



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR: QUIROGA QUISAGUANO, SANTIAGO ANDRÉS

TEMA: EVALUACIÓN MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA DE LAS
ETAPAS DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN AMARILLO DE
GUAYAQUIL (*Centrolobium ochroxylum*).

DIRECTORA: ING. PÁEZ, TATIANA, M.Sc.

CODIRECTOR: ING.-MAT. ROMERO, PEDRO

SANGOLQUÍ, DICIEMBRE 2014

RESUMEN

Amarillo de Guayaquil (*Centrolobium ochroxylum*), es una especie forestal de gran valor comercial, mejoradora de suelo, ideal en sistemas agroforestales, la misma que ha despertado un considerable interés en lo referente a su propagación. En términos de conservación, esta especie se encuentra reportada en peligro de extinción. Durante la presente investigación se evaluó morfológica e histológicamente las etapas de embriogénesis somática en Amarillo de Guayaquil a partir de tejido foliar, así como el efecto de la intensidad luminosa (fotoperíodo 16/8 y oscuridad total). Durante la etapa de inducción, se emplearon siete medios de cultivo, los resultados mostraron la presencia de masas proembriogénicas bajo oscuridad total en tres medios de cultivo que presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$) respecto a los tratamientos restantes, siendo el medio M1 (MS 5519 al 50% de su concentración, 40 g/l sacarosa, 5 mg/l picloram, 8 g/l agar) el que mayor porcentaje de callos embriogénicos presentó (68% de CE). Al evaluar la etapa de mantenimiento y proliferación de callos embriogénicos, los resultados mostraron una elevada sensibilidad de Amarillo de Guayaquil a los reguladores de crecimiento, con un 100% de pérdida del potencial embriogénico en los tratamientos evaluados. En lugar de la etapa anterior se evaluó la etapa de desarrollo y maduración, transfiriendo los callos embriogénicos a nueve medios de cultivo, en la cual se determinó la capacidad de expresión de embriones somáticos a partir de callos embriogénicos de *C. ochroxylum* ($Z_0 = 3.50$), obteniéndose el mayor número de embriones somáticos (cuatro ESV y cuatro ESNV) en el medio F9 (MS al 100%, 45 g/l sacarosa, 20 ml/l agua de coco, 1g/l carbón activado, 100 mg/l PVP, 8 g/l agar). Finalmente se obtuvo la germinación de un embrión somático normal en el medio G1 (Medio MS 5519 al 50% de su concentración, 30 g/l sacarosa, 10 ml/l agua de coco, 1mg/l AG₃, 7 g/l agar). No fue posible establecer un porcentaje de germinación fehaciente debido a la escasa cantidad de embriones somáticos generados en esta etapa de investigación, sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación, fueron incluidos, por ser este el primer estudio de embriogénesis somática reportado en *C. ochroxylum*.

Palabras clave: *Centrolobium ochroxylum*, embriogénesis somática, picloram, oscuridad total, masas proembriogénicas, presión osmótica.

ABSTRACT

Amarillo de Guayaquil (*Centrolobium ochroxylum*), is a forest species of high commercial value, soil improver, perfect in agroforestry systems, that has attracted considerable interest with respect to their propagation. In terms of conserving, this species has been reported endangered of extinction. During this investigation was evaluated morphological and histological stages of somatic embryogenesis, from leaf tissue, of Amarillo de Guayaquil and the effect of light intensity (16/8 photoperiod and total darkness). During the induction stage was used seven culture mediums, the results showed the presence of pro embryogenic masses under total darkness in three culture mediums that showed a statistically significant difference ($p < 0.0001$) with respect of the remaining treatments. M1 medium (MS 5519 half-strength medium, 40 g/l sucrose, 5 mg/l picloram, 8g/l agar) was the one with the highest percentage of embryogenic callus (68% of CE). Evaluating the maintenance and proliferation stage of embryogenic cultures, the results showed a high sensitivity of Amarillo de Guayaquil to the growth regulators, with 100% loss of embryogenic potential in the treatments evaluated. Instead of the previous stage, the development and maturation stage was assessed by transferring embryogenic callus to nine culture mediums, in which was determined the expression ability of somatic embryos from embryogenic calli of *C.ochroxylum* ($Z_0 = 3.50$), obtaining the greatest number of somatic embryos (four ESV and four ESNV) in the medium F9. (MS 5519 half-strength medium, 45 g/l sucrose, 20 ml/l coconut water, 1g/l activated carbon, 100 mg/l PVP, 8 g/l agar). Finally the germination of a normal somatic embryo in G1 media (MS 5519 half-strength medium, 30 g/l sucrose, 10 ml/l coconut water, 1 mg/l GA₃, 7 g/l agar) was obtained. It was not possible to establish a percentage of reliable germination due to the limited amount of generated somatic embryos at this research stage, however, the results obtained in this investigation were included, as this is the first study of somatic embryogenesis reported in *C. ochroxylum*.

Keywords: *Centrolobium ochroxylum*, somatic embryogenesis, picloram, total darkness, pro embryogenic masses, osmotic pressure.