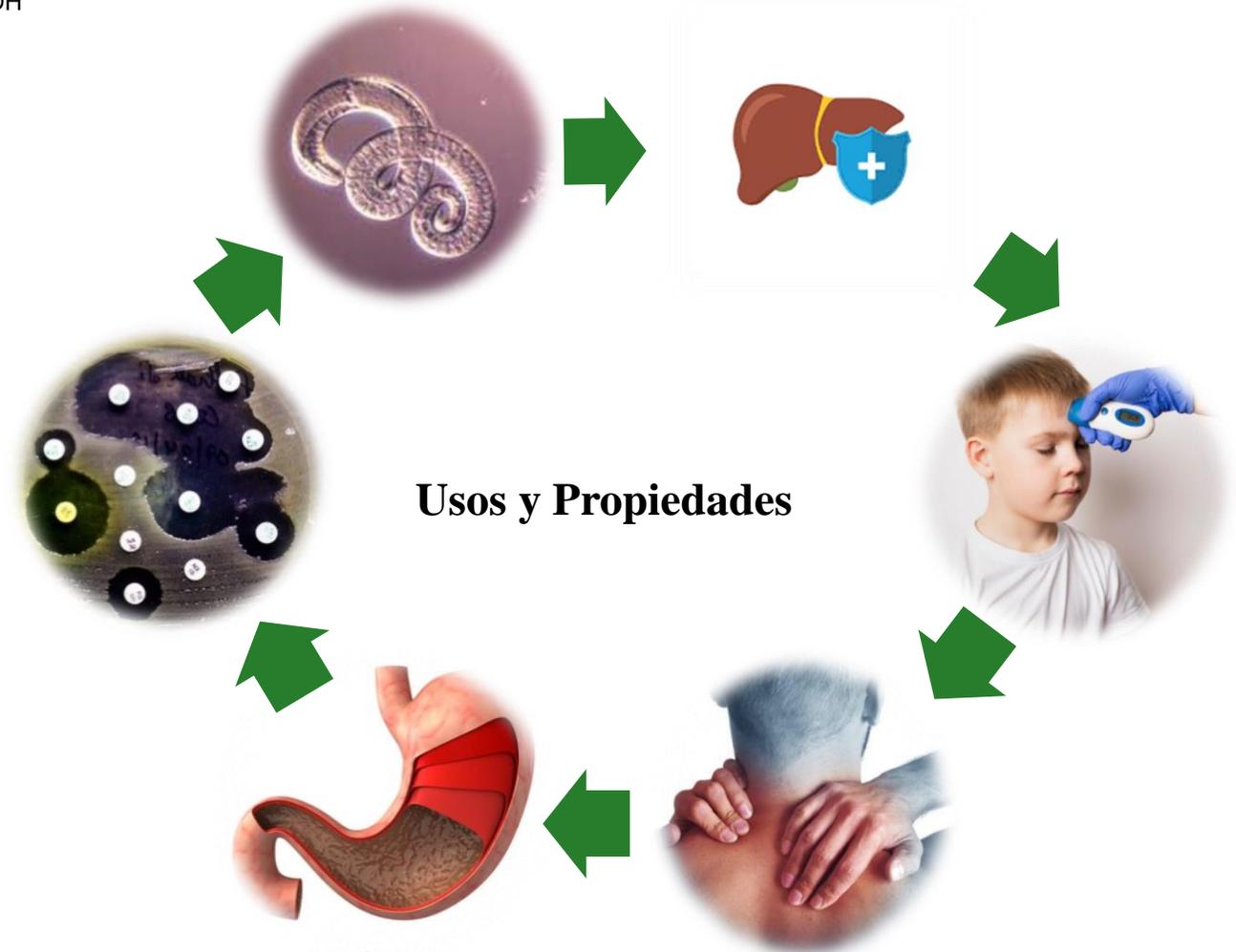
## Características botánicas de *Rumex crispus* L.



