



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Efecto de tres dosis de Fe-EDTA y Fe-EDDHA, en la aclimatación de explantes de *Rubus glaucus* Benth, var. colombiana sin espinas

Chaves Hidalgo, Celena Jacqueline

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal Mgtr.

31 de enero del 2023



INTRODUCCIÓN

Rubus glaucus Benth, var. colombiana sin espinas.



Rica en minerales, vitamina C, fibra dietética y antioxidantes

Fuente económica para 15000 productores

5 247 Ha en Ecuador

La micropropagación es un método de propagación masiva

Plantas libres de virus y genéticamente estables en condiciones controladas.

INTRODUCCIÓN



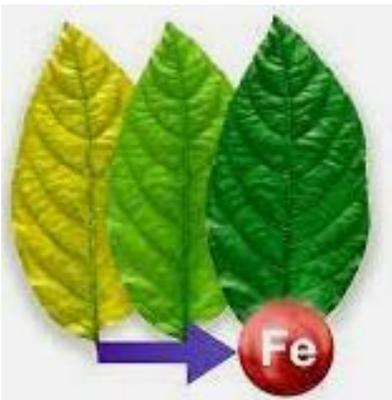
Quelatos de Hierro

clorosis férrica

Intensidad del color.

Equilibrio iónico

Aumento en formación de hojas



OBJETIVOS

Objetivo General

- Identificar la dosis óptima del Fe-EDTA y Fe-EDDHA, en la aclimatación de explantes de *Rubus glaucus* Benth sin espinas.



Objetivos específicos

- Determinar el efecto de tres dosis (2.5, 5 y 10 mg. L⁻¹) de Hierro como Fe-EDTA y Fe-EDDHA sobre el enraizamiento, de explantes de mora de Castilla sin espinas *Rubus glaucus* Benth
- Evaluar el efecto de las tres dosis (2.5, 5 y 10 mg. L⁻¹) de Hierro como Fe-EDTA y Fe-EDDHA sobre variables agronómicas y fisiológicas en plantas aclimatadas de mora de Castilla sin espinas *Rubus glaucus* Benth.

MARCO TEÓRICO

Mora de castilla var. Colombiana sin epsinas
(*Rubus glaucus* Benth)



700 especies, de las cuales 21 se registran en Ecuador

plantas tipo arbustivas

rendimiento de 6 Kg.planta⁻¹

2500 y 3000 msnm.

facilidad en la cosecha

Familia:	Rosaceae
Género:	Rubus,
Especie:	Glaucus,
Nombre científico:	Rubus glaucus
Nombre vulgar:	Mora de los andes o mora de castilla

MARCO TEÓRICO



**Aclimatación
de explantes
Fase 4**

**Selección y
Desinfección**

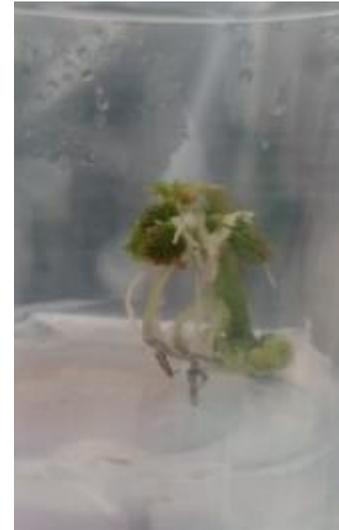


**Establecimiento
Fase 1**

**Propagación
*in vitro***

**Enraizamiento
Fase 3**

**Multiplicación
Fase 2**



MARCO TEÓRICO

HIERRO



Micronutriente

Reacciones metabólicas

Alta afinidad para formar complejos con varios ligandos (ácidos orgánicos y fosfatos)

