



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

“Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Fabaceae en Bosques Andinos del Ecuador”

Elaborado por: Sandoval Zambrano, Carlos Augusto

Directora: Proaño Tuma, Karina Isabel PhD.

Sangolquí, 31 de agosto de 2022





Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

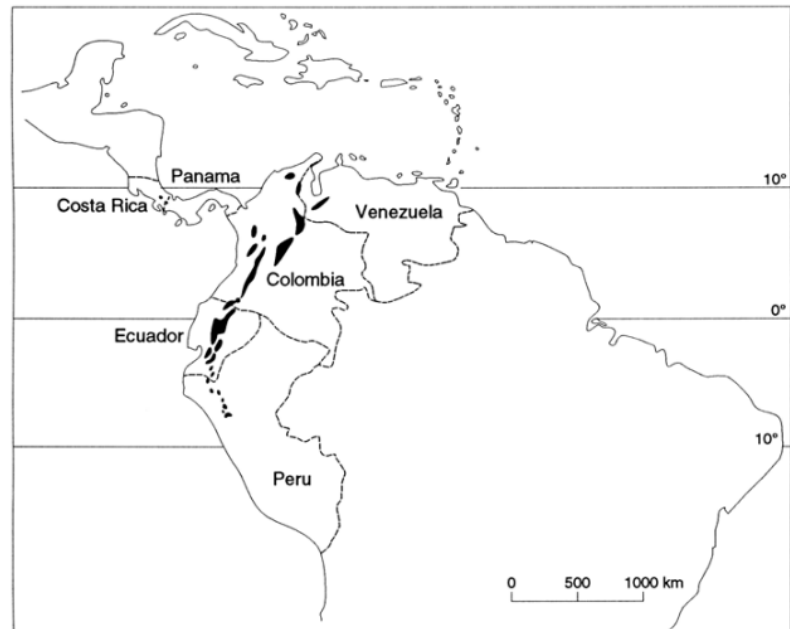
Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Los páramos como ecosistemas andinos

Distribución de los páramos en el Neotrópico:



Rango altitudinal desde los 3000 a 5000msnm

Páramos en el Ecuador:



Parque Nacional Cayambe-Coca

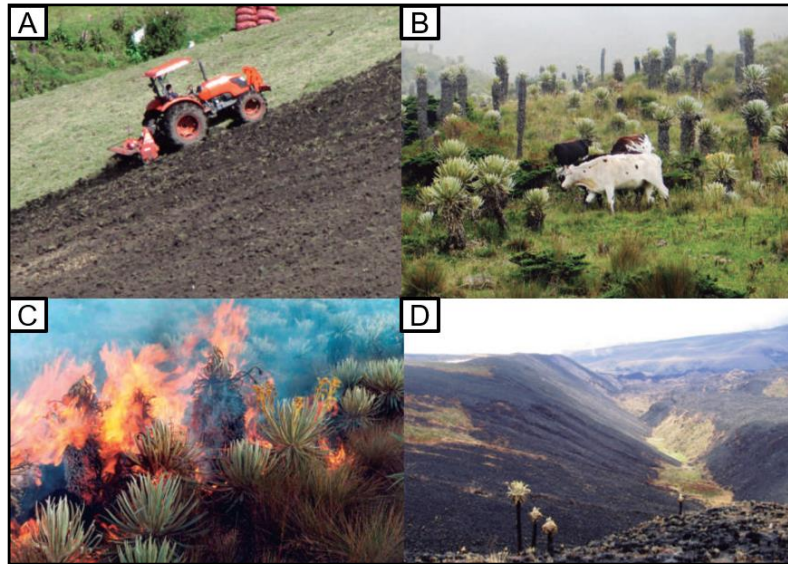
Poseen alta biodiversidad

Temperaturas oscilan
entre 3 a 20°C

La presión atmosférica y
densidad de aire son bajas

Afectaciones e importancia de los páramos

Disturbios en el ecosistema andino:



Afectaciones antrópicas en los páramos: A) Agricultura, B) Ganadería extensiva, C) y D) Incendios

Importancia del páramo:



Vegetación del ecosistema de páramo

Brindan servicios
ecosistémicos

Regulan recursos hídricos
y el clima

Albergan 2000 especies
de plantas vasculares

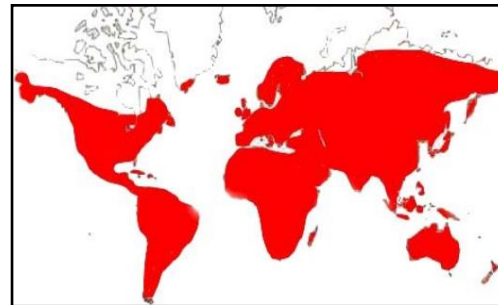
Familia Fabaceae

Cosmopolita

Son herbáceas, arbóreas, trepadoras y arbustivas



Planta representativa de la familia Fabaceae en el páramo



Distribución mundial de la familia Fabaceae

Usos en alimentación y forraje

Poseen 750 géneros en el mundo

Género *Lupinus*



Flor característica del género *Lupinus*

Poseen 20 especies en la zona andina

Fijan de nitrógeno al suelo

Poseen metabolitos secundarios

Especies del género *Lupinus* de estudio

Lupinus pubescens
(Benth) K. T. Hartweg



Hábito: arbustivo
Altitud: 3629.7m

Lupinus microphyllus Desr



Hábito: arbustivo
Altitud: 3728.3m

Lupinus tauris (Benth) K. T.
Hartweg



Hábito: arbustivo
Altitud: 3712.7m

Estrategias para la conservación y restauración ecológica

Herbarios o arboretos



Líneas base de identificación

Bancos de germoplasma



Bancos de semillas ortodoxas

Cultivo *in vitro*



Estandarización de protocolos de introducción



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Objetivo General

Caracterizar la morfología y germinar semillas de la familia Fabaceae en Bosques Andinos del Ecuador.



Objetivos Específicos

- Recolectar muestras de plantas y semillas para describirlas generando una línea base de la familia Fabaceae.
- Identificar las características morfológicas y fisiológicas de las especies de la familia Fabaceae con énfasis en sus frutos y semillas.
- Analizar la viabilidad en las semillas de la familia Fabaceae mediante la prueba colorimétrica de tetrazolio.
- Determinar los parámetros de germinación *in vitro* en las semillas de la familia Fabaceae.



