



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



RESUMEN

AUTORES: DIANA CAROLINA MALDONADO NIÑO
CHRISTIAN ASLHEY RINCON MERCHAN

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR: JENNY TATIANA MALDONADO MORALES

TITULO DE LA TESIS: ESTUDIO DE UN CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION, COMO TÉCNICA DE PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS EMBRIOGENICAS DE CLONES ELITES DE *Theobroma cacao* PARA EL DISEÑO PRELIMINAR DE UN BIORREACTOR A ESCALA LABORATORIO.

RESUMEN:

En el presente trabajo se estudió los factores que intervienen en el establecimiento de suspensiones celulares en agitadores orbitales, de células embriogénicas de dos clones de cacao: ICS – 95 y CCN–51, con el propósito de diseñar un biorreactor que permita obtener elevados volúmenes de producción en un menor periodo de tiempo y sea posible llevar a cabo la automatización del proceso.

CARACTERISTICAS:

PAGINAS 131 PLANOS: ILUSTRACIONES: CD-ROM: 1

ESTUDIO DE UN CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION, COMO TÉCNICA
DE PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS EMBRIOGENICAS DE CLONES ELITES DE
Theobroma cacao PARA EL DISEÑO PRELIMINAR DE UN BIORREACTOR A
ESCALA LABORATORIO

DIANA CAROLINA MALDONADO NIÑO
CHRISTIAN ASLHEY RINCON MERCHAN

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2009

ESTUDIO DE UN CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSION, COMO TÉCNICA
DE PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS EMBRIOGENICAS DE CLONES ELITES DE
Theobroma cacao PARA EL DISEÑO PRELIMINAR DE UN BIORREACTOR A
ESCALA LABORATORIO

DIANA CAROLINA MALDONADO NIÑO
CHRISTIAN ASLHEY RINCON MERCHAN

Trabajo de grado presentado como requisito para obtener el título de
Ingeniera Biotecnológica

Director
JENNY TATIANA MALDONADO MORALES
Ingeniera en Producción Biotecnológica

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2009



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 25 DE FEBRERO DE 2009

HORA: 04:00 P.M.

LUGAR: SALA 3 EDIFICIO CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

TITULO DE LA TESIS: "ESTUDIO DE UN CULTIVO DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN COMO TÉCNICA DE PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS EMBRIOGÉNICAS DE CLONES ELITES DE *Theobroma cacao* PARA EL DISEÑO PRELIMINAR DE UN BIORREACTOR A ESCALA LABORATORIO"

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADOS: ALINA KATIL SIGARROA RIECHE
YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA

DIRECTOR: JENNY TATIANA MALDONADO MORALES

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
DIANA CAROLINA MALDONADO NIÑO	1610407	4.5
CHRISTIAN ASLHEY RINCON MERCHAN	1610403	4.5

OBSERVACIONES:
MERITORIO

FIRMA DE LOS JURADOS:


_____ 

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular



A Dios y le agradezco por haberme regalado muchas bendiciones a lo largo de mi vida, por poner en mi camino a personas maravillosas que han tocado mi corazón con su amor incondicional y por brindarme todos los medios necesarios para que hoy haya podido alcanzar esta meta.

A mis padres, Elena Niño y Agustín Maldonado, por brindarme su apoyo constante, porque se han convertido en mis mayores ejemplos de responsabilidad y lucha a seguir, enseñándome que las cosas que se obtienen con mas sacrificio, son las que más valoramos; porque han sido mi mayor soporte y aliento en los buenos y malos momentos y por confiar siempre en mí.

A mis hermanos, Wladimir Maldonado Niño y Natalia Maldonado Niño, quienes también han sido mis mejores amigos, por aportarme lo mejor de ellos mismos, logrando que cada día compartido sea único.

Diana Carolina

A Dios por sus infinitas bendiciones a lo largo de mi vida y los dones maravillosos que me ha regalado lo cual hoy me permite cumplir el sueño de ser un profesional.

A mis padres Luz Miriam Merchan y Cristóbal Rincón por su inagotable amor y apoyo en los momentos difíciles e inculcarme principios y valores entre ellos la responsabilidad, honestidad y perseverancia para alcanzar las metas propuestas.