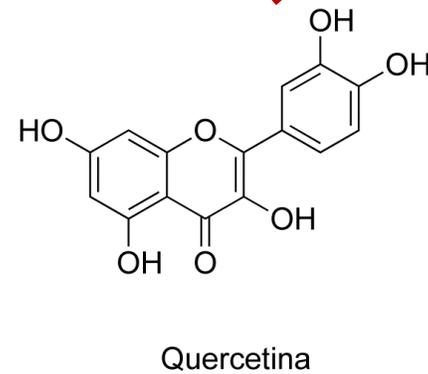
Quercetina  
Flavonoides



Saponinas



## Cultivo *in vitro*

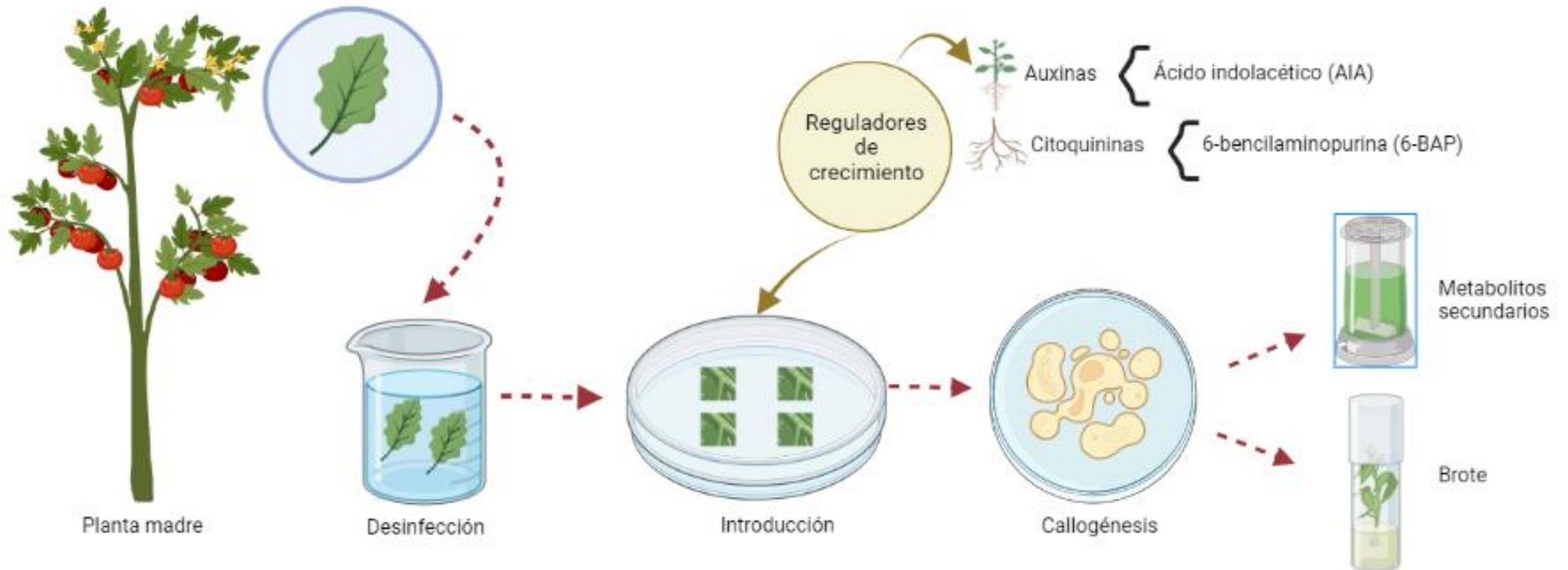


## Aplicaciones



# INTRODUCCIÓN

## Etapas para la obtención de células madre



# *OBJETIVOS