Facilidad de cambio de valencia

Es el más importante ya que se lo necesita en mayor cantidad

MARCO TEÓRICO

Quelatos de Hierro

Fácil asimilación de hierro

EDTA

la intensidad del color

pH 4-6

multiplicación de brotes

Equilibrio iónico

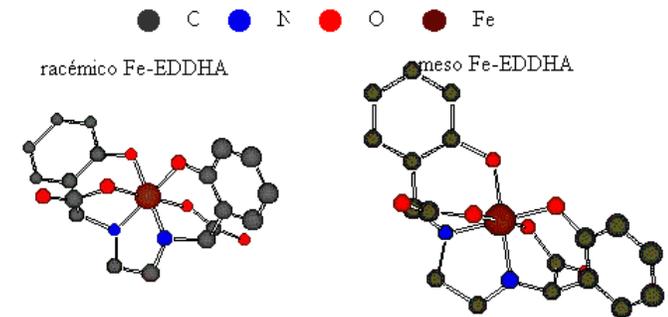
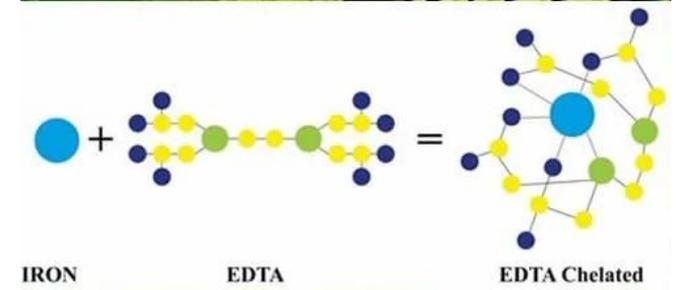
pH 3-11

EDDHA

Reducción de clorosis.

Aumento el contenido de clorofila

regeneración adventicia



METODOLOGÍA



- Temperatura controlada de 20°C.
- Fotoperiodos de 12 horas y luz PAR (Photon Active Reaction) de $16.85\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

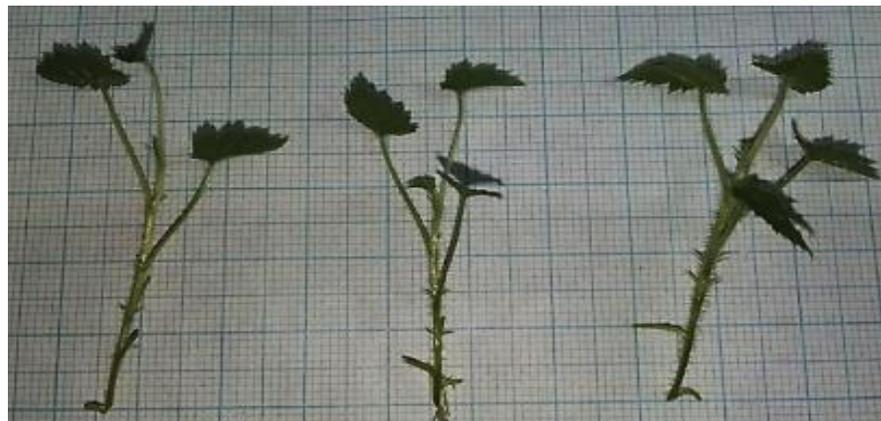
Laboratorio de fisiología
vegetal
AGROBIOTECH



Metodología

Selección de material vegetal

- 210 apicales
- 30 a 50mm
- Mínimo 3 hojas



Soluciones nutritivas

- MS 50 %
- Fe-EDTA
- Fe-EDDHA



Preparación de Sustrato



Sustrato

- Pomina, 90 g
- Turba , 120 g



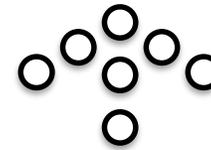
Medio Líquido

- 50% MS
- Quelatos

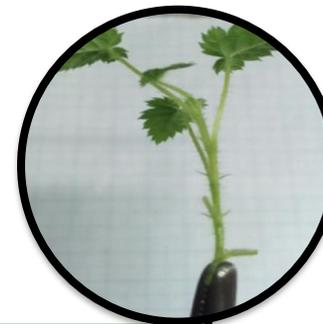


Autoclavar

- 120 psi
- 20 min



Siembra de apicales



Corte de apicales



TRATAMIENTOS

Croquis de la distribución del experimento

Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
T5 EDHHA	T2 EDTA	T4 EDHHA
T1 EDTA	T0 SIN PRO	T3 EDTA
T6 EDHHA	T5 EDHHA	T0 SIN PRO
T2 EDTA	T3 EDTA	T5 EDHHA
T0 SIN PRO	T4 EDHHA	T1 EDTA
T4 EDTA	T6 EDHHA	T2 EDTA
T3 EDHHA	T1 EDTA	T6 EDHHA

Dosis	Quelato	Tratamiento
0 mg. L ⁻¹	Sin Producto	T0
2.5 mg. L ⁻¹	EDTA	T1
5 mg. L ⁻¹	EDTA	T2
10 mg. L ⁻¹	EDTA	T3
2.5 mg. L ⁻¹	EDDHA	T4
5 mg. L ⁻¹	EDDHA	T5
10 mg. L ⁻¹	EDDHA	T6