A mis hermanas Yesenia Rincon Merchan y Janine Rincon Merchan, porque su compañía y ánimo son mi fuente de energía. A mis tíos Olga y Álvaro que más que mis tíos han sido unos segundos padres. A mis demás familiares que de una u otra manera han alentado este proyecto de vida que hoy concluyo y me enriquece siendo un peldaño más en mi existencia.

Christian Aslhey

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

A la Universidad Francisco de Paula Santander, especialmente a los miembros de la facultad de ciencias agrarias y del ambiente, por brindarnos los medios y los conocimientos necesarios para el desarrollo de nuestro trabajo de grado.

A la ingeniera Jenny Tatiana Maldonado Morales, por su colaboración en la ejecución del proyecto en modalidad de director.

A las ingenieras Luz Stella Monsalve y Claudia Yaneth García, por su valioso apoyo y constante asesoramiento durante la ejecución del proyecto.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	21
1. GENERALIDADES	23
1.1 ORIGEN DEL CACAO	23
1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	24
1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	25
1.4 ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS RELACIONADOS CON EL CULTIVO DEL CACAO.	28
1.4.1 Temperatura	29
1.4.2 Precipitación	29
1.4.3 Vientos	29
1.5 FISILOGÍA DE LA PRODUCCIÓN	30
1.6 EFECTOS AMBIENTALES SOBRE EL DESARROLLO DE LA PLANTA	31
1.7 FLORACIÓN	32
1.8 CLONES ÉLITES COMERCIALES	33

1.9 BIOTECNOLOGÍA	35
1.9.1 Biotecnología agrícola	36
1.9.2 Factores que afectan los procesos morfogénicos	36
1.9.3 Métodos de regeneración de plantas	37
1.9.4 Factores que afectan la embriogénesis somática	37
1.9.5 Tipos de embriogénesis somática	41
1.9.6 Cultivo de callos	42
1.9.7 Cultivo de células en suspensión.	45
1.9.8 Establecimiento de una suspensión celular embriogénica	45
1.9.9 Mantenimiento de una suspensión celular	46
1.9.10 Formación de embriones somáticos a partir de suspensiones	48
1.9.11 Embriogénesis repetitiva o propagación masiva.	49
1.9.12 Métodos para determinar el crecimiento celular	50
1.9.13 Métodos para determinar la vitalidad celular	50
1.9.14 Empleo de biorreactores para la propagación masiva	50

1.9.15 Biorreactores para la propagación vía embriogénesis	51
1.9.16 Principales parámetros físico-químicos en un biorreactor	51
1.9.17 Diseño de biorreactores.	53
2. INVESTIGACION	56
2.1 POBLACION Y MUESTRA	56
2.2.1 Población	56
2.2.2 Muestra	56
2.2 HIPOTESIS	56
2.3 VARIABLES	57
2.3.1 Etapa de desagregación celular	57
2.3.2 Etapa de establecimiento del cultivo de células en suspensión	57
2.4 FASES DE LA INVESTIGACION	58
2.4.1 Recolección de material de siembra	58
2.4.2 Desinfección de los explantes	59
2.4.3 Inducción de Callos Embriogénicos	59

2.4.4 Formación de masas proembriogénicas	59
2.4.5 Desagregación celular.	59
2.4.6 Establecimiento del cultivo de células en suspensión.	60
2.4.7 Escalamiento del proceso a escala de un litro.	61
2.4.8 Diseño preliminar del biorreactor a escala laboratorio.	61
3. RESULTADOS Y ANALISIS	62
3.1 RECOLECCIÓN DE MATERIAL DE SIEMBRA	62
3.2 DESINFECCIÓN DE LOS EXPLANTES.	63
3.3 INDUCCIÓN DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS.	65
3.4 FORMACIÓN DE MASAS PROEMBRIOGÉNICAS.	69
3.5 DESAGREGACIÓN CELULAR	72
3.6 ESTABLECIMIENTO DE LAS SUSPENSIONES.	75
3.7 ESCALAMIENTO DEL PROCESO A ESCALA DE UN LITRO	86
4. CONCLUSIONES	103
5. RECOMENDACIONES	105

BIBLIOGRAFIA	106
ANEXOS	107