E HIPÓTESIS*



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

## 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.

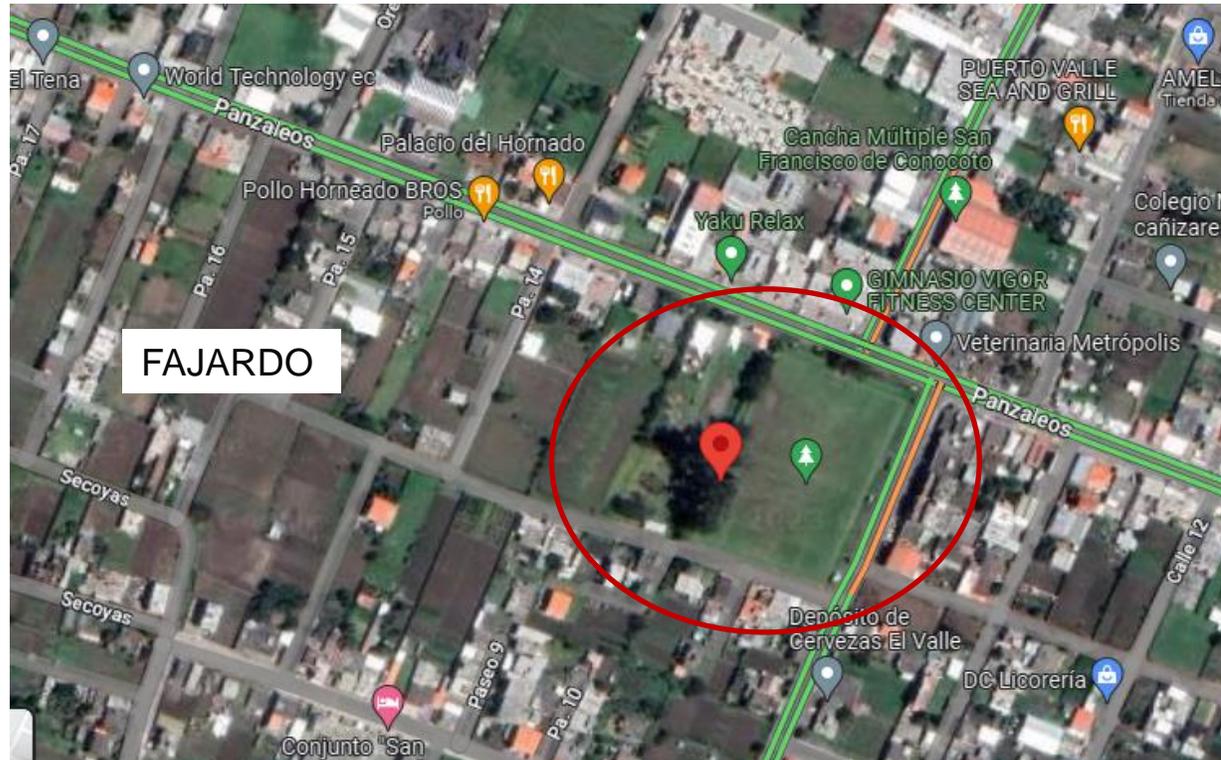


# ***MATERIALES Y MÉTODOS***

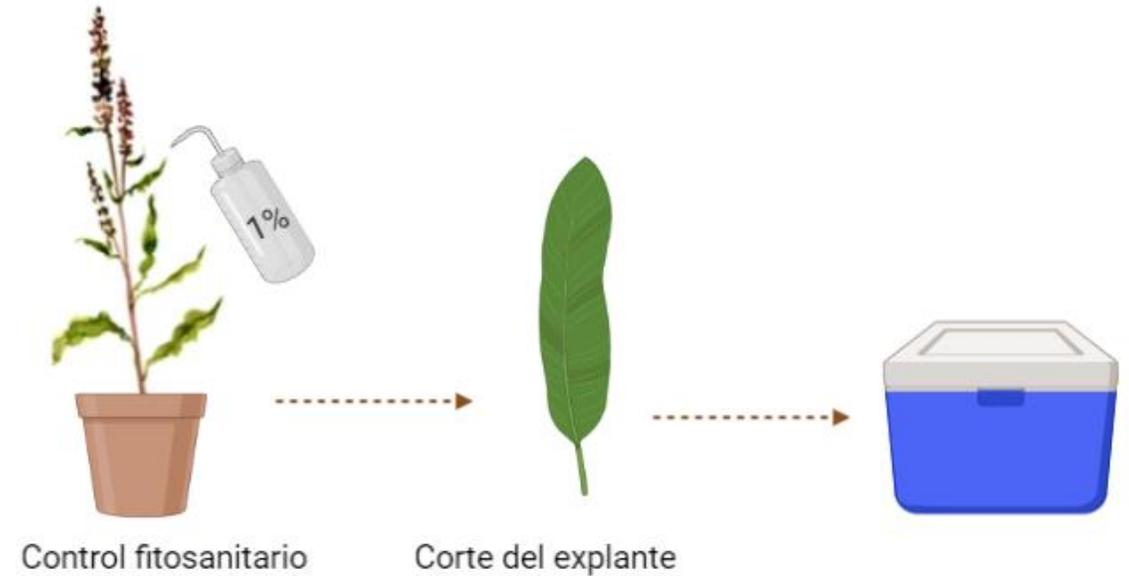