Variables a Evaluar



Peso Fresco



% Materia seca



- * Porcentaje de Enraizamiento
- * Largo de raíz



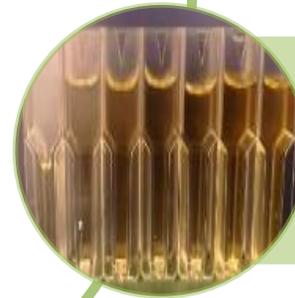
- * Largo de Tallo
- * Número de hojas



- * Porcentaje de aclimatación



Clorofila



Hierro biodisponible
Fe 2+

RESULTADOS

Variables Morfométricas

Tratamientos	Largo de tallo (mm)	Numero de Hojas	Largo de raíz (mm)
T0	52.87±1.29 a	7.44±0.18 a	12.98±0.29 a
T1	64.57±1.89 c	9.00±0.29 b	44.20±1.24 b
T2	62.67±0.88 bc	10.36±0.34 bc	45.70±0.84 b
T3	57.03 ±0.98 b	10.89±0.33 c	57.03±0.86 d
T4	66.87 ±1.93 c	11.44±0.26 c	49.03±1.95 c
T5	74.77± 1.29 d	10.56±0.24c	55.35±1.79 cd
T6	76.20± 2.14 d	13.56±0.47d	57.90±1.50 d

T0: sin producto

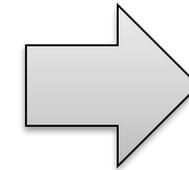
T1: EDTA con dosis de 2.5 mg. L⁻¹; **T2:** EDTA con dosis de 5 mg. L⁻¹

T3: EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹; **T4:** EDTA con dosis de 2,5 mg. L⁻¹

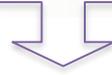
T5: EDDHA con dosis de 5 mg. L⁻¹; **T6:** EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹

Contenido de clorofila fue mayor, con un enraizamiento temprano y abundante de 8,7 mm frente a 5,3 mm de largo de raíz, Zawadzka & Orlikowska, (2006).

Se obtuvieron mejores resultados en aclimatación con Fe-EDDHA que con Fe-EDTA, Zawadzka & Orlikowska, (2006).



Variables Porcentaje de Materia Seca



Tratamientos	%MS Raíz	%MS Planta	%MS Total
T0	10.44 ± 0.36 a	11.52 ± 0.15 a	8.71 ± 0.38 a
T1	11.80 ± 0.37 a	18.08 ± 0.31 d	18.05 ± 0.93 b
T2	12.15 ± 0.45 a	18.73 ± 0.41 d	19.20 ± 1.48 b
T3	16.84 ± 0.87 bc	16.35 ± 0.31 c	16.94 ± 1.18 b
T4	14.21 ± 0.52 ab	20.08 ± 0.20 e	25.30 ± 3.42 cd
T5	12.95 ± 0.35 a	14.50 ± 0.23 b	21.03 ± 0.95 bc
T6	17.80 ± 0.80 c	20.99 ± 0.11 e	27.81 ± 1.96 d

T0: sin producto

T1: EDTA con dosis de 2.5 mg. L⁻¹; **T2:** EDTA con dosis de 5 mg. L⁻¹

T3: EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹; **T4:** EDTA con dosis de 2,5 mg. L⁻¹