Hipótesis

Los tratamientos de germinación *in vitro* permiten incrementar el porcentaje de germinación de las semillas de la familia Fabaceae





Introducción

Objetivos e Hipótesis

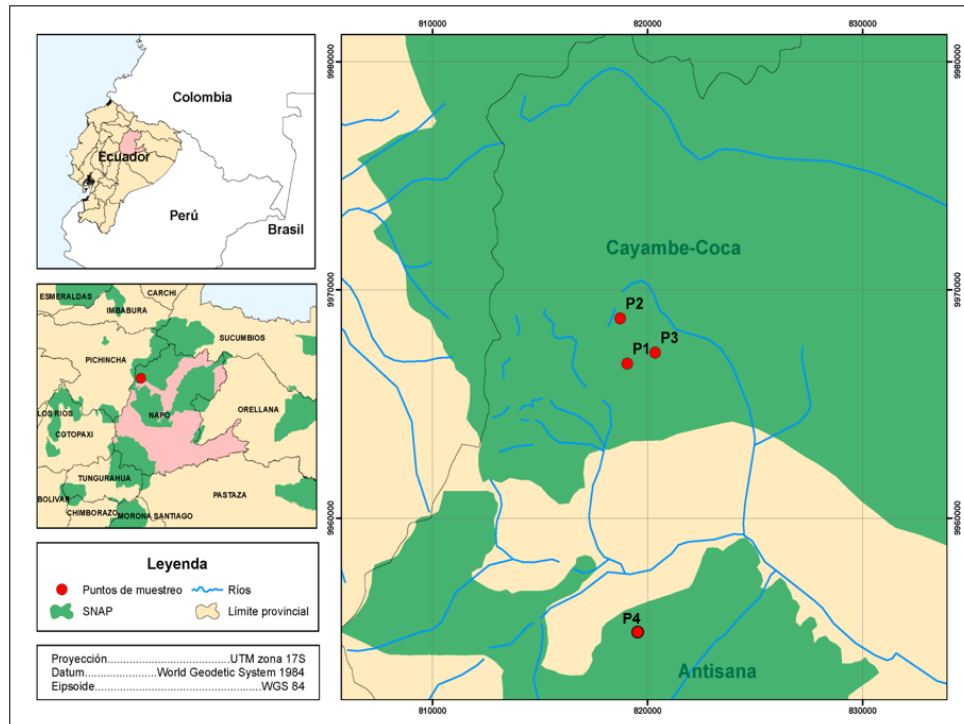
Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Ubicación del área de estudio



Área de investigación: Parque Nacional Cayambe-Coca y Reserva Ecológica Antisana

Plot 1



Bosque

Plot 2



Laguna

Plot 3



Ladera

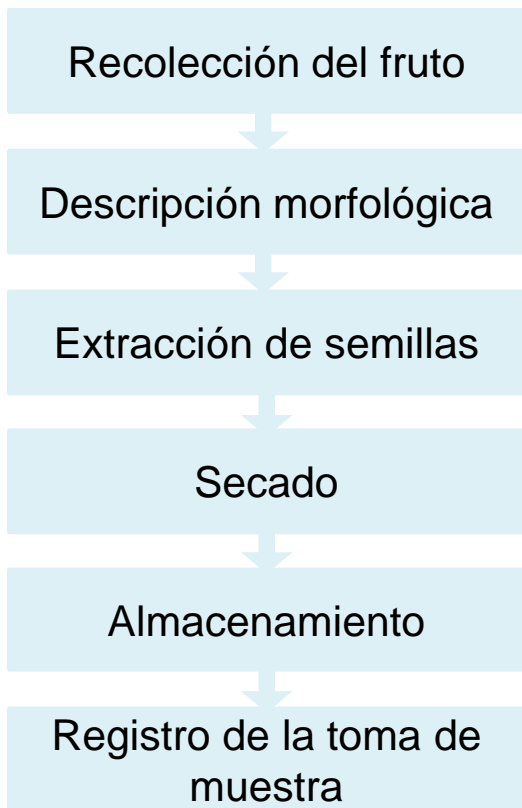
Plot 4



Antisana

Material vegetal

Pretratamiento:



Registro:

BIO-GEEC: SUBPROYECTO 3- SEMILLAS ANDINAS HANS-BANK											
MUESTREO EN CAMPO											
Nombres y apellidos del investigador		Fecha		Lugar (parque, sector, manor)		Rótulo "Coyombe-Café"		N° Plot ó descripción del sitio de recolección			
Sandoval, C.		4/3/21		17M		817587794224		X			
Descripción breve del sitio		Hora		Coordenadas							
Lluvioso		9:44									
Accesión número (código)		T (°C)		Altitud (metros)		Cuadrante					
PXCXC55001		12		3629,7 metros							
Familia		Nombre científico/común		Tipo de muestra colectada		Semillas (Frutos)		Hojas		Muestra herbaria	
Fabaceae		Lupinus hispanicus		X		X					
Descripción morfológica/fisiológica de la planta (tallo, hojas, frutos, semillas, raíces)											
Flores		No presento flores									
Hojas		De 6 a 8 foliolos de 4 a 8 cm de largo y 9 a 16 mm de ancho. Pecíolo de 2 a 3 cm de largo									
Tallo/tronco		Arbustivo y ramificado superiormente. Presentaba pelos/velloridades de color blanco.									
Frutos		Legumbre o vaina de 4 a 6 cm de largo y 7 a 10 mm de ancho.									
Semillas		De color verde en estado inmaduro y negras en legumbres maduras. Ancho: 10.2 mm / Largo: 2.03 mm									
Raíces											
Abundancia de la población de la planta		Muy abundante (mayor al 20%)		Abundante (5-20%)		Poco abundante (1-5%)		Rara (<1%)		Frecuencia de la muestra recolectada	
		X						X		Muy abundante (mayor al 25%)	
Estado fenológico		Vegetativo		Floración		Con semillas maduras		Población aislada de otras		Número de plantas muestreadas	
		X		X		X		X		2	
Fotografía		X		Si		No		Método de muestreo		Forma de vida de la planta	
		X		X		X		X		Arbusto	

Registro de muestras recolectadas en el páramo

Descripción:

 <p>Foto: Sandoval, C.</p>	DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE Nombre científico: <i>Lupinus microphyllus</i> (Desr.) Familia: Fabaceae Rango altitudinal: 2500 – 4500 msnm Forma de vida: Arbustivo
	MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LA ESPECIE Flor: Color morado con blanco en racimos pequeños Hojas: Pecíolos cortos y de 6 a 8 foliolos de 1 a 3cm de largo Tallo: Vellosidades de color blanco Fruto: Legumbre dehiscente de 2 a 3cm de largo
DATOS ADICIONALES Usos: Restauración de suelos Propiedades: anti bactericidas	DISTRIBUCIÓN Azuay, Bolívar, Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Napo, Pichincha, Tungurahua
Fuente: Quintana, W. (2019). Sinopsis del Género Lupinus (Fabaceae) Presentes en la Provincia de Cotopaxi. Smith, C. P. 1944. The genus Lupinus in Ecuador. 23–25: 364–390. In C. P. Smith Sp. <i>Lupinus</i> . C. P. Smith, Saratoga. Jørgensen, P. M. & C. Ulloa Ulloa. 1994. Seed plants of the high Andes of Ecuador—A checklist. AAU Rep. 34: 1–443.	