## Obtención del material vegetal

### Ubicación de recolección de las plantas

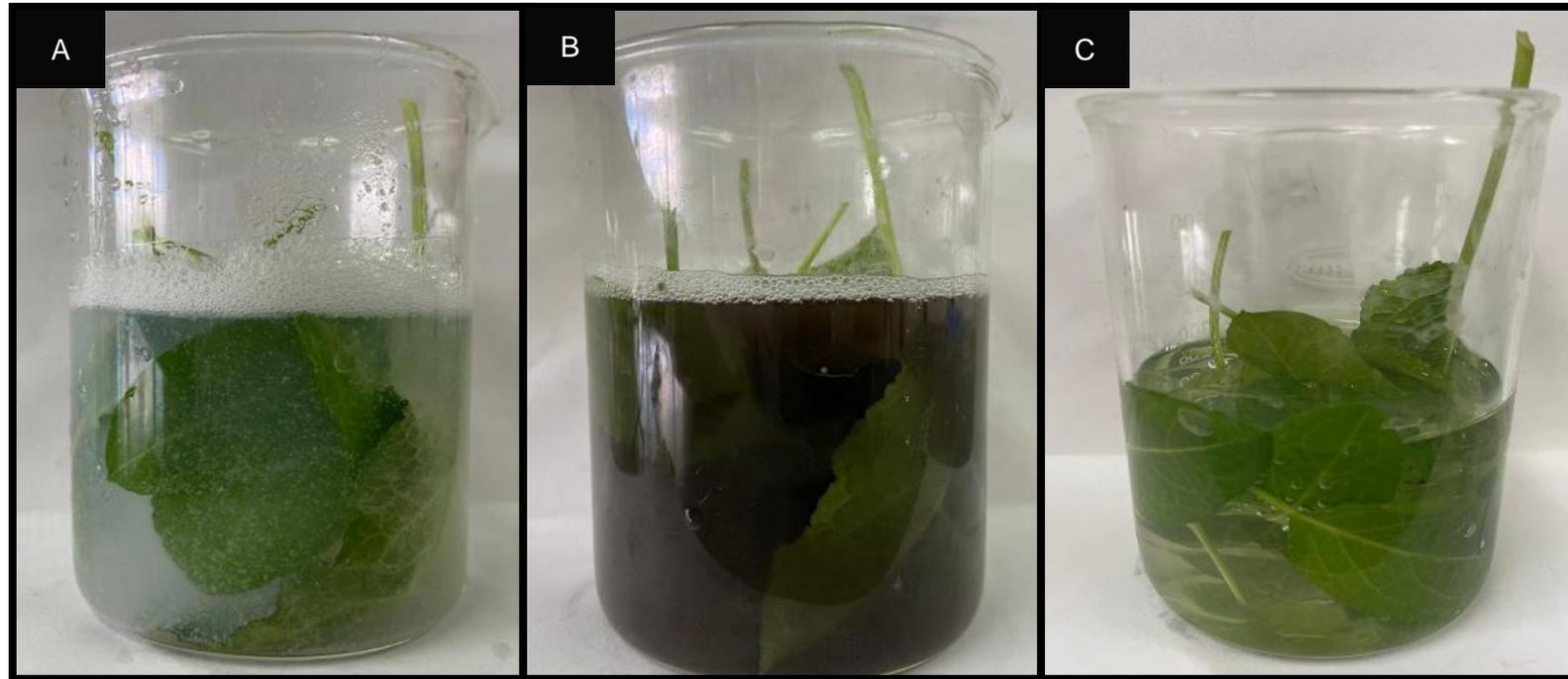


### Proceso de obtención de la muestra



## 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