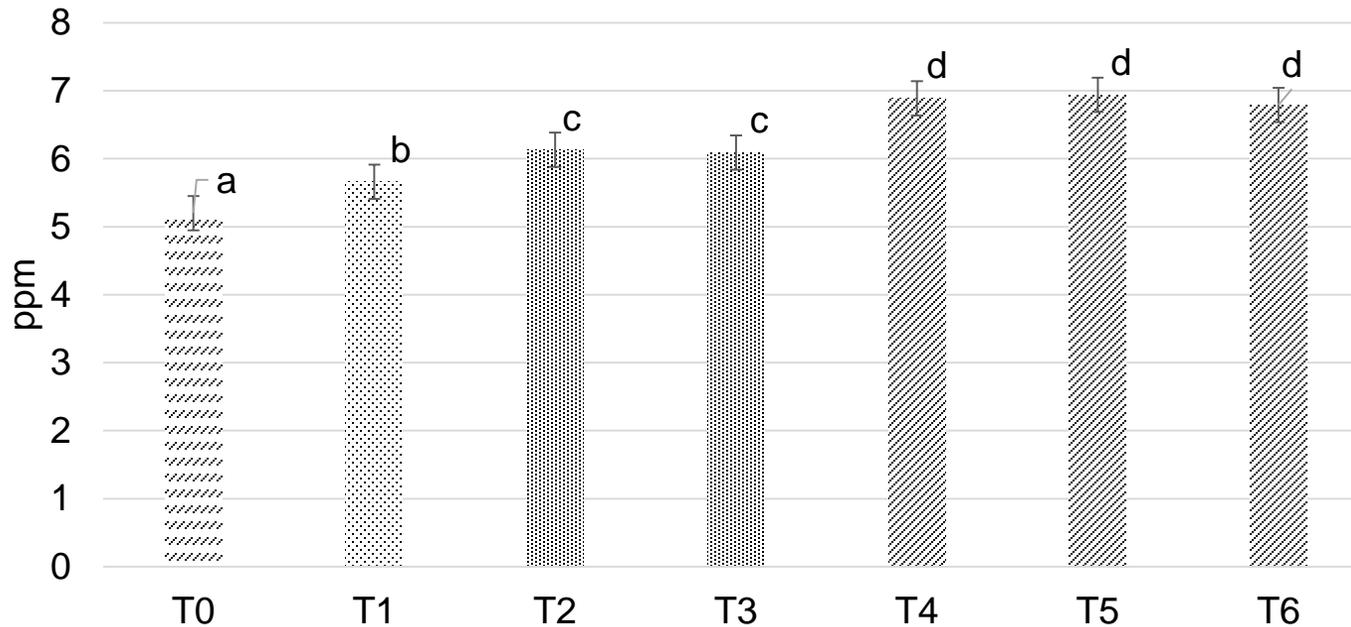
T5: EDDHA con dosis de 5 mg. L⁻¹; **T6:** EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹

30% más de peso fresco y seco y microplantas de mayor calidad, Zawadzka & Orlikowska, (2006).

Plantas de sorgo tratadas con 184 μmol/L de Fe-EDDHA presentaron la producción más alta de materia seca, Ortega y Molina, (2007).

Tratamientos	PF Raíz (g)	PF Planta (g)	PF Total (g)
T0	0.023±0.001 a	0.237±0.001 a	0.260±0.002 a
T1	0.033±0.002 b	0.253±0.001 b	0.282±0.001 b
T2	0.033± 0.002 b	0.249±0.001 b	0.286 ±0.002bc
T3	0.042±0.001 c	0.253±0.002 c	0.291 ±0.002 c
T4	0.044±0.002 c	0.259±0.002 d	0.303 ±0.002 d
T5	0.065±0.001 d	0.316±0.002 e	0.381 ±0.001 d
T6	0.068± 0.001 d	0.319±0.002 e	0.387 ±0.001 e

Variable Hierro disponible Fe 2+



T0: sin producto

T1: EDTA con dosis de 2.5 mg. L⁻¹; **T2:** EDTA con dosis de 5 mg. L⁻¹

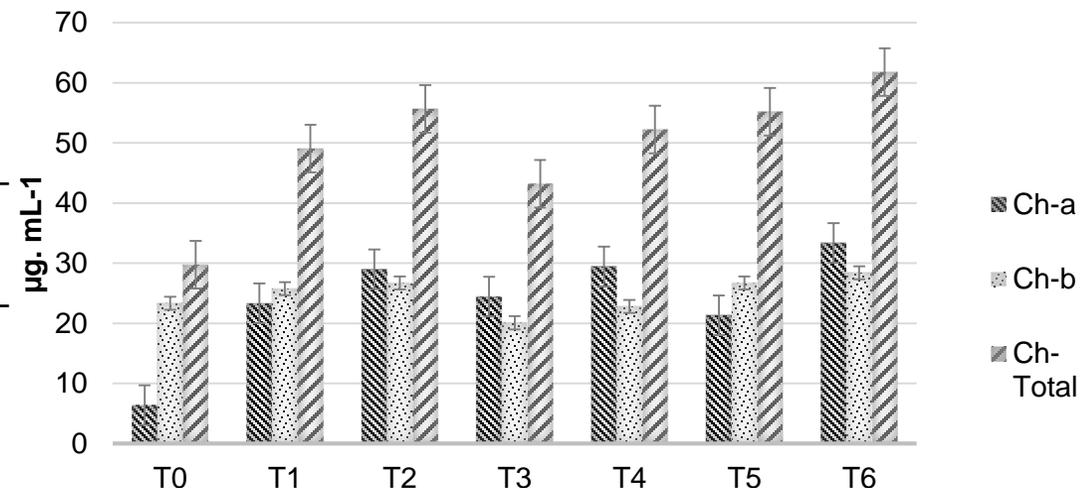
T3: EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹; **T4:** EDTA con dosis de 2,5 mg. L⁻¹