Descripción morfológica de las especies recolectadas

Caracterización morfológica

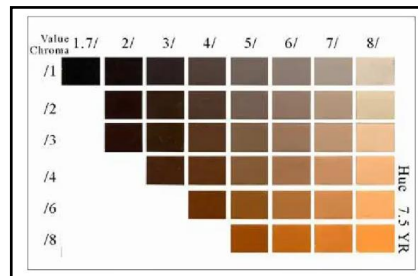
Parámetros cualitativos:

Color dominante (n=100)

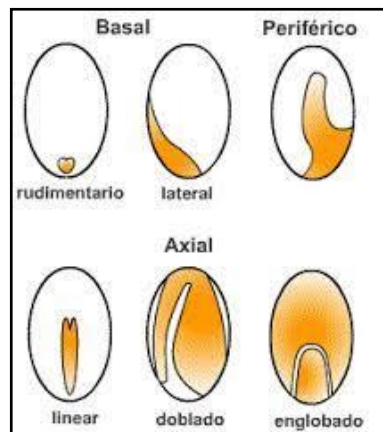
Forma y patrón de manchas (n=100)

Tipo de testa (n=10)

Tipo de embrión (n=10)



Paleta Munsell



Tipos de embrión

Parámetros cuantitativos y fisiológicos:

Tamaño (Largo, ancho y grosor) (n=100)

Peso (n=1000)

Contenido de humedad (n=100)

3h a 105°C



Ensayo de viabilidad

Prueba colorimétrica de tetrazolio:

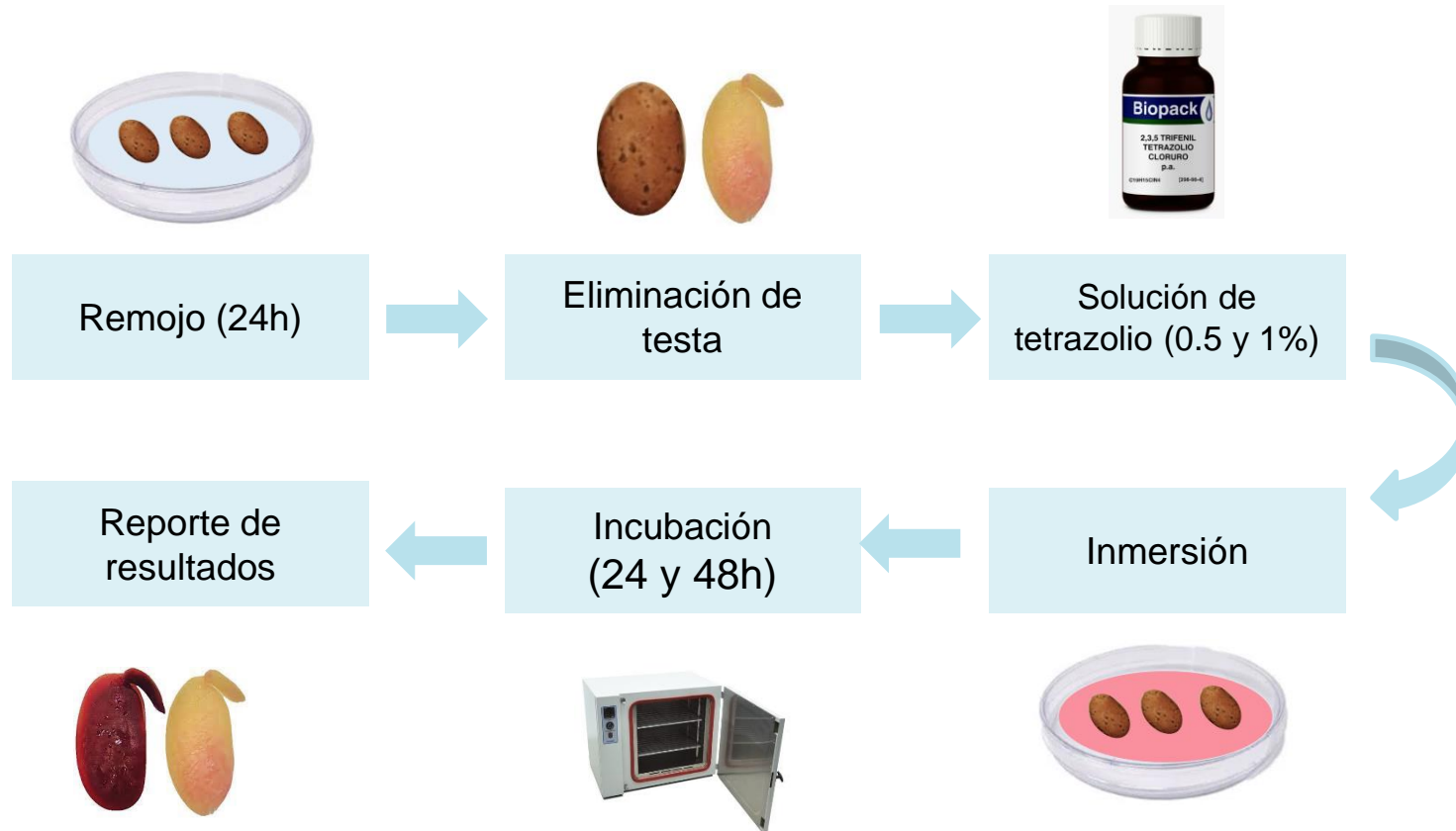


Tabla 1. Distribución de los tratamientos de viabilidad para las semillas del género *Lupinus*.

Tratamiento	Concentración de tetrazolio [%]	Tiempo de inmersión [Horas]
TZ1	0.5	24
TZ2	1	24
TZ3	0.5	48
TZ4	1	48

Ensayo de germinación

Desinfección de las semillas:

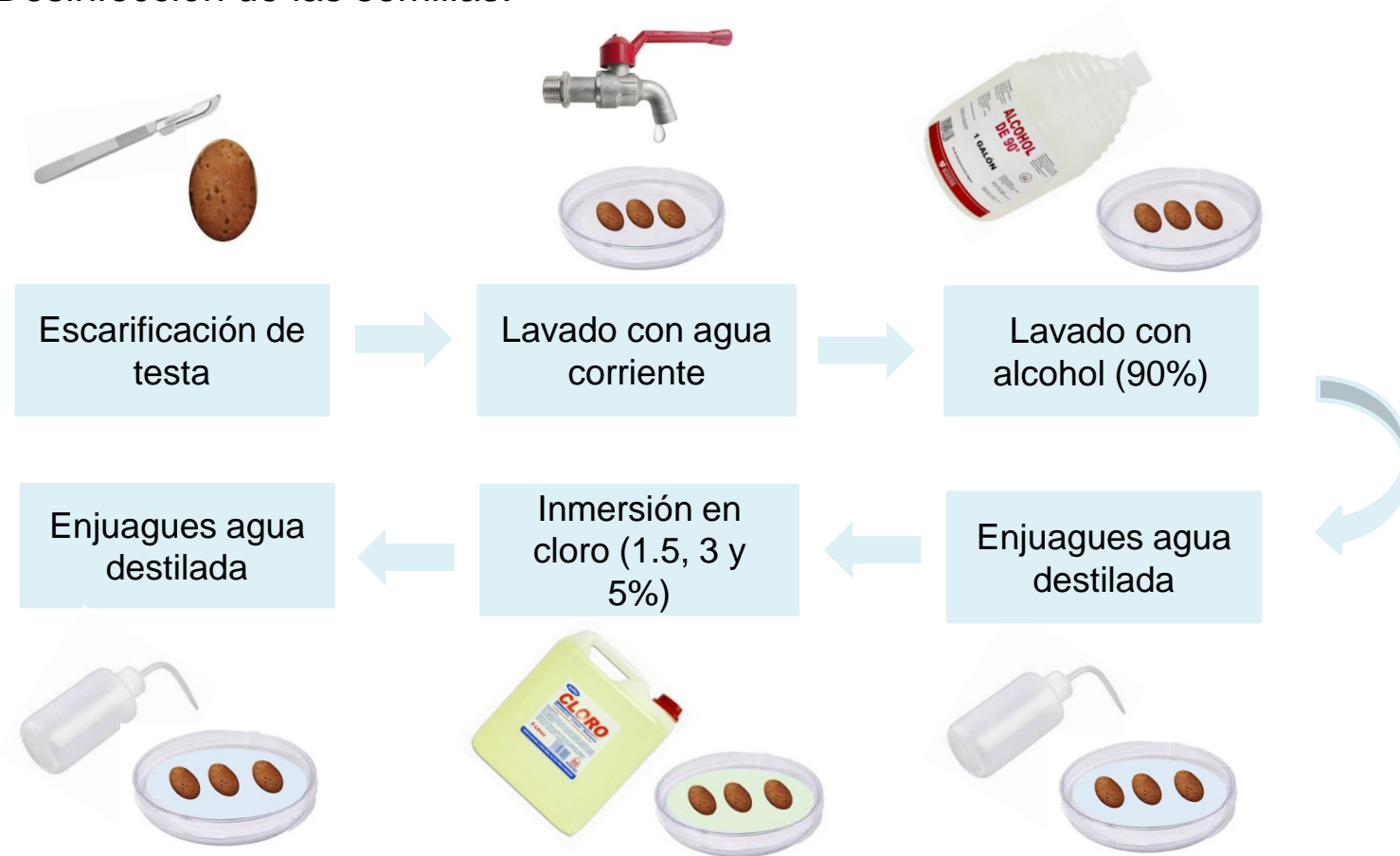
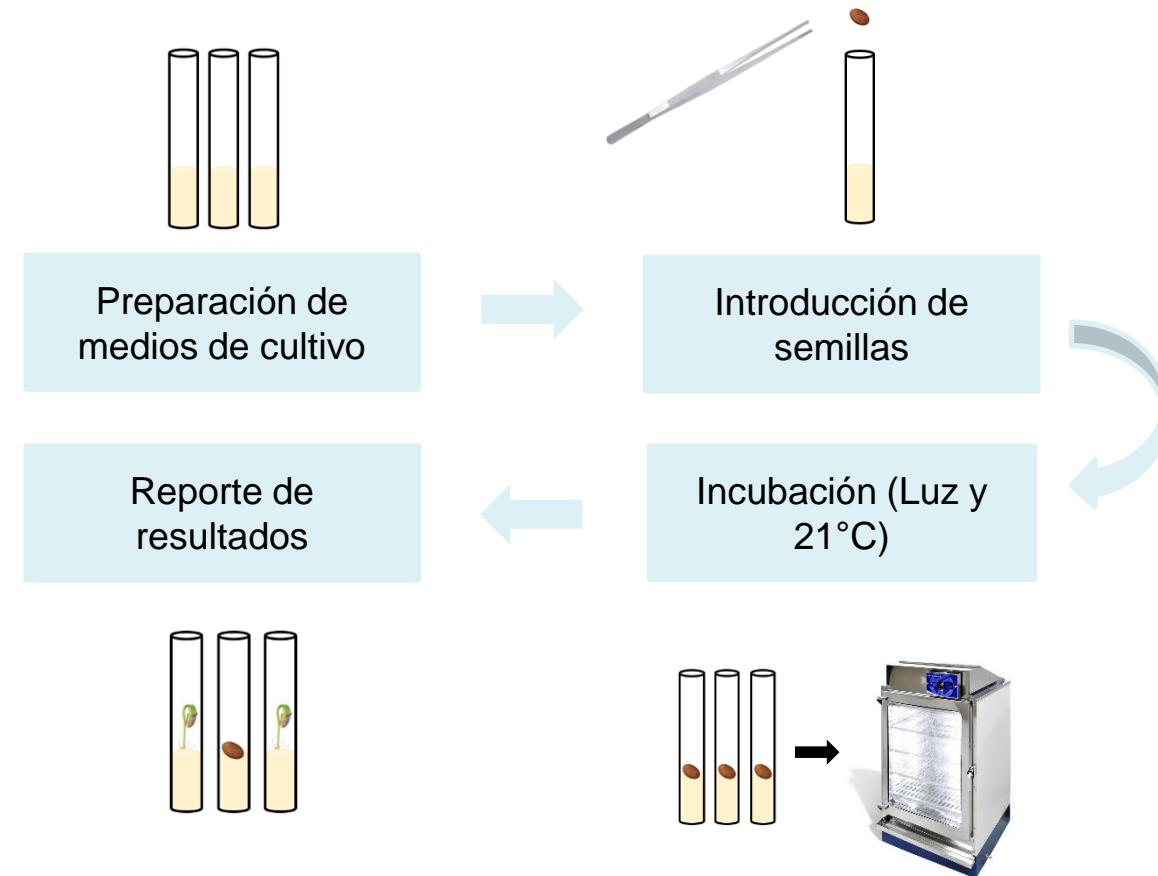


Tabla 2. Distribución de los tratamientos de desinfección para las semillas del género *Lupinus*.

Tratamiento	Concentración de Hipoclorito de Sodio (NaClO) [%]
TD1	1.5
TD2	3
TD3	5

Ensayo de germinación

Germinación de las semillas:



Factores evaluados:

Índice de latencia

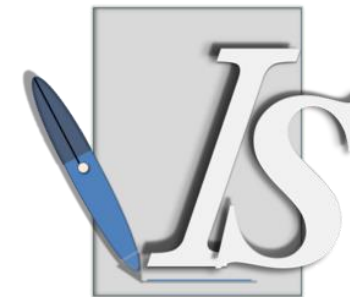
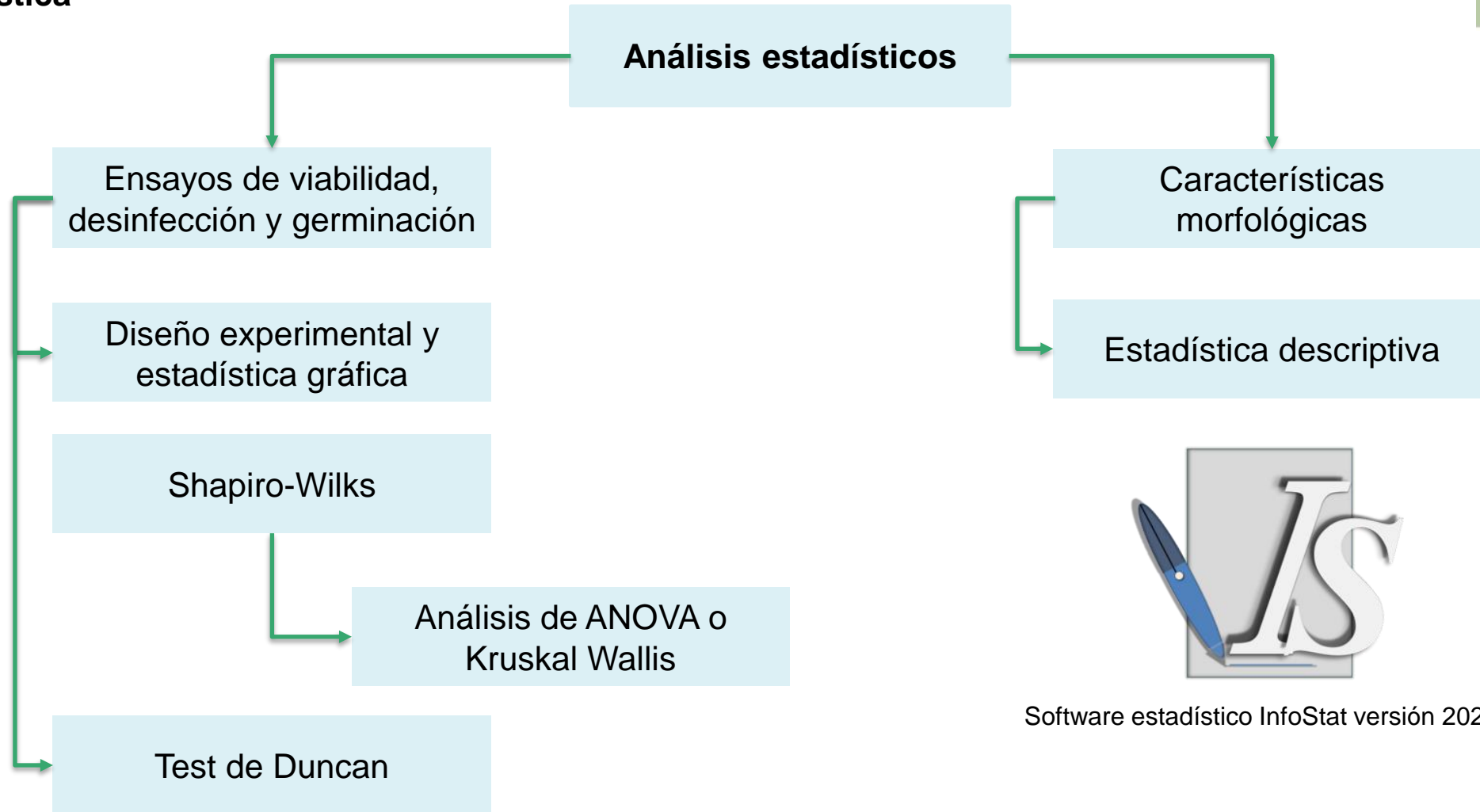
Germinación acumulativa

Capacidad germinativa

Tabla 3. Distribución de los tratamientos de germinación para las semillas del género *Lupinus*.

Tratamiento	Concentración de Ácido Giberélico (AG ₃) [mg/L]
TG1	0
TG2	0.5
TG3	1

Estadística



Software estadístico InfoStat versión 2020



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones



Caracterización morfológica

Parámetros cualitativos:



Figura 1. Semillas de: A) *L. tauris*, B) *L. pubescens*, C) *L. microphyllus*.

Testa dura y lisa

Embrión axial
doblado

Tabla 4. Características cualitativas de las semillas de estudio

Especie	Forma	Color	Manchas
<i>L. pubescens</i>	Oval	Negro	Ninguna
<i>L. microphyllus</i>	Oval aplanada	Naranja	Salpicada
<i>L. tauris</i>	Oval aplanada	Gris claro	En ceja/salp.

Caracterización morfológica

Parámetros cuantitativos y fisiológicos:

Tabla 5. Características cuantitativas de las semillas de estudio.

Especie	Largo (cm)	Ancho (cm)	Grosor (cm)	Semillas por fruto
<i>L. pubescens</i>	0.455 ± 0.020	0.339 ± 0.023	0.214 ± 0.019	3.06 ± 1.11
<i>L. microphyllus</i>	0.296 ± 0.016	0.205 ± 0.012	0.133 ± 0.016	4.27 ± 1.24
<i>L. tauris</i>	0.538 ± 0.044	0.374 ± 0.035	0.245 ± 0.022	4.13 ± 1.13

Tabla 6. Características fisiológicas de las semillas de estudio.

Especie	Peso (g)	Contenido de humedad (%)
<i>L. pubescens</i>	2.217 ± 0.018	7.775 ± 0.163
<i>L. microphyllus</i>	0.493 ± 0.014	6.954 ± 0.012
<i>L. tauris</i>	2.634 ± 0.110	7.990 ± 0.133

Ensayo de viabilidad

Test colorimétrico de tetrazolio:

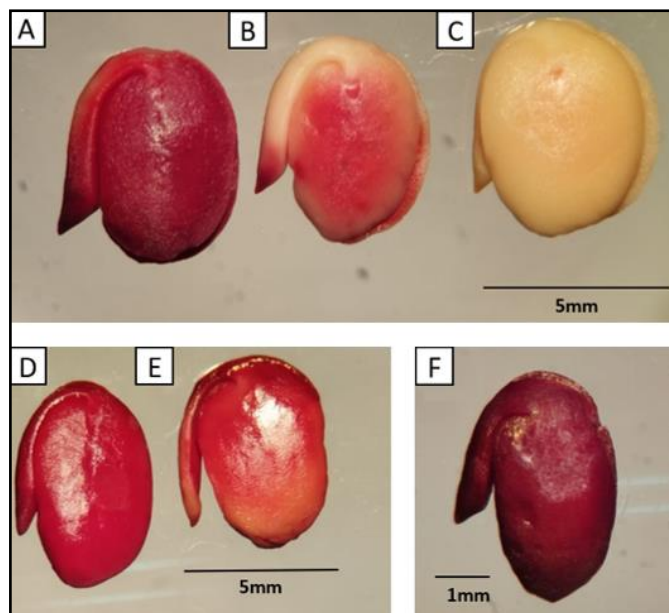


Figura 2. Semillas del género *Lupinus*: A), B) y C) Semillas de *L. pubescens*, D) y E) Semillas de *L. tauris*, F) Semillas de *L. microphyllus*.