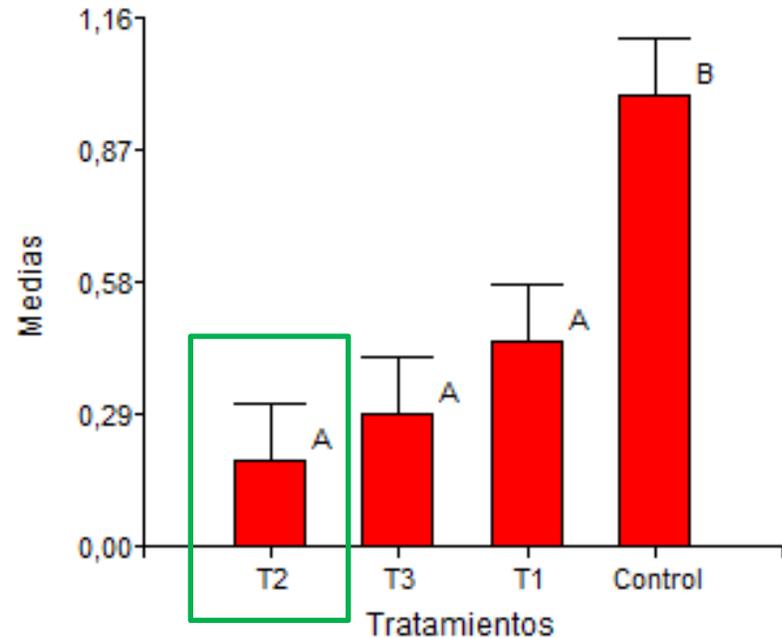


# *RESULTADOS Y DISCUSIÓN*

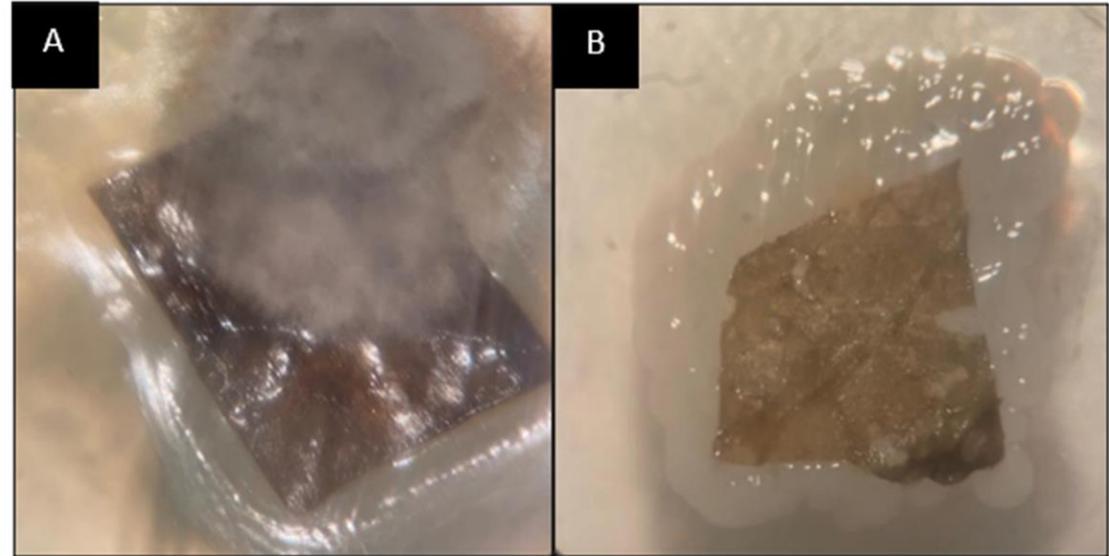


# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 1. Desinfección



Análisis de varianza Duncan a los 14 días de siembra.

