

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA REGENERACIÓN DE CALLOS
EMBRIOGÉNICOS DE DOS ACCESIONES DE PIÑÓN
(*Jatropha curcas* L.) POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE
INMERSIÓN TEMPORAL AUTOMATIZADO**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

MARÍA GABRIELA AGUILAR SALGUERO

SANGOLQUÍ, abril de 2013

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar a la embriogénesis somática como una tecnología alternativa para la multiplicación en laboratorio, de dos clones promisorios de piñón (*Jatropha curcas* L.) del INIAP, a través de la formación de callos embriogénicos y regeneración de los mismos, bajo sistemas de inmersión temporal automatizados (RITA®). La investigación se realizó en dos fases; la primera llamada fase de inducción, inició con la desinfección de hojas y pecíolos de plantas adultas, durante esta fase se probó tres medios de cultivo con diferentes combinaciones hormonales de BAP, kinetina y AIA. Al culminar esta fase se estableció un protocolo para la inducción indirecta de embriones somáticos, a partir de hojas para la accesión CP052, con el medio compuesto por 2 mg/L de kinetina. Para la segunda fase o de regeneración, los callos embriogénicos provenientes de la anterior fase, fueron colocados en los recipientes RITA®. Se probaron dos medios de cultivo con dos frecuencias de inmersión (cada cuatro y ocho horas) durante un minuto. Al culminar la evaluación, se observó que la exposición de los callos embriogénicos a la frecuencia de cuatro horas, aumenta significativamente el número de embriones, a diferencia de lo que ocurre con la frecuencia de ocho horas. Finalmente al comparar el sistema RITA® con el sistema convencional (medio semisólido), fue evidente que el primero, fue superior en cuanto a tasas de multiplicación y desarrollo de embriones, lo que se considera una base para investigaciones posteriores de propagación masiva de este clon promisorio.

Palabras claves: *Jatropha curcas*, biotecnología, callos, embriogénesis, Sistema RITA®, kinetina, BAP, AIA.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate somatic embryogenesis as an alternative technology for multiplication in laboratory. from two INIAP's promising *Jatropha* clones through embryogenic callus formation and itself regeneration under automated temporary immersion systems (RITA®). This research was conducted in two phases: the first one called induction phase, it begins with leaves and stalks of mature plants disinfection, during this phase were tested three culture media with different hormone combinations of BAP, kinetin and IAA. Upon completion of this phase was established a protocol for indirect induction of somatic embryos from CP052 accession leaves, with the medium composed of 2 mg / L of kinetin. For the second phase or regeneration, embryogenic calluses from the previous phase, were placed in RITA® containers. There were tested two culture media at two immersion frequencies (every four to eight hours) for one minute. Upon completion of the evaluation, it was noted that the exposure of embryogenic callus to four hours frequency, significantly increases the number of embryos, unlike what occurs with the eight hours frequency. Finally when comparing the RITA® system with the conventional system (semi-solid medium), it was clear that the first, was superior in multiplication rates and embryo development, which is considered a basis for further investigations of mass propagation of this clone promising.

Keywords: *Jatropha curcas*, biotechnology, callus, embryogenesis, RITA ® System, kinetin, BAP, IAA.