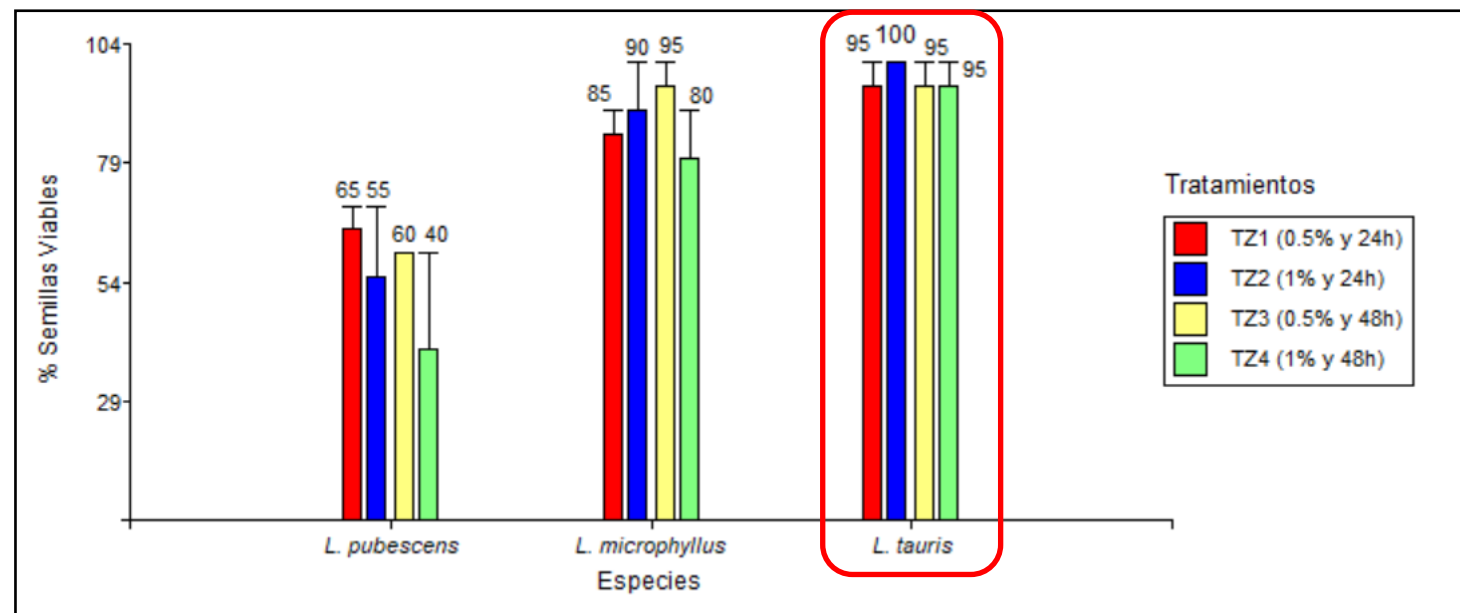


Figura 3. Porcentajes de viabilidad de cada tratamiento aplicado en las tres especies de *Lupinus*.

Ensayo de germinación

Desinfección de semillas:

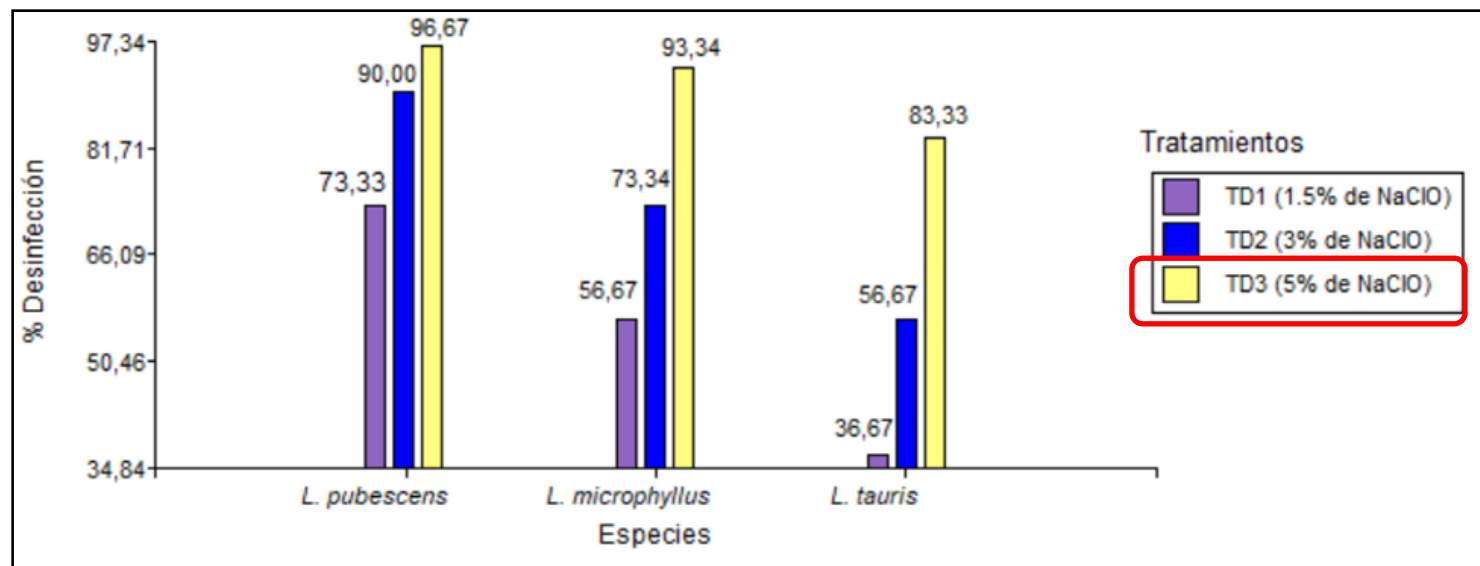


Figura 4. Porcentajes de desinfección en las semillas de las tres especies de *Lupinus*.

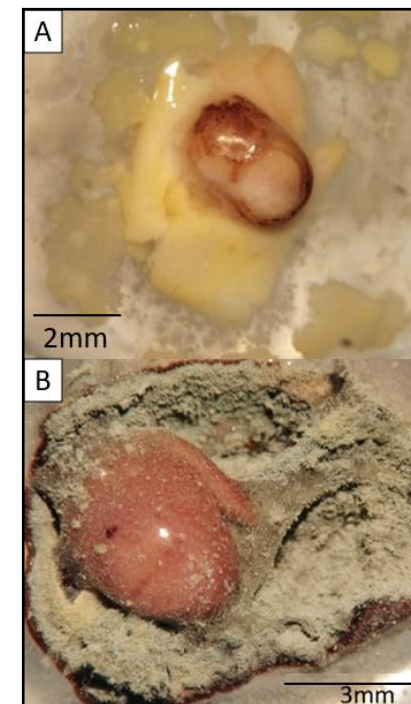


Figura 5. Semillas de *Lupinus* contaminadas con agentes infecciosos: A) Posible bacteria y B) Posible hongo.

Ensayo de germinación

Capacidad germinativa:

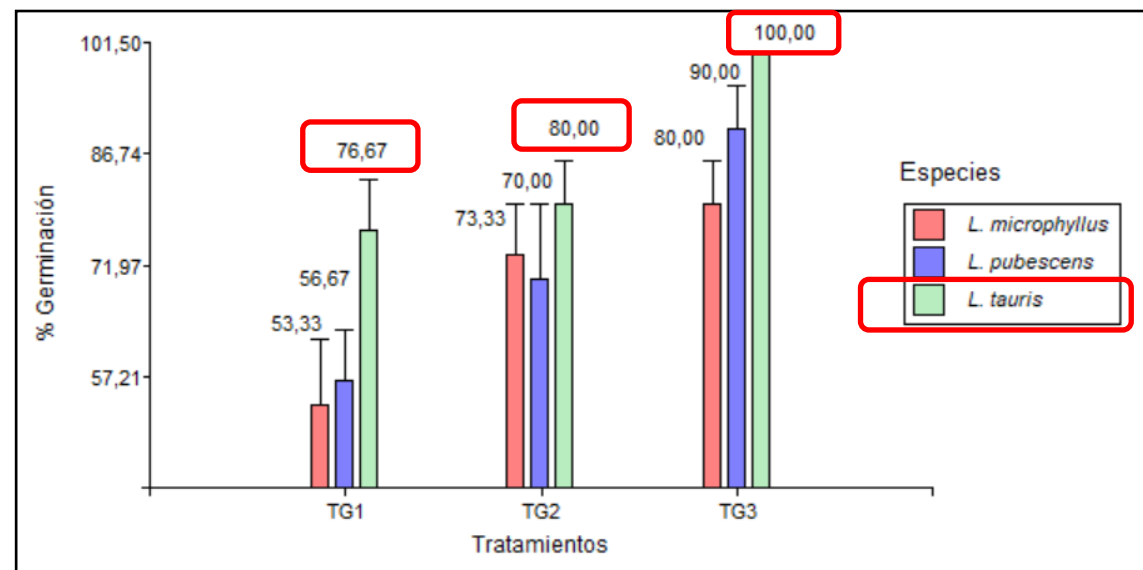


Figura 6. Porcentaje de germinación en las tres especies de *Lupinus* respecto a cada tratamiento empleado.