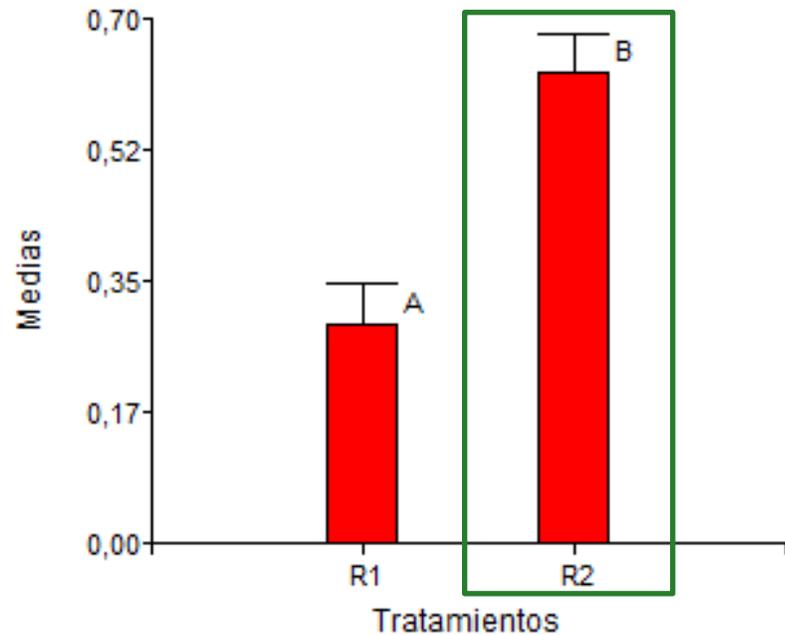


A) Contaminación por hongo, B) Contaminación por bacteria, a los 7 días de siembra