T5: EDDHA con dosis de 5 mg. L⁻¹; **T6:** EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹

Trejjell *et al.* (2012), El efecto de dos quelatos de hierro en el contenido de clorofila y el enraizamiento de *Carlina onopordifolia*, señala que al suplementar el medio MS con FeEDDHA como fuente de Fe, se produjo un aumento significativo en el nivel de clorofila en las hojas.

Variables Clorofila

Tratamientos	Ch-a ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Ch-b ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Clorofila Total ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)
T0	6.41 \pm 0.02 a	23.34 \pm 0.05 a	29.75 \pm 0.05 a
T1	23.33 \pm 0.02bc	25.76 \pm 0.03 b	49.08 \pm 0.05 b
T2	28.97 \pm 0.01d	26.69 \pm 0.05 b	55.66 \pm 0.05 d
T3	24.43 \pm 0.03c	20.09 \pm 1.37 a	44.19 \pm 0.03 b
T4	29.43 \pm 0.03d	22.82 \pm 0.01 a	52.25 \pm 0.03 c
T5	21.33 \pm 1.34b	26.69 \pm 0.79 b	47.18 \pm 0.54 cd
T6	33.36 \pm 0.03e	28.42 \pm 0.05 c	61.78 \pm 0.04 d



La sustitución de Fe-EDTA por Fe-EDDHA en medio MS dio lugar al desarrollo de brotes verdes con mayor longitud (24 mm) y contenido de clorofila (2,40 mg g⁻¹ FW) y de hierro, mientras que el Fe-EDTA resultó con brotes de 17mm y una cantidad de clorofila de 1.43 mg g⁻¹ FW,

T0: sin producto

T1: EDTA con dosis de 2.5 mg. L⁻¹; **T2:** EDTA con dosis de 5 mg. L⁻¹

T3: EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹; **T4:** EDTA con dosis de 2,5 mg. L⁻¹

T5: EDDHA con dosis de 5 mg. L⁻¹; **T6:** EDTA con dosis de 10 mg. L⁻¹

Conclusiones

- El enraizamiento y la aclimatación de *Rubus glaucus* Benth, en un medio a base de MS líquido que contiene quelato de Fe-EDDHA, mejoro la calidad de las plantas en la fase de enraizamiento *ex vitro* y aclimatación. El rendimiento de las plantas aclimatadas puede mejorarse sustituyendo el quelato Fe-EDTA por el quelato Fe-EDDHA.
- La concentración de 10 mg. L⁻¹ de EDDHA (T6), permitió mejorar las variables morfológicas de la planta como: número de hojas (13.56), longitud de raíz (57.90 mm) y planta (76.20 mm) en comparación con el testigo (largo de raíz: 12.98 mm, largo de planta: 52.87 mm y numero de hojas: 7.44), y 10 mg. L⁻¹ de EDTA (T4) (largo de raíz: 47.03 mm, largo de planta: 57.03 mm y numero de hojas: 10.89), cuanto mayor es el número y la madurez de raíces, más eficaz es la absorción de agua.
- Las plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), que se desarrollaron en Medio MS líquido con adición de Fe-EDDHA obtuvieron mayor cantidad de clorofila (61.78 µg. mL⁻¹) y hierro biodisponible (6.79 ppm).

Recomendaciones

- Se recomienda sustituir el Fe-EDTA por dosis de 10 mg. L⁻¹ de Fe-EDDHA (T6), ya que mejorará el porcentaje de enraizamiento y aclimatación de plantas *ex vitro*.
- Realizar un seguimiento en las plantas con quelato de Fe-EDDHA para evaluar su respuesta ante la clorosis férrica.

*¡GRACIAS
POR SU
ATENCIÓN!*