Semillas de las tres especies germinadas:

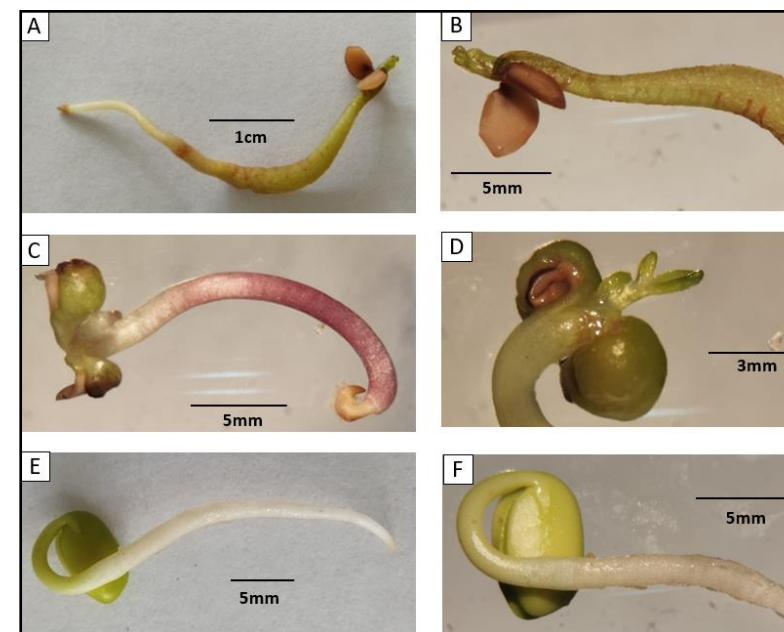


Figura 7. Semillas del género *Lupinus*: A) y B) Semillas de *L. pubescens*, C) y D) Semillas de *L. microphyllus*, E) y F) Semillas de *L. tauris*.

Ensayo de germinación

Velocidad de germinación:

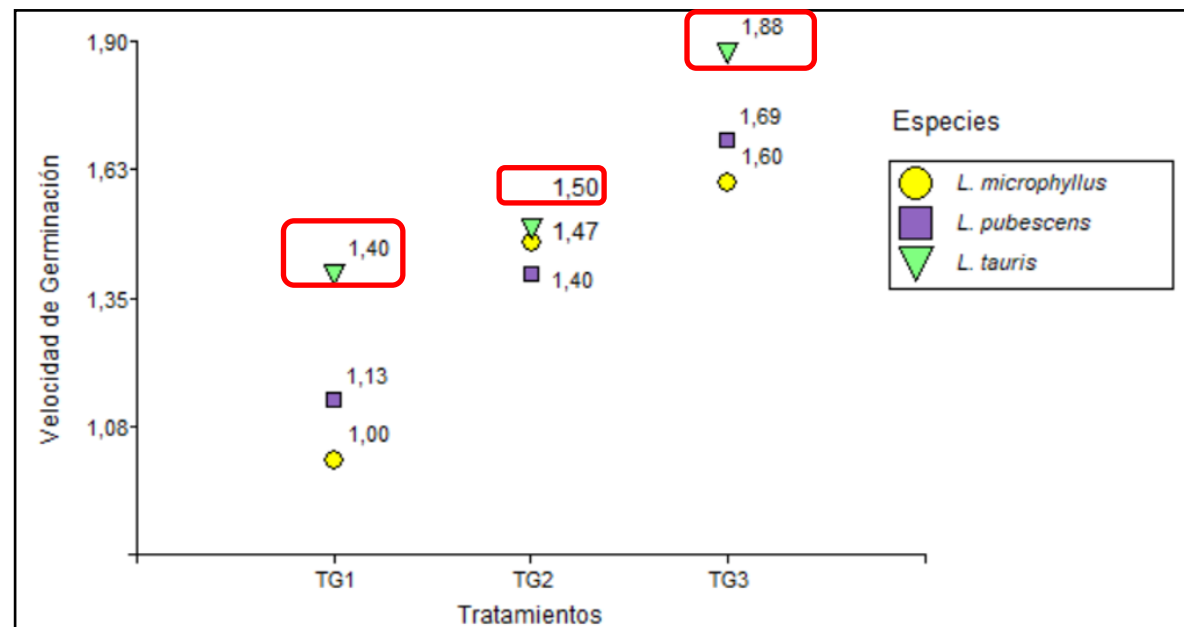


Figura 8. Velocidades de germinación en las tres especies de *Lupinus*.

Índice de latencia:

Especies	Índice de Latencia (Días)		
	TG1	TG2	TG3
<i>L. pubescens</i>	5	3	2
<i>L. microphyllus</i>	4	3	3
<i>L. tauris</i>	3	2	2

Tabla 7. Índice de latencia En las tres especies de *Lupinus*.

Ensayo de germinación

Capacidad germinativa :

Lupinus pubescens (Benth.)

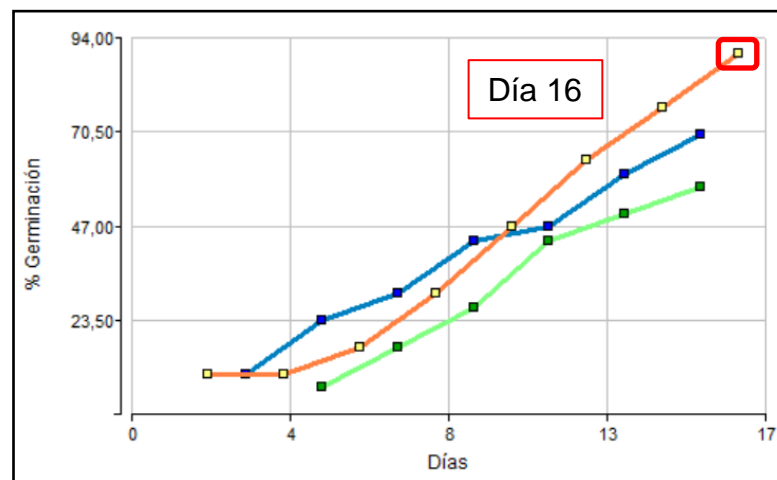


Figura 9. Capacidad germinativa dos semanas

Lupinus microphyllus (Desr.)