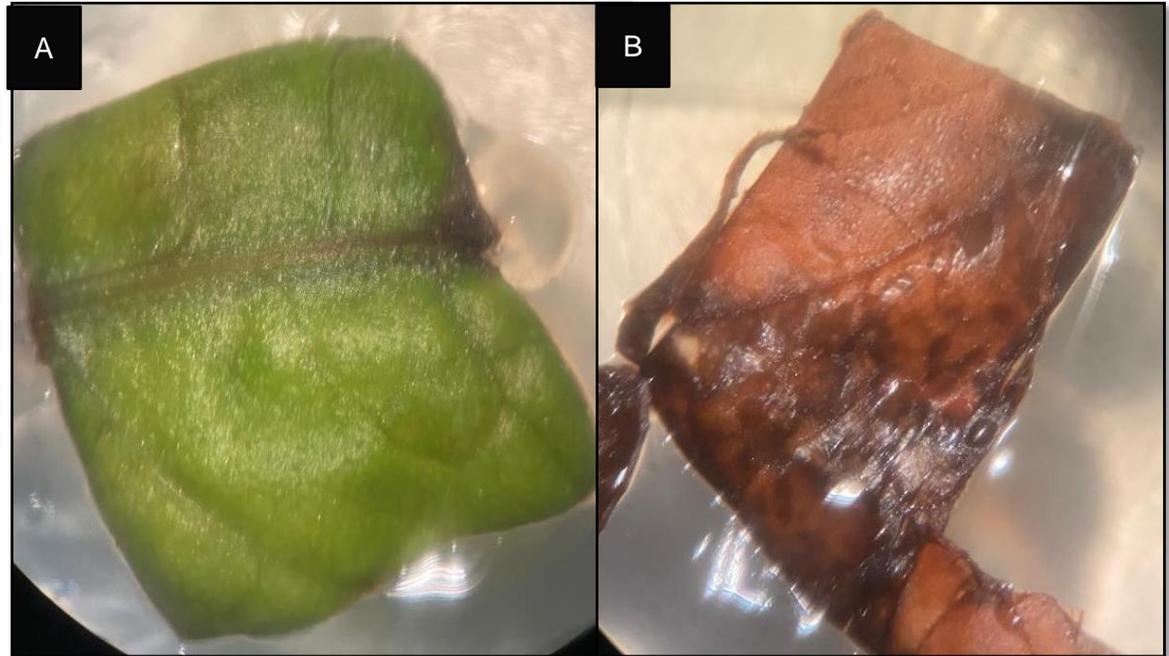


*Uromyces rumicis*

## 2. Optimización del medio de cultivo

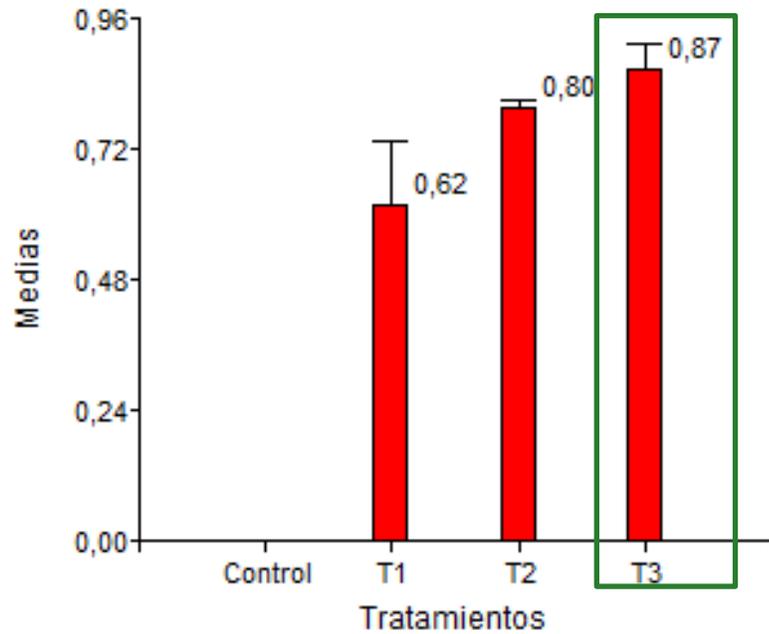


Análisis de varianza Duncan a los 14 días de siembra: R1, MS ½ y R2 MS completo

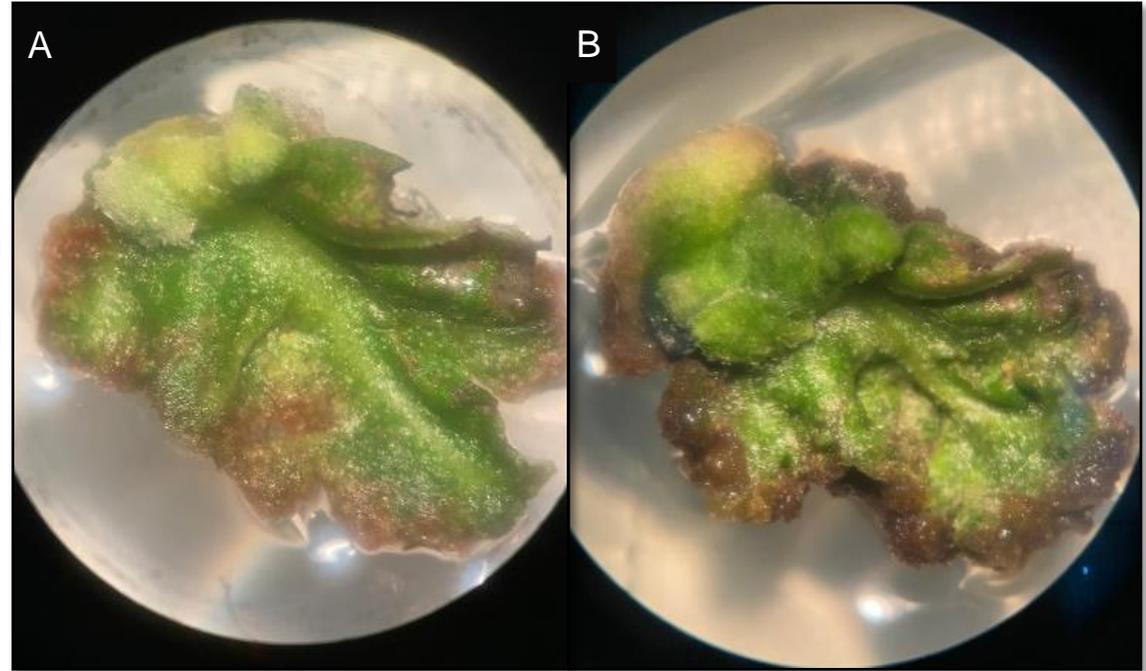


A) Explante viable MS completo y B) Explante no viable MS ½

## 3. Inducción a células madre

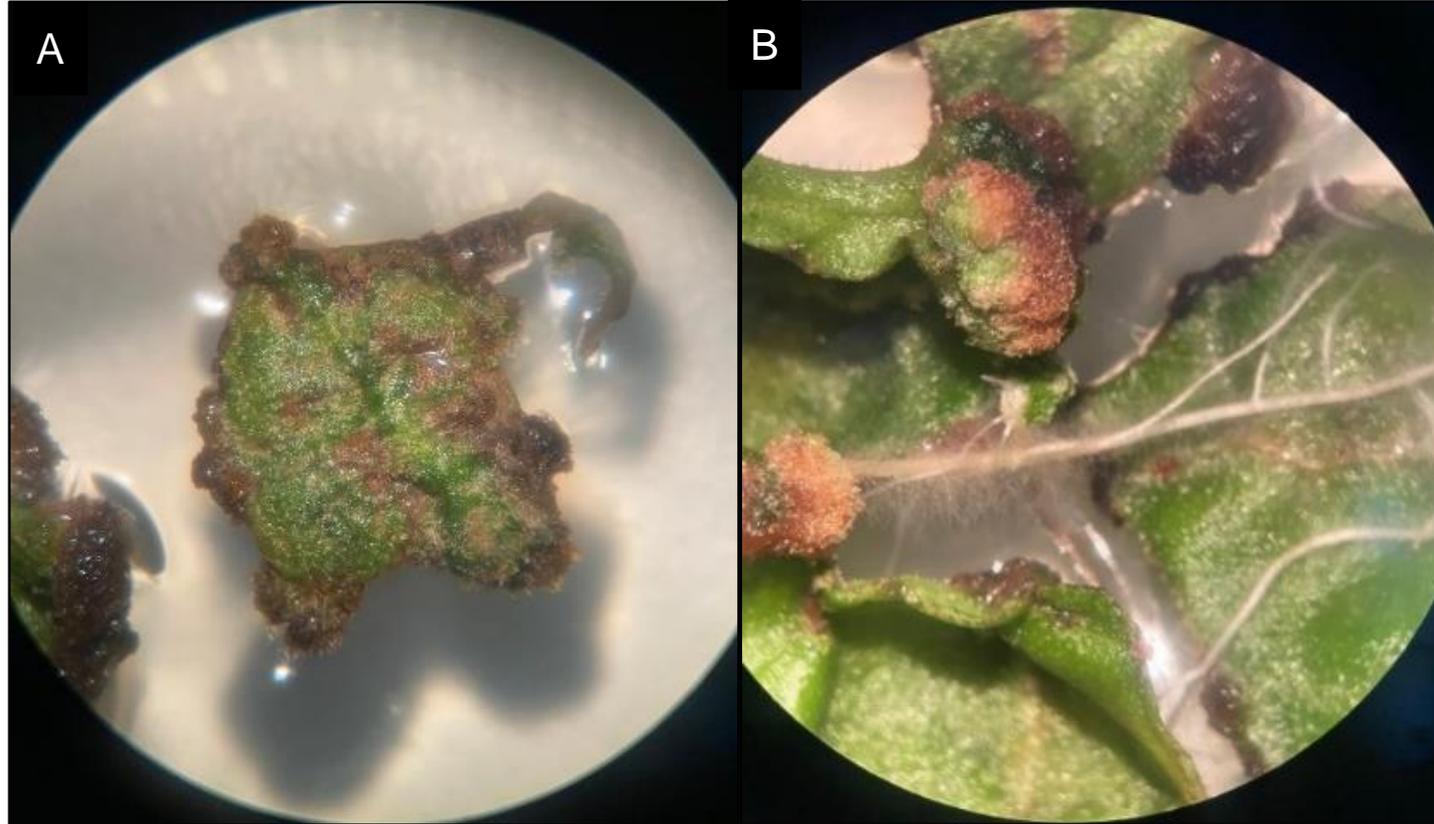


Medias correspondientes a los tratamientos T1, T2, T3 y control a los 49 días de siembra



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