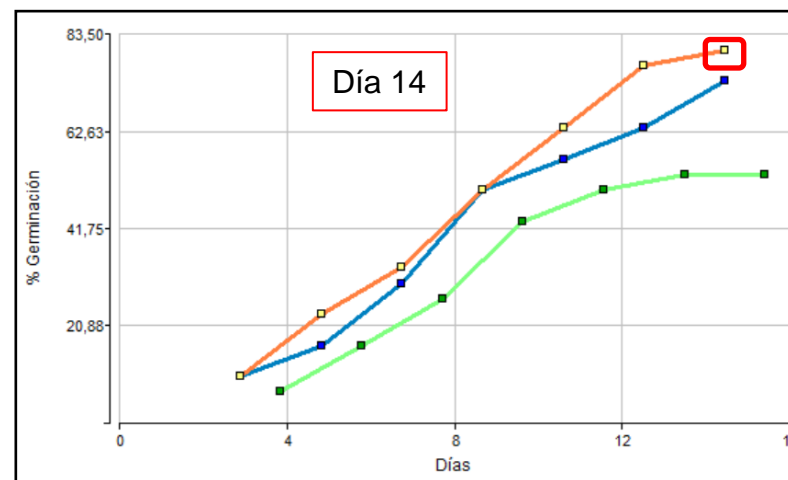
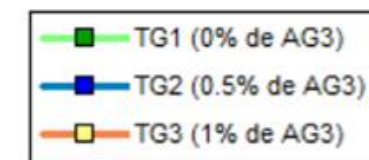


Figura 10. Capacidad germinativa dos semanas

Tratamientos



Ensayo de germinación

Capacidad germinativa :

Lupinus tauris (Benth.)

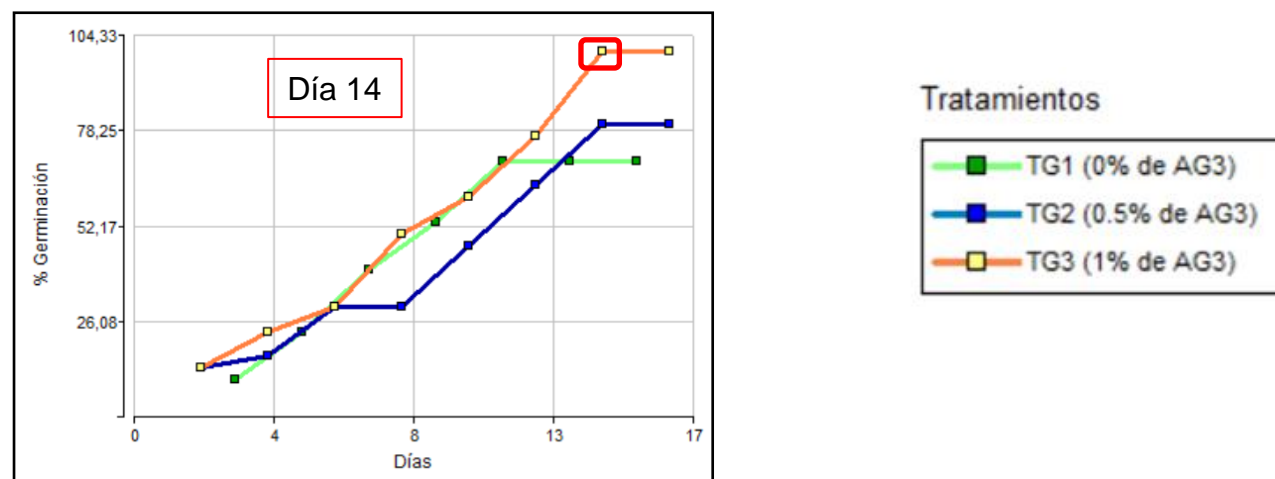


Figura 11. Capacidad germinativa dos semanas



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Conclusiones

- La recolección de plantas y semillas de *Lupinus* es importante y permitió elaborar fichas técnicas de *L. pubescens*, *L. microphyllus* y *L. tauris* con datos de la forma de hábito y rango altitudinal que son útiles para el ingreso de la información al banco de germoplasma.
- *L. tauris* presentó el tamaño promedio de semilla más grande (0.538cm de largo, 0.374cm de ancho y 0.245cm de grosor), *L. pubescens* el tamaño intermedio (0.455cm de largo, 0.339cm de ancho y 0.214cm de grosor) y la semilla más pequeña fue la de *L. microphyllus* (0.296cm de largo, 0.205cm de ancho y 0.133cm). Estas dimensiones sugieren que todas estas semillas son ortodoxas.



- ***L. tauris*** presentó el **peso y contenido de humedad promedio más altos** (2.634g y 7.99%), ***L. pubescens*** el **peso y contenido de humedad intermedios** (2.217g y 7.775%) y la **semilla más liviana** con el **menor contenido de humedad fue *L. microphyllus*** (0.493g y 6.954%). Estos datos confirman que todas las **semillas posiblemente son ortodoxas**.
- El **mejor tratamiento** que obtuvo el 65% de semillas viables **en *L. pubescens*** fue el tratamiento con **0.5% de tetrazolio y 24h de inmersión**. En ***L. microphyllus*** el mejor tratamiento con un 95% de viabilidad fue en el que se aplicó **0.5% de tetrazolio y 48h de inmersión**. En ***L. tauris*** el mejor tratamiento con un 100% de semillas viables fue el de **1% de tetrazolio con 24h de inmersión**. Esto sugiere que las semillas de ***L. tauris*** son las que mayor viabilidad para la germinación presentan.



- El **tratamiento de desinfección más eficiente** para las muestras de semillas fue el tratamiento **con 5% de hipoclorito de sodio durante 6 minutos**. En *L. pubescens* se obtuvo el 96.67% de explantes libres de agentes infecciosos, similar a lo que se obtuvo para *L. microphyllus* con el 93.34% y en *L. tauris* con el 83.33%.
- El **medio MS suplementado con 1mg/L de ácido giberélico** fue el **mejor tratamiento para el establecimiento *in vitro* de las semillas** ya que permitió obtener en *L. pubescens* una germinación del 90%, en *L. microphyllus* del 80% y en *L. tauris* del 100%. Este medio además redujo el tiempo de latencia, mejoró la germinación acumulativa y aumento la velocidad de germinación de las tres especies.



- La caracterización morfológica y fisiológica, así como los ensayos de viabilidad y capacidad germinativa en semillas, permitieron determinar la selectividad que poseen las especies de *Lupinus pubescens*, *L. microphyllus* y *L. tauris* para ser conservadas en bancos de germoplasma y utilizadas en procesos de restauración de ecosistemas andinos.





Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Recomendaciones

- En los ensayos de determinación del contenido de humedad se almacenaron las semillas a 4°C durante una semana, según referencias bibliográficas se sugiere almacenar las semillas durante mínimo un mes para poder evaluar mejor la tolerancia a la desecación.
- Se recomienda realizar ensayos de caracterización molecular para diferenciar genóticamente a las especies del género *Lupinus* e identificarlas, puesto que su diferenciación fenotípica es compleja.
- Sería importante investigar sobre un protocolo *in vitro* para la obtención de callos con posible potencial de extracción de metabolitos secundarios, para analizar sus propiedades fungicidas, insecticidas, bactericidas y nematocidas.



Agradecimientos

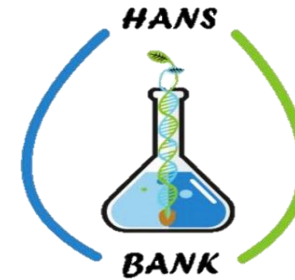


Karina Isabel, Proaño Tuma, PhD

Ing. Gabriela Miño, Mg.

María Claudia, Segovia Salcedo, PhD

Ing. Gabriela Pazmiño



MUCHAS GRACIAS!



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA