



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE AGRONOMÍA

## PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025.”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de  
Ingeniera Agrónoma

**Autora:** Panchi Tapia Erika  
Elizabeth

**Tutor:**  
Torres Miño Carlos Javier

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2025

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Panchi Tapia Erika Elizabeth, con cédula de ciudadanía No. 0550261887, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025”**, siendo el Ingeniero Ph.D. Carlos Javier Torres Miño, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 22 de julio del 2025



Erika Elizabeth Panchi Tapia  
C.C: 0550261887  
**ESTUDIANTE**

## **CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR**

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **PANCHI TAPIA ERIKA ELIZABETH**, identificada con cédula de ciudadanía **0550261887** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.** - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Octubre 2020 - Marzo 2021

Finalización de la carrera: Abril 2025 – Agosto 2025

Tutor: Ing. Carlos Javier Torres Miño, Ph.D.

Tema: “**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025**”

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.


**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.** - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 22 días del mes de julio del 2025.



Erika Elizabeth Panchi Tapia  
**LA CEDENTE**

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.  
**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el título:

**“EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025”**, de Panchi Tapia Erika Elizabeth, de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

Latacunga, 22 de julio del 2025



Ing. Carlos Taylor Torres Miño, Ph.D.

C.C: 0502329238

**DOCENTE TUTOR**

## **AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN**

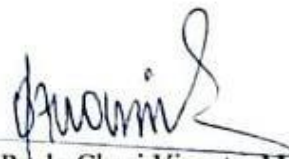
En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Panchi Tapia Erika Elizabeth, con el título de Proyecto de Investigación: “EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 22 de julio del 2025



Ing. Diana Toapanta Gallegos, Mg.  
C.C: 1002749800  
**LECTOR 1 (PRESIDENTE)**



Ing. Paolo Chasi Vizuetec, Mg.  
C.C: 0502409725  
**LECTOR 2 (MIEMBRO)**



Ing. Clever Castillo De La Guerra, Mg.  
C.C: 0501715494  
**LECTOR 3 (MIEMBRO)**

**AGRADECIMIENTO**

*Quiero expresar mi mas profundo y sincero agradecimiento a Dios por la valentía, paciencia y sabiduría que me ha otorgado para completar una etapa muy importante en mi vida.*

*A la Universidad Técnica de Cotopaxi, especialmente a la carrera de Agronomía, por darme la oportunidad de desarrollarme académicamente y personalmente. A todos mis profesores, quienes con esfuerzo, paciencia y dedicación han formado buenos profesionales.*

*A mi tutor Ing. Carlos Torres Miño, Ph.D gracias por guiarme durante todo el proceso del proyecto de investigación, por su apoyo, paciencia y compromiso con la enseñanza que ha dejado una huella en mi desarrollo académico y personal.*

*Por último, al tribunal conformado por: Ing. Diana Toapanta Gallegos, Mg. Ing. Paolo Chasi Vizquete, Mg. Ing. Clever Castillo De la Guerra, MSc. por el tiempo que han dedicado a la revisión, orientación, sugerencias, recomendaciones lo cual ha sido importante para un buen contenido investigativo.*

***Erika Elizabeth Panchi Tapia***

## ***DEDICATORIA***

*A mis padres Gloria y Nelson por todo el esfuerzo que han realizado a lo largo de toda mi trayectoria académica. Por ser mi fortaleza, por darme el valor para continuar con mis estudios sin importar las circunstancias, por creer en mi potencial y valor, los ánimos y consejos que me han brindado para mejorar y no desviarme de mis metas por motivarme a seguir adelante por mis sueños para ser una buena profesional y un buen ser humano.*

*A mis primos por ser como mis hermanos, por brindarme su compañía cariño y afecto en los momentos difíciles, los llevaré en mi corazón y memoria.*

*A mis abuelitos de quienes he aprendido la noble y hermosa profesión de cultivar la Tierra por sembrar en mí el amor por la vida y conocer lo maravillosa y bondadosa que es la naturaleza.*

***Erika Elizabeth Panchi Tapia***

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO: “EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DE ARUPO ROSADO (*Chionanthus pubescens*) EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI 2025”**

**Autora:**  
Panchi Tapia Erika Elizabeth

**RESUMEN**

La presente investigación denominada “Evaluación de dos protocolos de desinfección para la producción de plantas in vitro de Arupo Rosado (*Chionanthus pubescens*) se desarrolló en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales la especie *Chionanthus pubescens* es una especie forestal ornamental nativa

del norte de Ecuador y sur de Perú que posee valor económico, social y cultural, de acuerdo al libro rojo de las especies está en peligro de extinción en rango menor que se encuentra en climas templados y abundante vegetación la especie crece en laderas y valles ubicados en Loja, Imbabura, Pichincha y Azuay. Los objetivos de la investigación fueron: 1) Comparar la eficacia de dos protocolos establecidos en base a la oxidación y supervivencia y 2) Determinar el protocolo con menor contaminación para los explantes, haciendo uso para la fase de establecimiento diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio NaClO y cloruro de mercurio HgCl<sub>2</sub> y tiempos de exposición en diferentes medios de cultivo para el protocolo 1 basado en el medio Murashige y Skoog y el protocolo 2 basado en el medio Gambort. De acuerdo con los resultados en la fase de establecimiento in vitro de explantes de *Chionanthus pubescens* se demostró que el protocolo 2 con hipoclorito de sodio adicionando gentamicina a la solución del medio, permitió reducir significativamente la contaminación de los explantes por microorganismos, sin embargo se observó para las variables de oxidación y supervivencia que los dos protocolos demostraron valores altos sin diferencias significativas, se recomienda seguir evaluando las concentraciones de los desinfectantes y el uso de antioxidantes para reducir los niveles de oxidación.

**Palabras clave:** Contaminación, *Chionanthus pubescens*, Desinfección, Micropropagación, Oxidación.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES**

**THEME: "EVALUATION OF TWO DISINFECTION PROTOCOLS FOR THE IN VITRO PRODUCTION OF ARUPO ROSADO PLANTS (*Chionanthus pubescens*) AT TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI 2025".**

**Author:**  
Panchi Tapia Erika Elizabeth

**ABSTRACT**

This current research "Evaluation of two disinfection protocols for the in vitro production of Arupo Rosado plants (*Chionanthus pubescens*) was carried out in the laboratory of the Technical University of Cotopaxi, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources. The species *Chionanthus pubescens* is an ornamental forest species native to northern Ecuador and southern Peru that has economic, social, and cultural value. According to the Red Book of Species, it is endangered in a lesser range found in temperate climates and abundant vegetation. The species grows on slopes and in valleys located in Loja, Imbabura, Pichincha, and Azuay. The objectives of the research were: 1) To compare the effectiveness of two protocols established based on oxidation and survival, and 2) To determine the protocol with the least contamination for the explants, using different concentrations of sodium hypochlorite NaClO

and mercury chloride HgCl<sub>2</sub> for the establishment phase and exposure times in different culture media for protocol 1 based on Murashige and Skoog medium and protocol 2 based on Gambort medium. According to the results of the in vitro establishment phase of *Chionanthus pubescens* explants, protocol 2 adding gentamicin to the medium solution, it allows to reduce the contamination of explants by microorganisms. However, for the oxidation and survival variables, both protocols showed high values without significant differences. It is recommended to continue evaluating the concentrations of disinfectants and the use of antioxidants to reduce oxidation levels.

**Keywords:** Contamination, *Chionanthus pubescens*, Disinfection, Micropropagation, Oxidation.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR .....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	v
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vi
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT .....	ix
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xv
1. INFORMACIÓN GENERAL .....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO .....	3
3.1 Beneficiarios directos .....	3

3.2 Beneficiarios indirectos .....	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN: .....	4
5. OBJETIVOS:.....	5
5.1 General.....	5
5.2 Específicos .....	5
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	6
7.1 Origen del Árbol de Arupo .....	6
7.2 Taxonomía .....	7
7.3 Siembra y Trasplante .....	10
7.4 Fertilización .....	10
7.5 Plagas.....	11
7.6 Enfermedades .....	11
7.7 Micropropagación.....	12
7.8 Tipos de explantes vegetales .....	12
7.9 Factores nutricionales .....	13
7.10 Origen.....	14
7.11 Selección y asepsia de los explantes .....	14
7.12 Fases de la propagación In Vitro .....	15
7.13 Medios de Cultivo .....	16
7.14 Agentes Gelificantes.....	18
7.15 Importancia de la conservación de los ecosistemas.....	19
7.16 Establecimiento de los protocolos para Arupo .....	20
7.17 Oxidación en los explantes vegetales .....	22
8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS .....	23
9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	23
9.1 Ubicación del área de estudio .....	23
9.2 Tipo de investigación.....	24
9.3 Modalidad básica de la investigación .....	25

9.4 Bibliografía y documental .....	25
9.5 Técnicas e instrumentos para recolección de datos .....	25
9.6 Especificaciones del campo experimental .....	26
9.7 Operacionalización de variables .....	27
9.8 Variables a evaluar en Laboratorio.....	28
9.9 Etapas de la Investigación .....	30
9.10 Procedimiento.....	33
<b>10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
10.1 Dispersión .....	41
10.2 Análisis no paramétrico .....	42
10.3 Transformación Box-Cox .....	43
10.4 GLM con distribución Gamma.....	44
10.5 ANOVA no paramétrica con ARTool.....	44
10.6 Análisis Post-Hoc .....	45
10.7 Datos agrupados por fechas.....	45
10.8 Supervivencia .....	47
10.9 Oxidación .....	49
<b>11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) .....</b>	<b>50</b>
11.1 Impacto técnico .....	50
11.2 Impacto social.....	50
11.3 Impacto ambiental .....	51
<b>12. PRESUPUESTO.....</b>	<b>51</b>
<b>13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>14. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>15. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>53</b>

16.	ANEXOS .....	60
	Anexo 1. Aval del Traductor .....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Objetivos, actividades, resultados de la actividad (técnicas e instrumentos) ...	6
<b>Tabla 2.</b>	Medio Murashige y Skoog para Arupo Rosado .....	21
<b>Tabla 3.</b>	Medio Gambort para Arupo Rosado .....	22
<b>Tabla 4.</b>	Tratamientos y códigos .....	27
<b>Tabla 5.</b>	Protocolo 1 .....	27
<b>Tabla 6.</b>	Protocolo 2 .....	27
<b>Tabla 7.</b>	Variables dependientes e independientes .....	28
<b>Tabla 8.</b>	Protocolo Eucalyptus spp. ....	31
<b>Tabla 9.</b>	Protocolo Myroxylon balsamum. ....	32
<b>Tabla 10.</b>	Dosis y tiempo ajustadas para el protocolo de Eucalipto .....	33
<b>Tabla 11.</b>	Dosis y tiempo ajustadas para el protocolo de Eucalipto .....	33
<b>Tabla 13.</b>	Porcentajes de medio de cultivo Gambort .....	35
<b>Tabla 14.</b>	Porcentaje de desinfectante medio M&S .....	38
<b>Tabla 15.</b>	Porcentaje de desinfectante medio Gambort .....	38

<b>Tabla 17.</b> GLM con distribución Gamma .....	45
<b>Tabla 18.</b> Anova no paramétrica con ARTool .....	45
<b>Tabla 19.</b> Análisis comparativo de protocolos entre variables de contaminación, oxidación, supervivencia. ....	45
<b>Tabla 20.</b> Presupuesto del proyecto .....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Composición de los medios más utilizados</i> .....	18
<b>Figura 2.</b> <i>Ubicación</i> .....	24
<b>Figura 3.</b> <i>Escala para la evaluación de grado de oxidación propuesta por Drew &amp; Smith 1990.</i> .....	30
<b>Figura 4.</b> <i>Grado de oxidación</i> .....	30
<b>Figura 5.</b> <i>Cantidad de medio de cultivo</i> .....	35
<b>Figura 6.</b> <i>Dispensar el medio de cultivo</i> .....	36
<b>Figura 7.</b> <i>Medición del pH</i> .....	37
<b>Figura 8.</b> <i>Preparación de los desinfectantes</i> .....	40
<b>Figura 9.</b> <i>Desinfección de los segmentos nodales</i> .....	41
<b>Figura 11.</b> <i>Distribución de Valores por Protocolo y Variable</i> .....	42
<b>Figura 12.</b> <i>Interacción de protocolos vs variables</i> .....	43
<b>Figura 13.</b> <i>Tranformación Box-Cox</i> .....	44
<b>Figura 15.</b> <i>Contaminación</i> .....	46
<b>Figura 16.</b> <i>Contaminación</i> .....	47
<b>Figura 17.</b> <i>Contaminación</i> .....	47
<b>Figura 18.</b> <i>Supervivencia</i> .....	48
<b>Figura 19.</b> <i>Supervivencia</i> .....	49
<b>Figura 20.</b> <i>Oxidación</i> .....	50
<b>Figura 21.</b> <i>Oxidación</i> .....	50



## 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título del Proyecto:**

“Evaluación de dos protocolos de desinfección para la producción de plantas In Vitro de Arupo Rosado (*Chionathus pubescens*) en la Universidad Técnica de Cotopaxi 2025”.

**Fecha de inicio:**

Diciembre 2024

**Fecha de finalización:**

Junio 2025

**Lugar de ejecución:**

Universidad Técnica de Cotopaxi

**Facultad que auspicia**

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN) **Carrera**

**que auspicia:**

Agronomía

**Equipo de Trabajo:**

Responsable del Proyecto: Erika Elizabeth Panchi Tapia

Tutor: Ing. Carlos Javier Torres Miño. PhD

Lector 1: Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos MSc.

Lector 2: Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete Mg.

Lector 3: Ing. Clever Gilberto Castillo De La Guerra Mg.

**Coordinador del Proyecto:**

Nombre/s: Erika Elizabeth Panchi Tapia

Teléfonos: 0980853632

Correo electrónico: erika.panchi1887@utc.edu.ec **Área**

**de Conocimiento:**

Agricultura, Silvicultura y Pesca – Producción Agropecuaria **Línea**

**de investigación:**

Análisis, Conservación y Aprovechamiento Racional de la Biodiversidad, Fauna y Recursos Naturales para el desarrollo sustentable y la prevención de desastre naturales.

**Línea de vinculación de la carrera:**

Propagación asexual de especies

## 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La micropropagación de especies vegetales son técnicas de reproducción asexual que permiten el crecimiento por tallos, hojas o semillas para ser explantadas en un medio de cultivo de acuerdo a la etapa fenológica mediante hormonas vegetales. El método de micropropagación es usado en plantas de interés económico, ambiental, especies en peligro de extinción el método facilita el enraizamiento en el medio de cultivo absorbiendo los nutrientes necesarios para el crecimiento de acuerdo a protocolos específicos (Rodríguez, 2021).

El árbol de arupo rosado (*Chionanthus pubescens*) es una especie ornamental forestal perteneciente a la familia de las oleáceas aquellas poseen características morfológicas llamativas para la decoración de jardines, parques, hogares. Las flores de color rosa son de fácil contraste a la infraestructura otorgando una vista agradable apreciando también la madera del árbol por la calidad en dureza, resistencia cuyo uso se da en tornados, y cabos además de usar las semillas como tinta para artesanías (Peralta, 2017).

La micropropagación de cultivos permite generar avances científicos sobre la información vegetal, composición química, analgésicos en medicina, mejorar el crecimiento vegetal los mismos que pueden ser establecidos en bancos de germoplasma o conservación vegetal. Las investigaciones permiten evaluar variables cualitativas y cuantitativas como, por ejemplo: procesos de aclimatación, tasa de crecimiento, viabilidad, regeneración, oxidación mismas que se han estudiado en especies como papa, gerbera, uña de gato, y cultivos de café (Alcántara et al., 2017).

Debido a lo expuesto al comprender y perfeccionar los protocolos de reproducción in vitro para dichas especies en estudio, se puede ampliar la capacidad de propagación, lo cual conlleva a la conservación de la diversidad biológica y mantenimiento de los ecosistemas forestales. Los protocolos propuestos deben ser viables, sin embargo, se debe tener en cuenta los desinfectantes

que se aplicaran las dosis y tiempo de exposición para evitar la contaminación por hongos, bacterias en algunos casos que los explantes se quemem es necesario desinfectar las plantas madre (Aguilera et al., 2021).

Los segmentos nodales se deben desinfectar con soluciones de concentración baja para evitar muerte de los segmentos por oxidación los mismos que son resultado químico de la liberación de enzimas oxidasas y tirosinas que inducen a la oxidación de los tejidos algunas fuentes recomiendan el uso de ácido cítrico, ácido ascórbico, carbón activado, y mantener los tejidos en oscuridad y evitar los choques térmicos considerando que las herramientas de uso deben estar en buen estado (Rosas et al., 2023).

### **3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

#### **3.1 Beneficiarios directos**

Los docentes investigadores y estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

#### **3.2 Beneficiarios indirectos**

Otras instituciones ya que se establecería un protocolo para la desinfección y reproducción de una especie nativa forestal ornamental en este caso Arupo Rosado así como también Industrias forestales y agrícolas ya que podrían adoptar prácticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente basadas en los conocimientos adquiridos sobre la reproducción y adaptabilidad de las especies arbóreas estudiadas junto con la sociedad en general podría beneficiarse de un medio ambiente más saludable y resiliente, así como de la preservación de la biodiversidad y los recursos naturales para las generaciones futuras.

#### 4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

El árbol de Arupo es una especie nativa de la provincia de Loja ubicada en Ecuador este árbol se ve afectado por la baja población de sus ejemplares de modo que para su propagación asexual por esquejes el árbol debe alcanzar la madurez fisiológica de 8 a 10 años produciendo las primeras flores y semillas. La propagación de plantas de forma sexual (semillas) es baja debido al recubrimiento (carozo) junto los factores ambientales como la humedad y temperatura que influyen en la germinación (Peralta, 2017).

De acuerdo a la revisión bibliográfica se encuentra que existe un artículo el cual las semillas de arupo rosado son puestas a prueba de procedimientos pre germinativos para romper la doble latencia y mejorar la capacidad germinativa el cual consiste en remojar la semilla en agua fría, agua caliente y escarificación mecánica. Dando como mejor resultado para *C. pubescens* la escarificación mecánica con 39,22 % de capacidad germinativa y para *C. virginicus* el remojo de semillas en agua caliente con el 49,00 % de capacidad germinativa. (Romero et al., 2021).

El árbol de arupo rosado conocido también como “chuquil” es considerado como una planta nativa de Ecuador al estar distribuidos en diferentes zonas de los valles andinos de acuerdo a los pisos altitudinales no se especifican cifras exactas sin embargo, Se estima que en Sangolquí en la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE) se encontraron 500 ejemplares de arupo rosado de ornato aun no existen cifras exactas pero en un programa de reforestación realizado en Quito en el sector de “El Trébol” en el año 2019 menciona que se plantaron 1500 árboles donde 500 fueron arupos y 1000 de distintas especies para evitar el monocultivo (Primicias, 2019).

Para evitar la degradación y generar la restauración de los ecosistemas terrestres, reservas de agua dulce y marinos la Asamblea General de las Naciones Unidas menciona 10 principios básicos que incluyen los saberes ancestrales, cultura, especies nativas busca fortalecer los lazos entre la naturaleza y el ser humano. Los diez principios básicos son, la contribución global, amplia

participación, diferentes tipos de actividades, beneficios entre la naturaleza y las personas, causas de la degradación, integración de conocimientos, objetivos medibles, contextos locales de paisajes terrestres o marinos, seguimiento y gestión, integración de políticas (PNUMA & FAO, 2022)

Debido a la escasa información que existe sobre el árbol ornamental de Arupo considerado una especie nativa de Ecuador haciendo su mayor presencia en Quito de acuerdo a un manual de arbolado urbano (Secretaría de ambiente de Quito, 2016). Se debería buscar nuevas alternativas de propagación para el Arupo es decir que su reproducción sea rápida con la obtención de un número mayor de plantas en menor tiempo asegurando un mayor porcentaje de crecimiento y sanidad vegetal de las nuevas plantas.

## 5. OBJETIVOS:

### 5.1 General

Evaluar dos protocolos de desinfección para la producción de plantas In Vitro de Arupo Rosado (*Chionanthus pubescens*) en la Universidad Técnica de Cotopaxi.

### 5.2 Específicos

Comparar la eficacia de los dos protocolos establecidos en base a la oxidación y supervivencia.

Determinar el protocolo con menor contaminación para los explantes.

## 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1.**

*Objetivos, actividades, resultados de la actividad (técnicas e instrumentos)*

Objetivos	Actividad	Metodología	Resultados
-----------	-----------	-------------	------------

<b>Objetivo 1</b>	Investigar ensayos de protocolos en cultivos in vitro de forestales	Revisión de bibliografía	Establecer dos protocolos para reproducción in vitro
Comparar la eficacia de los dos protocolos establecidos en base a la oxidación y supervivencia.	Preparación de dos medios con diferente dosis de concentración de los desinfectantes.	Según las investigaciones aplicadas para Eucalipto y Bálsamo	Comportamiento agronómico de arupo diferentes medios de cultivo
	Registrar datos de supervivencia, o	De acuerdo al diseño experimental aplicado	Determinar los medios con menor
	Sembrar en cada uno de los medios establecidos	Esterilizar todos los medios e instrumentos	Verificar las variables a estudiar
	Revisar la presencia de explantes oxidados y	Registrar los datos en Excel	Evaluar la mejor dosis para evitar
	<b>Objetivo 2</b>	Registrar la cantidad de explantes contaminado por bacterias y hongos	Mediante cálculos por fórmulas
Determinar el protocolo con menor contaminación en desinfección para los explantes.			

**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

### 7.1 Origen del Árbol de Arupo

El árbol de Arupo es nativo del Ecuador y Perú perteneciente a la familia de las oleáceas, especie monoica, posee hojas caducas con ramas secundarias en abundancia de donde sobresalen flores rosadas como racimos que son hermafroditas posee entre 6 a 8 metros de altura se desarrolla en climas templados su ubicación se encuentra en laderas y valles (Natusfera , 2025).

Según las investigaciones realizadas por la IUCN el árbol de Arupo rosado se considera como una especie en peligro de extinción en rango menor por lo que se han registrado ejemplares en las zonas de Imbabura, Pichincha, Loja y Azuay, en la zona de Perú existen en baja cantidad (UICN, 2023) De modo que es necesario considerar la preservación de las especies por el hábitat

que ellos les brindan en toda la biodiversidad que existe por la presencia de bosques montanos, nubosos, se recomienda fortalecer las practicas sostenibles (Tejedor-Garavito et al., 2012).

## 7.2 Taxonomía

Según la información tomada de (WFO, 2025) menciona la aceptación del género *Chionanthus* de la familia (Oleaceae) fue publicado por primera vez en el año 1819 de modo que *Chionanthus Linnaeus* por Carl von Linné según (POWO, 2025) su clasificación taxonómica es la siguiente:

**Reino:** Plantas

**Filo:** Estreptofitas

**Clase:** Equisetopsida

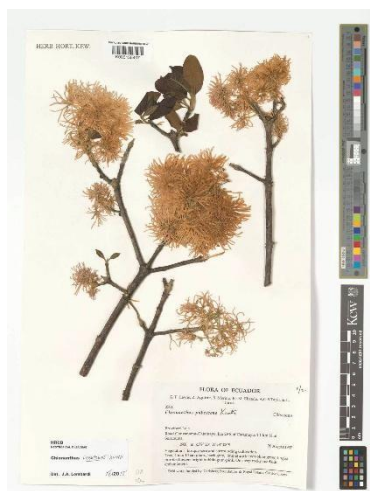
**Subclase:** Magnoliidae

**Orden:** Lamiales

**Familia:** *Oleáceas*

**Género:** *Chionanthus*

**Especies:** *Chionanthus pubescens*



(Real Jardín Botánico de Kew, 2025)

Posee hojas elíptico oblongas, subobtusas, coriáceas, pubescentes por debajo con panículas terminales, cortas, trífidas, sus ramas son trifoliadas, corolas rojas, lóbulos lineales, ápice redondeado ligeramente puntiagudo, base obtusa, enteras con nervadura reticulada con venas primarias, subparalelas y nervios medio prominente en la parte inferior, coriáceas, grabas en la superficie, con nervio medio pubescentes de color verde intenso en el envés, en las venas y los nervios son más pálidas (Martius, 1826).

En el artículo de (Peralta, 2017) se describe las características morfológicas atribuidas a la especie:

**Raíz:** Posee una raíz pivotante y muy ramificada cuando el árbol alcanza la madurez fisiológica las raíces se hacen más vigorosas con la suficiente capacidad para levantar el concreto en las veredas o estructuras edificadas si no se ha realizado un buen manejo de trasplante.

**Tronco:** El grosor puede variar va entre los 40 y 50 cm en diámetro, en la base es más ancho y su ramificación comienza a poca distancia del suelo el crecimiento de ramas secundarias son heterogéneas lo cual varía en grosor y tamaño poseen un color gris con lenticelas el mal manejo de podas puede provocar daños como la formación de ramitas desordenadas e irregulares.

**Hojas:** Son hojas simples, ovadas por el limbo, oblongas, en el borde enteras, sobre la superficie grabas en el haz, en el envés pubescentes, pecioladas, pinnatinervadas, decusadas, coriáceas, el tamaño de hojas es diferente considerando la edad del árbol llegan a medir de 3 a 17 cm de largo cuando son maduras, sin embargo, las más jóvenes son en promedio de 6 cm se puede distinguir una hoja joven de una madura cuando la joven es verde claro y la madura va tomando un color verde intenso.

**Flores:** Es una flor hermafrodita florece todo el año los racimos florales compuestos toman el nombre de panículas varían de 6 a 9 racimos poseen entre 40 a 283 flores, son flores gamopétalas de color rosado no son perfumadas la fórmula floral es la siguiente:  $\div (K) 4 + C4 + A2 + G (4)$ .

**Frutos:** Poseen un pedúnculo o rabillo, epicarpio, mesocarpio, endocarpio y el embrión, los frutos tiernos son de color verde cuando maduran se forman de color vino oscuro a negro miden entre 1,2 y 2 cm tienen un sabor dulce amargo.

#### Importancia y usos

Es una especie forestal tolerante a la contaminación que ha estado en peligro de extinción por el uso que se da a la madera en fabricación de torneados, rodillos de trapiches caseros, por ser de buena calidad y la contribución ambiental que se genera lo hace accesible a ser plantado en avenidas, parques y jardines (Ibujés, 2009).

De acuerdo al análisis físico químico realizado por (Chamba, 2022) hace referencia a la calidad de la madera de *Chionanthus pubescens* depende del tipo de suelo y clima en el cual se encuentra, sin embargo, los niveles de holocelulosa y lignina son los componentes abundantes que el árbol de Loja posee es decir la composición química depende también de la fisiología, anatomía, morfología, recomiendan que el pH adecuado de un suelo para la plantación de la especie debe estar entre 6,5 y 7.

En los estudios realizados para el análisis de la composición fitoquímica y actividad antioxidante de las hojas de árboles de arupo rosado y blanco mediante las técnicas cromatográficas de HPLC-DAD cuya función es la identificación de polifenoles, flavonoides, antocianinas, la investigación hace referencia a las hojas, inflorescencia y frutos poseen componentes como el ácido homovanílico, ácido p-cumárico los hallazgos realizados son considerados como fuente natural de antioxidantes de gran importancia en el ámbito farmacéutico (Mihai et al., 2023).

### **7.3 Siembra y Trasplante**

Según (Vásquez & Yunga, 2008), las semillas recolectadas deben pasar por un tratamiento pre germinativo para romper la latencia el tratamiento consiste en remojar con agua y arena la semilla, sin embargo, se recomienda realizar la siembra de la especie en semilleros para trasplantarlos en fundas posteriormente en se aplica zeolita a las semillas germinadas en arena lo cual se obtiene mejores resultados en la variable altura planta.

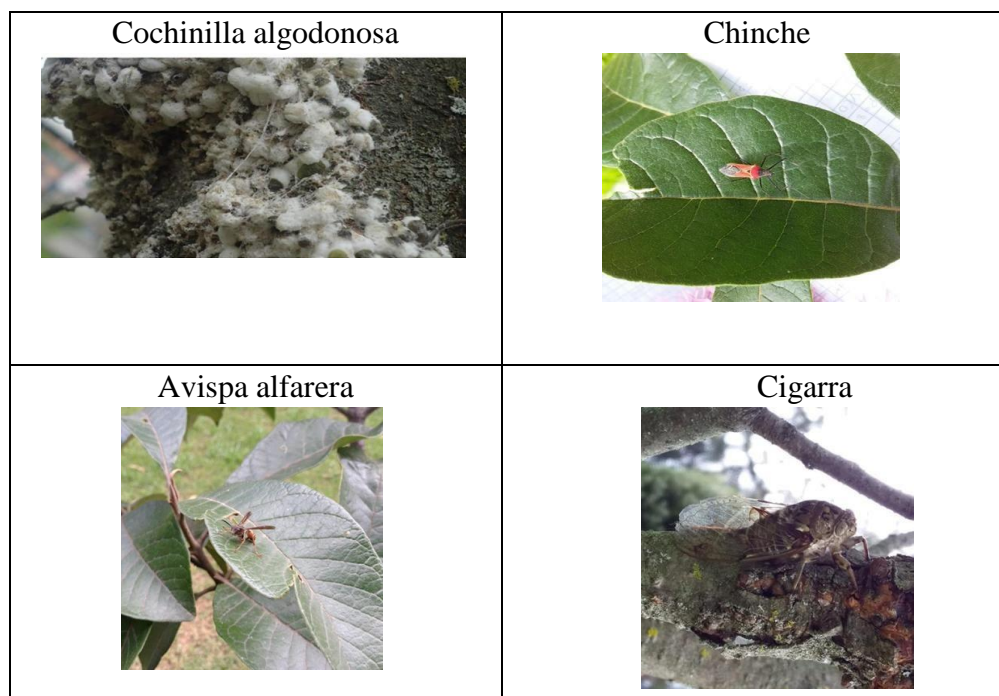
En la etapa de vivero las plantas son expuestas a enfermedades que causa la muerte total de la planta como el hongo *Fusarium* spp. nombre común damping off para el control del hongo se ha desarrollado un fungicida orgánico a base de quinoa por el contenido de saponinas. Se demuestra que el extracto funciona para el control del hongo en concentraciones del 75% a base de saponinas de quinoa y 25 % de agua destilada con frecuencia de 7 días (Abdo, 2021).

### **7.4 Fertilización**

Se realiza la aplicación de abonos foliares por la rápida absorción que tiene al entrar en contacto con el follaje a diferencia de los abonos granulados se volatizan y no llegan a corregir en ocasiones las deficiencias. Como lo menciona (Córdova, 2018) se aplica el fertilizante Fuerza Verde 6g/L con formulación 20% N-20% P-20% K con frecuencia de 21 días los resultado se visualizan en la altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas hasta los 90 días.

## 7.5 Plagas

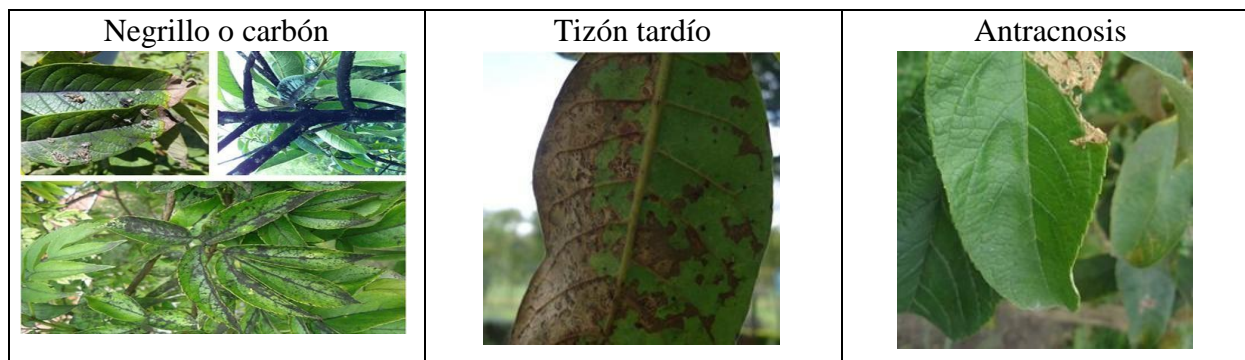
De acuerdo a lo mencionado por (Saldaña & Vera, 2019) las principales plagas que atacan a los Arupos son los de orden hemíptera, heterópteros, himenóptera, coleóptera, homóptero se encuentran en ramas y tallos, se alimentan de la savia de las hojas y ramas algunas dejan sustancias blanquecinas lo cual debilita el árbol.



**Fuente:** (Saldaña & Vera, 2019)

## 7.6 Enfermedades

Pertenece a la clase de los ascomycetes conocido como carbón o negrilla los síntomas se caracterizan por cubrir las hojas con una costra negruzca negra como el horrín provocada por las cochinillas *Planococcus citri*, el hongo al existir la producción de melaza hace que el medio sea el más adecuado para su propagación lo cual impide el normal funcionamiento de la planta, clase oomycetes conocido como tizón tardío los síntomas se presentan como lesión necrótica de color verde oscura que se vuelven café, es visible en el envés de la hoja, Sordariomycetes conocido como antracnosis por *collectotrichum* presenta manchas foliares rodeadas de un halo amarillento, con lesiones de café oscuro sobre la superficie se encuentran los acérvulos del hongo.



**Fuente:**(Saldaña & Vera, 2019)

### 7.7 Micropropagación

La micropropagación de especies vegetales en el ámbito de la agricultura cumple distintos propósitos como mejorar la producción, crear nuevas variedades, clones, a partir de pequeñas secciones o explantes vegetales que deben ser completamente estériles. En la propagación vegetal algunos factores son cruciales entre ellos, los medios de cultivo, el entorno de cultivo y el genotipo para asegurar un mayor porcentaje de explantes vivos, plantas libres de enfermedades y alta uniformidad (Kumar & Reddy, 2011).

Los explantes vegetales micropropagados en laboratorios biotecnológicos permiten generar avances para futuras investigaciones en el ámbito de la medicina, bioquímica, farmacéutica, industria alimentaria, cosmética, textiles asegurando el desarrollo de los países. Sin embargo, la propagación masiva de las diferentes especies de cultivos in vitro permite recuperar especies en peligro de extinción evitar la degradación de los ecosistemas flora, fauna a base de la restauración por medio de reforestaciones (Hasnain et al., 2022).

### 7.8 Tipos de explantes vegetales

Los tipos de explantes vegetales que se pueden extraer para mayor eficiencia de la formación del callo para dar lugar a la organogénesis son de puntas de brotes, y segmentos nodales con soluciones nutritivas dependiendo de la fase en la que se encuentra. En cultivos in vitro de

*Mentha piperita* se realizan estas evaluaciones para determinar cuál es el mejor método junto con los medios nutritivos siendo para la extracción por punta de brotes con 44,5 brotes por explante en el medio BAP 1,0 mg/l; 32,3 brotes por explante en el medio Zeatina 0,25 mg/l y 8,4 brotes por explante en el medio Kn 1,0 mg/l a diferencia de la extracción por segmentos nodales con 49,8 brotes por explante en el medio BAP 1,0 mg/l; 33,3 brotes por explante en el medio Zeatina 0,25 mg/l y 15,3 brotes por explante en el medio Kn 1,0 mg/l dando como resultado de mayor eficiencia la extracción por segmentos nodales (Ghanti et al., 2004).

La reproducción por segmentos nodales consiste en identificar plantas madres sanas que tengan brotes tiernos se denominan segmentos nodales o axilares por estar en la unión entre la hoja y el tallo de la planta se debe cortar el segmento de tallo con un nudo. Los segmentos de punta de brote son aquellos brotes ubicados en el extremo superior de la planta el meristemo apical sin primordios foliares son zonas de crecimiento activas en las puntas y yemas de las plantas con células diferenciadas para la regeneración de hojas, tallos, raíces (Jaimes de Lindarte & Bustamante-Corzo, 2016).

## **7.9 Factores nutricionales**

Existen factores que pueden alterar el crecimiento de los explantes in vitro conociéndose entre ellos los: medios de cultivo, nutrición mineral, fuente de carbono, reguladores de crecimiento, gelificantes. Se debe considerar también que el entorno físico también influirá debido al estado gaseoso es decir los explantes pueden ser afectados por los componentes gaseosos presentes dentro de los recipientes se aceptan humedades relativas entre 98 al 100 % junto con a luz aquella que controla y desarrolla el crecimiento responsable de los procesos de fototropismo, fotosíntesis, morfogénesis, las tres características que dan lugar a estos procesos son la longitud de onda,

densidad de flujo, fotoperiodo y la temperatura que influye en los procesos fisiológicos de respiración y fotosíntesis la T varía entre 20 °C y 27°C depende de la especie (Anusha et al., 2020).

### **7.10 Origen**

El origen o lugar de procedencia puede estar dado por plantas de invernadero y de cultivos in vitro realizados en laboratorios biotecnológicos los mismos que tienen mayor eficiencia en la organogénesis y muestran menor porcentaje de contaminación con mayor número de brotes como lo menciona en la investigación “Effect of Explant Origin and Medium Plant Growth Regulators on In Vitro Shoot Proliferation and Rooting of *Salvia tomentosa*, a Native Sage of the Northeastern Mediterranean Basin (Martini et al., 2022).

### **7.11 Selección y asepsia de los explantes**

Las plantas madres de extracción no deben carecer de nutrientes se seleccionan con varios pares de hojas entre los que debe existir un centímetro de separación para evitar la deshidratación se cortan con las tijeras y el bisturí limpios posteriormente se cortan los explantes colocando en frascos limpios con tapa (Moreno-Bermúdez et al., 2020).

Algunos explantes de micropropagación se pueden ver afectados por la oxidación desencadenando la muerte de los tejidos celulares después de realizar la siembra donde existe la baja probabilidad que los explantes se recuperen es necesario conocer las concentraciones de los desinfectantes establecidos en los protocolos y el pH de los medios. Algunas de las especies leñosas perennes son más susceptibles a la oxidación sin embargo para reducir la oxidación se han generado métodos como dosis de soluciones antioxidantes, ácido ascórbico y cítrico, carbón activado que se añaden en el medio general o la solución madre (Amente & Chimdessa, 2021).

## **7.12 Fases de la propagación In Vitro**

Las fases de propagación In Vitro permiten nutrir a la planta según la etapa fisiológica en la que se encuentran según lo propuesto por (Enriquez et al., 2020) describe las 4 fases de propagación para la especie nativa Quishuar.

### **7.12.1 Fase de desinfección y establecimiento**

Los explantes o semillas que van a ser cultivadas in vitro son desinfectadas con soluciones como agua y detergente se lavan con agua corriente para eliminar todas las impurezas y se preparan soluciones desinfectantes a diferentes dosis y tiempos para la desinfección en la fase de establecimiento se preparan las soluciones con medios Murashige & Skoog junto con hormonas vegetales que estimulan la formación de brotes, tallos, hojas.

### **7.12.2 Fase de multiplicación**

Consiste en cortar los explantes de 2 a 3 cm de los brotes que se cultivaron en la fase de establecimiento en esta fase no se debe agregar hormonas vegetales el medio de cultivo debe ser preparado con micro y macronutrientes, benziladenina (BAP) y ácido giberélico.

### **7.12.3 Incubación y fotoperiodo de vitroplantas**

En la fase de multiplicación se deben colocar 5 explantes por frasco se debe sellar con Parafilm para evitar que el medio se contamine con los microorganismos del exterior se mantienen a intensidad luminosa de 2000 luxes temperatura de 18°C y 21% de humedad la evaluación se realiza cada 30 días.

#### **7.12.4 Fase de enraizamiento y aclimatización**

Se cultivan brotes de 2 cm de longitud para ser colocados en tubos de ensayo de 25 mm x 150 mm con el medio MS gelificado adicionando el ácido 4-indol-3-butírico (AIB) en concentraciones de 4,9  $\mu\text{M}$  9,8  $\mu\text{M}$  14,7  $\mu\text{M}$  para estimular el enraizamiento. En la fase de aclimatización se toman las plantas enraizadas in vitro durante 75 días con el medio AIB para pasarlas a vasos de plástico perforados para disminuir el exceso de agua con sustratos de arena lavada Plantmax HT y sustrato orgánico Ecoterra las variables que se miden son el color de hojas, nuevas hojas, calidad del sistema radicular se deben mantener en condiciones controladas para ser trasladadas a viveros donde completaran su crecimiento y desarrollo (Rocha et al., 2008).

#### **7.13 Medios de Cultivo**

El medio de cultivo debe estar constituido por macronutrientes y micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, suplementos nitrogenados, fuentes de carbono, reguladores de crecimiento y agentes gelificantes. De acuerdo con la Asociación Internacional de Fisiología Vegetal se consideran como macronutrientes a los elementos con concentraciones superiores a los 0,5 mM.l-1 y como requeridos a los de concentración inferior a 0,5 Mm.l-1 se pueden encontrar a los siguientes medios de cultivo como White basado en el medio de Upenski y Uspenska para algas, Gautheret de la solución salina de Knop, entre los medios básicos se encuentran Murashige y Skoog, Linsmayer y Skoog, Gambort B5, Nitsch y Nitsch (Buckner et al., 2016).

##### **7.13.1 Medio Murashige y Skoog**

El medio Murashige y Skoog fue creado por los científicos Toshio Murashige y Folke K. Skoog en el año 1962 las letras MS significa que el medio contiene sacarosa existen medios MS0 que su codificación es 0 de sacarosa y MS20 en todo el medio existe 20 g/L de sacarosa por ende se pueden encontrar en el medio MS sales principales en mg por litro como Nitrato de amonio

(NH<sub>4</sub>)NO<sub>3</sub>) en 1650 mg, Cloruro de calcio, (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 440 mg, Sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 180,7 mg, Fosfato monopotásico (KH)<sub>2</sub>(PO)<sub>4</sub> 170 mg, Nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>)1900 mg junto con los micronutrientes Ácido bórico (H)(BO)<sub>3</sub> 6.2 mg, Cloruro de cobalto (CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) 0,025mg, Sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 27,8 mg, Sulfato de manganeso II (MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O) 22,3 mg, iodida de potasio (IK) 0,83 mg, Molibda de sodio (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) 0,25 mg, Sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 8,6 mg Etilenodiaminetetraacetic acid ferric sodium (FeNaEDTA) 36,70 mg, Sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>)·5H<sub>2</sub>O) 0,0,25 mg, en las vitaminas se pueden encontrar a Myo-Inostisol 100 mg, Ácido Nicotínico 0,5 mg, Piridoxina-HCl 0,5 mg, Thiamine-HCl 0,1 mg, Glycine 2 mg, Tryptone 1g, Ácido acético Indole 1 – 30 mg, Kinetin 0,04 a 10 mg (Murashige & Skoog, 1962).

### 7.13.2 Medio Gambort (B5)

Los primeros medios de cultivo fueron creados a base de leche de coco y algunos materiales orgánicos sin embargo con el avance de investigaciones a nivel de tejidos vegetales se han logrado evolucionar creando así medios a base de sales minerales, sacarosa, fuentes de carbono, aminoácidos poniendo a prueba de igual forma el cultivo en los medios químicos. El medio de cultivo Gambort B5 está compuesto por sustancias químicas **macroelementos** Sulfato de amonio 134 mg/L, Cloruro de calcio 113,23 mg/L, Sulfato de magnesio 122,09 mg/L, Nitrato de potasio 2500 mg/L, Fosfato monobásico de sodio 130,42 mg/L, **microelementos** Ácido bórico 3,0 mg/L, cloruro de cobalto hexahidratado 0,025 mg/L, sulfato de cobre pentahidratado 0,025 mg/L, EDTA sal disódica dihidratada 37,30 mg/L, sulfato ferroso heptahidratado 27,80 mg/L, sulfato de manganeso monohidratado 10,00 mg/L, ácido molibdico 0,213 mg/L, ioduro de potasio 0,750 mg/L, sulfato de zinc heptahidratado 2,00 mg/L, **vitaminas** mio-inositol 100,00 mg/L, ácido

nicotínico 1,000 mg/L, piridoxina 1,000 mg/L, Clorhidrato de tiamina 10,0 g/L, **carbohidratos** sacarosa 20000,00 mg/L (Gamborg et al., 1968).

### Figura 1.

*Composición de los medios más utilizados*

MediumComponent es (mg.l <sup>-1</sup> )	SRA.	G5W		LM	VW	Km	M	NN
<b>Macronutriente</b>								
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>					200.0			
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650.0			400.0				720.0
KNO <sub>3</sub>	1900.0	2500.0	80.0		525.0	180.0	180.0	950.0
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440.0	150.0		96.0				166.0
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370.0	250.0	720.0	370.0	250.0	250.0	250.0	185.0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170.0			170.0	250.0	150.0	150.0	68.0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		134.0			500.0	100.0	100.0	
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O		150.0	16.5					
CaNO <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O			300.0	556.0		200.0	200.0	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			200.0					
Kcl			65.0					
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				990.0				
<b>Micronutriente</b>								
KI	0.83	0.75	0.75			80.0	0.03	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20	3.0	1.5	6.2		6.2	0.6	10.0
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.30		7.0		0.75	0.075		25.0
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O		10.0		29.43				
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6	2.0	2.6	8.6			0.05	10.0
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25		0.25		0.25	0.05	0.25
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025	0.025		0.25		0.025		0.025
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025	0.025				0.025		
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O							0.05	
Na <sub>2</sub> EDTA	37.3	37.3		37.3		74.6	37.3	37.3
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	27.8		27.8		25.0	27.8	27.8
MnCl <sub>2</sub>						3.9	0.4	
Fe(C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ) <sub>3</sub> ·2H <sub>2</sub> O					28.0			
<b>Vitaminas y otros</b>								
suplementos Inositol	100.0	100.0		100.0				100.0
Glicina	2.0	2.0	3.0	2.0				2.0
Tiamina HCl	0.1	10.0	0.1	1.0		0.3	0.3	0.5
Piridoxina HCl	0.5		0.1	0.5		0.3	0.3	0.5
Ácido nicotínico	0.5		0.5	0.5			1.25	5.0
Ca-pantotenato			1.0					
Cisteína HCl			1.0					
Riboflavina						0.3	0.05	
Biotina							0.05	0.05
Ácido fólico							0.3	0.5

MS Murashige y Skoog, G5- Gamborg et al., W- White, LM- Lloyd y McCown, VW- Vacin y Went, Km-Kudson modificado, M- Mitra et al. y NN- Nilsch y Nilsch media.

**Fuente:** (Buckner et al., 2016)

## 7.14 Agentes Gelificantes

Son compuestos polisacáridos a base de algas rojas que permiten que el medio general se haga sólido para hacer posible la siembra de los cultivos in vitro ya sean de hongos, bacterias, explantes vegetales con fines investigativos. La dosis que se aplique a cada medio de cultivo varía

de acuerdo a las indicaciones, protocolos o composición química no debe ser demasiado dura ni demasiado líquida ya que esto influye en el desarrollo de los brotes y la disponibilidad de agua en el medio de cultivo (López et al., 2016).

De acuerdo con (Bonnet et al., 2020) se pueden crear medios de cultivo selectivos con los agentes gelificantes en donde se realizan mezclas junto con antibióticos, antisépticos permite una acción inhibitoria sobre las bacterias y hongos desde estudios posteriores con las bases de Pasteur. Un pH bajo también puede disminuir el peso del explante vivo, la producción de brotes e impedir que el medio de cultivo se solidifique los rangos de pH se aplican también para evitar la contaminación por microorganismo según (Alvarado et al., 2003).

### **7.15 Importancia de la conservación de los ecosistemas**

La conservación de los ecosistemas es de vital importancia porque genera una mayor diversidad en población de flora y fauna mejorando la calidad de vida de las comunidades lo cual fomenta el desarrollo local. Por el contrario, la actividad antropogénica generada por el hombre la deforestación, expansión del terreno agrícola, ganadería han provocado que gran cantidad de especies nativas se hayan extinguido provocando que se rompa la cadena de simbiosis afectando también a los recursos hídricos cuencas, ríos de los lugares (Varea et al., 1997).

Según (FAO, 2022) expresa que existieron pérdidas de la zona forestal entre el 2010 y 2020 en países como América del Sur y África mientras que en países como Asia se presentaron ganancias clasificando de esta forma como:

#### **7.15.1 Bosques primarios**

Aproximadamente el 34 % de los bosques son primarios son aquellos conformados por árboles nativos donde el humano aún no ha llegado países como la Federación de Rusia, Canadá y Brasil poseen el 61% de bosques primarios.

### 7.15.2 Bosques plantados

En el 2020 se estima que el 7 % equivalente a 294 millones de hectáreas en la superficie terrestre está cubierta por especies arbóreas plantadas.

### 7.15.3 Otras tierras boscosas

El 7% de hectáreas de bosques constituyendo así África con 446 millones de hectáreas, Asia con 191 millones de hectáreas, Europa con 100 millones de hectáreas, América del Norte y Central 90,5 millones de hectáreas, y Oceanía con 2,47 millones de hectáreas.

### 7.15.4 Otras tierras con cubierta de árboles

Las áreas con otras especies de árboles se dividen en 4 subcategorías que son árboles en espacios urbanos, huertos de árboles, palmas y la agroforestería, sin embargo, la mayor parte de reforestación se registra en los países como Asia y África.

## 7.16 Establecimiento de los protocolos para Arupo

En relación a la información obtenida sobre el Arupo, botánica y desarrollo de investigaciones sobre la importancia el impacto que genera en el ecosistema se ha planteado establecer el cultivo in vitro de Arupo con referencia a otras especies forestales cultivadas in vitro para analizar el comportamiento de la especie en los siguientes medios de cultivo descritos a continuación propuestos por:

**Tabla 2.** Medio Murashige y Skoog para Arupo Rosado

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Variables en estudio</b>
<b>Asepsia</b>				Tasa de contaminación
Etanol	70	%	1 min	
Hipoclorito de sodio	1	%	15 min	

Tween 20	1	Gota	15 min	% de explantes vivos Número de brotes Longitud de brotes
Agua destilada estéril	100	ml		
<b>Establecimiento</b>				
Bencilaminopurina	0,1	mg/l		
Sacarosa	30	g/l		
Ácido ascórbico	50	g/l		
Ácido cítrico	50	g/l		
Murashige y Skoog	2,4	g/l		
Agar	8	g/l		
Hidroxido de potasio	0,1	Normal		

**Fuente:** (Castro & Sánchez, 2016).

**Tabla 3.** Medio Gambort para Arupo Rosado

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Variables en estudio</b>
<b>Asepsia</b>				Tasa de contaminación
Tween 80	2	Gota	5 min	
Povidyn	10	%	20 min	
Hipoclorito de sodio	10	%	5 min	

Cloruro de mercurio	0,5	%	5 min	
Agua destilada	100	ml		
<b>Establecimiento</b>				
Agar	8		g/l	% de explantes vivos Número de brotes Longitud de brotes
Sacarosa	30		g/l	
Gentamicina	20		mg/l	
Cloruro de calcio	10		ml/l	
Yoduro de potasio	10		g/l	
Sulfato de hierro	10		g/l	
Gambort	10		ml/l	
Cisteína	10		g/l	
Hidroxido de sodio	0,1		Normal	

**Fuente:** (Indacochea et al., 2018)

### 7.17 Oxidación en los explantes vegetales

Las altas concentraciones de los desinfectantes pueden inducir la oxidación de los explantes por lo cual se considera bajar las concentraciones de los protocolos en base a lo mencionado por (Díaz et al., 2023) recomienda trabajar con el hipoclorito de sodio en concentraciones < 5 para reducir la oxidación, sin embargo, el tiempo que los explantes son expuestos al desinfectante influyen según (Ruiz et al., 2023).

La solución de desinfección cloruro de mercurio en altas concentraciones puede provocar daños en los tejidos vegetales estimulando la producción de fenoles, estrés, desecación y muerte del segmento mientras que en baja concentración 0,2 y 0,1 puede reducir el riesgo de oxidación (Jimenez & Abdelnour, 2016).

## **8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS**

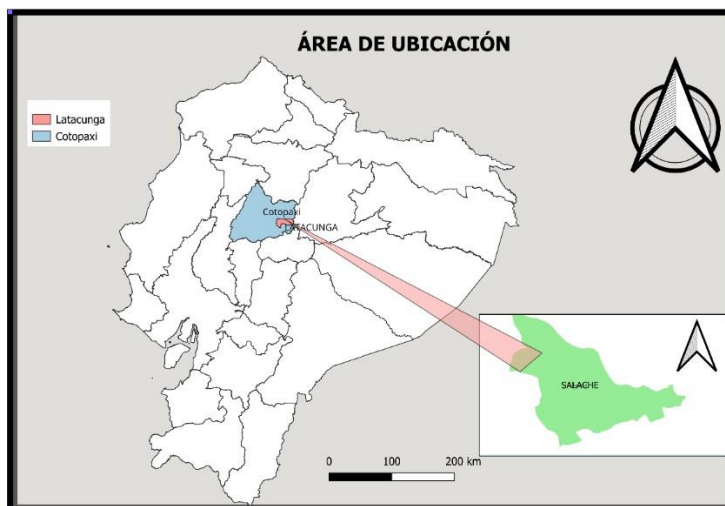
**H0:** Todos los protocolos y medios de cultivos son iguales para la desinfección del cultivo In vitro.

**H1:** Existen diferencias entre los protocolos de desinfección de los cultivos In vitro.

## **9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **9.1 Ubicación del área de estudio**

La Universidad Técnica de Cotopaxi Facultad Caren se encuentra ubicado en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Eloy Alfaro cuya zona se encuentra en altitud de 2769 msnm, longitud  $78^{\circ} 36' 55''$  O y latitud  $0^{\circ} 56' 06''$  S



**Figura 2:** *Ubicación*

**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 9.2 Tipo de investigación

### 9.2.1 Experimental

Hace referencia a la manipulación de una o más variables independientes en estudio analizando sobre el impacto que puede provocar sobre las variables dependientes se basa en el proceso del investigador para resolver inquietudes en base a la investigación en donde se ha encontrado un problema (Ramos-Galarza, 2021).

La presente investigación trabaja con dos variables independientes y diferentes dosis, para el respectivo análisis del comportamiento agronómico a nivel del laboratorio del campus Salache.

### 9.2.2 Cuantitativa

Se aplica de acuerdo al modelo estadístico establecido se realizan datos cualitativos y cuantitativos bajo el principio de las escalas ordinales y nominales no permiten operaciones aritméticas por el contrario en base a conteo y atributos basados en totales, frecuencias y

porcentajes junto con los cuadros de resultados y su respectiva interpretación (Cienfuegos Velasco et al., 2022).

### **9.3 Modalidad básica de la investigación**

#### **9.3.1 Laboratorio**

Es el lugar en donde se une la teoría y la practica mediante la elección de un tema de estudio se pueden evaluar parámetros específicos bajo condiciones controladas sin alterar ningún resultado garantizando la validez mediante diseños estructurados y pruebas piloto (Przepiorka, 2023).

### **9.4 Bibliografía y documental**

La revisión bibliográfica y documental permitirá validar la información sobre la presente investigación.

### **9.5 Técnicas e instrumentos para recolección de datos**

#### **9.5.1 Observación**

Mediante la visualización de las variables a estudiar permite analizar e interactuar en el área de ensayo para la recolección de datos dependiendo de los tratamientos sin provocar alteraciones en los resultados (Malik, 2017).

#### **9.5.2 Registro de datos**

Se registran los datos en el cuaderno de campo de acuerdo al diseño establecido.

#### **9.5.3 Análisis de datos**

Los datos registrados son procesados en el software INFOSTAT para la respectiva interpretación.

## 9.6 Especificaciones del campo experimental

### 9.6.1 Diseño experimental

La presente investigación tiene un diseño de parcelas divididas (DPD) en donde el factor A son los protocolos y el factor B dosis de los desinfectantes y tiempo de desinfección con 2 repeticiones para cada tratamiento

### 9.6.2 Factores en estudio

#### Factor A: Protocolos (P)

Protocolo 1 (Castro & Sánchez, 2016)

Protocolo 2 (Indacochea et al., 2018)

#### Factor B: Variantes (V)

V0: Sin protocolo

V1: Hipoclorito de sodio 0,1 % 2 min

V2: Hipoclorito de sodio 0,1 % 5 min

V3: Hipoclorito de sodio 0,2 % 2 min

V4: Hipoclorito de sodio 0,2 % 5 min

V0: Sin protocolo

V1: Hipoclorito de sodio 1 % y cloruro de mercurio 0,1 2 min

V2: Hipoclorito de sodio 1 % y cloruro de mercurio 0,1 5 min

V3: Hipoclorito de sodio 2 % y cloruro de mercurio 0,2 2 min

V4: Hipoclorito de sodio 2 % y cloruro de mercurio 0,2 5 min

### 9.6.3 Tratamientos

**Tabla 4.** *Tratamientos y códigos*

Tratamientos	Códigos	Descripción
<b>T1</b>	P1-V1	Hipoclorito de sodio 0,1% 2 min
<b>T2</b>	P1-V2	Hipoclorito de sodio 0,1 % 5 min
<b>T3</b>	P1-V3	Hipoclorito de sodio 0,2 % 2 min
<b>T4</b>	P1-V4	Hipoclorito de sodio 0,2 % 5 min
<b>T0</b>	P0-V0	Testigo
Tratamientos	Códigos	Descripción
<b>T1</b>	P2-V1	Hipoclorito de sodio 1% y cloruro de mercurio al 0,1 % 2 min
<b>T2</b>	P2-V2	Hipoclorito de sodio 1% y cloruro de mercurio al 0,1 % 5 min
<b>T3</b>	P2-V3	Hipoclorito de sodio 2% y cloruro de mercurio al 0,2 % 2 min
<b>T4</b>	P2-V4	Hipoclorito de sodio 2% y cloruro de mercurio al 0,2 % 5 min
<b>T0</b>	P0-V0	Testigo

Elaborado por: Panchi Erika

#### 9.6.4 Distribución de la parcela experimental

**Tabla 5.** *Protocolo 1*

<b>R1</b>	T2	T1	T0	T3	T4
<b>R2</b>	T0	T1	T3	T2	T4

**Tabla 6.** *Protocolo 2*

<b>R1</b>	T2	T1	T3	T4	T0
<b>R2</b>	T1	T3	T2	T0	T1

#### 9.7 Operacionalización de variables

**Tabla 7.**

*Variables dependientes e independientes*

Variables	Definición conceptual	Indicadores	índice	Técnica	Instrumentos
-----------	-----------------------	-------------	--------	---------	--------------

			<b>unidad de medida</b>		
<b>Variables dependientes</b>	Laboratorio				
	Descripción de las variables a evaluar	Tasa de contaminación	%	Cálculo del porcentaje	Observación y registro de datos en el libro de campo
		Tasa de supervivencia de segmentos	%		
		Nivel de oxidación de los tejidos	%		
		Crecimiento inicial de los brotes	Cm	Observación directa	
<b>Variable independiente</b>	Evaluación de 2 protocolos	Dosis	MI	Aplicación directa	Pipeta
		Tiempo	min (2) y (5)	Aplicación directa	Cronómetro

**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 9.8 Variables a evaluar en Laboratorio

### 9.8.1 Tasa de contaminación

A los 3 días de haber realizado la siembra de los segmentos nodales se procede a registrar las unidades contaminadas visibles con bacterias, hongos, esporas se realiza el cálculo del porcentaje de contaminación con la siguiente fórmula.

$$\text{Porcentaje de contaminación} = \frac{\text{Número de explantes contaminados}}{\text{Total de explantes evaluados}} * 100$$

**Fuente:**(Coral et al., 2025)

### 9.8.2 Tasa de supervivencia de segmentos

Mediante los datos registrados a los 3, 6, 9 días se realiza el cálculo de supervivencia con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de supervivencia} = \frac{\text{Número de explantes vivos}}{\text{Total de explantes}} * 100$$

**Fuente:** (Matos et al., 2016)

### 9.8.3 Grado de oxidación de los tejidos

De acuerdo con la investigación de (Villegas et al., 2008) para medir la oxidación en cultivos in vitro de plátano se realiza mediante escalas donde los indicadores son: grado I oxidación leve, grado II oxidación moderada y grado III oxidación intensa mediante el siguiente gráfico.

**Fórmula para calcular la oxidación:**

$$GO = \frac{n(0) + n(1) + n(2) + n(4) + n(5)}{\Sigma n \times 5}$$

**Fuente:**(Díaz et al., 2023)

GO: Grado de oxidación

N: Frecuencia de severidad observada

$\Sigma n$ : Sumatoria de las observaciones

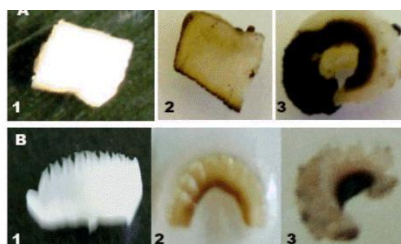
El cálculo de oxidación se realiza mediante la siguiente descripción.

**Figura 3.** Escala para la evaluación de grado de oxidación propuesta por Drew & Smith 1990.

Grado	Descripción
0	No hubo oxidación, coloración del explante de blanco-amarillo crema.
1	Incipiente coloración parda sin llegar a la necrosis del tejido.
2	25 % oxidación levemente visible, ¼ del explante oxidado.
3	50 % oxidación media, ½ del explante oxidado.
4	75 % oxidación alta, ¾ del explante oxidado.
5	100 % de tejido necrótico.

**Fuente:**(Díaz et al., 2023)

**Figura 4.** *Grado de oxidación*



**Figura 2.** Grado de oxidación en explantes de Gran Enano (*Musa AAA*), durante la inducción de la embriogénesis somática: (A) Escala cualitativa usada para los bordes de las porciones de brácteas; (B) Escala cualitativa empleada para las bases de las manos de flores. A1, B1: oxidación leve o ausencia de oxidación (grado I); A2, B2: oxidación moderada (grado II); A3, B3: oxidación intensa (grado III).

**Fuente:** (Villegas et al., 2008)

## 9.9 Etapas de la Investigación

Se realiza el establecimiento y la desinfección con relación al protocolo usado para *Eucalyptus spp.* (Eucalipto) expuesto por (Castro & Sánchez, 2016) para la especie forestal ornamental Arupo.

### **Tabla 8.**

*Protocolo Eucalyptus spp.*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Variables en estudio</b>
<b>Asepsia</b>				Tasa de contaminación
Etanol	70	%	1 min	
Hipoclorito de sodio	1	%	15 min	
Tween 20	1	Gota	15 min	
Agua destilada estéril	100	ml		
<b>Establecimiento</b>				% de explantes vivos Número de brotes Longitud de brotes
Bencilaminopurina	0,1	mg/l		
Sacarosa	30	g/l		
Ácido ascórbico	50	g/l		
Ácido cítrico	50	g/l		
Murashige y Skoog	2,4	g/l		
Agar	8	g/l		
Hidroxido de potasio	0,1	Normal		

**Fuente:** (Castro & Sánchez, 2016)

Para el segundo protocolo se realiza a partir de la investigación realizada por (Indacochea et al., 2018) para *Myroxylon balsamum* Bálamo en la etapa de establecimiento y desinfección.

**Tabla 9.**

*Protocolo Myroxylon balsamum.*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Variables en estudio</b>
<b>Asepsia</b>				Tasa de contaminación
Tween 80	2	Gota	5 min	
Povidyn	10	%	20 min	

Hipoclorito de sodio	10	%	5 min	
Cloruro de mercurio	0,5	%	5 min	
Agua destilada	100	ml		
<b>Establecimiento</b>				
Agar	8		g/l	% de explantes vivos Número de brotes Longitud de brotes
Sacarosa	30		g/l	
Gentamicina	20		mg/l	
Cloruro de calcio	10		ml/l	
Yoduro de potasio	10		g/l	
Sulfato de hierro	10		g/l	
Gambort	10		ml/l	
Cisteína	10		g/l	
Hidroxido de sodio	0,1		Normal	

**Fuente:** (Indacochea et al., 2018)

### 9.9.1 Ajuste de las dosis para cada protocolo

Según lo explicado por (Díaz et al., 2023) y (Jimenez & Abdelnour, 2016) las altas concentraciones de los desinfectantes como el (hipoclorito de sodio) y el (cloruro de mercurio) pueden desencadenar la oxidación de los tejidos vegetales posteriormente la muerte total de los explantes. Los protocolos siguientes están ajustados de acuerdo a las recomendaciones establecidas.

Desinfección para el protocolo de *Eucalyptus spp.* (Eucalipto) propuesto por (Castro & Sánchez, 2016) para la especie forestal ornamental Arupo rosado.

#### **Tabla 10.**

*Dosis y tiempo ajustadas para el protocolo de Eucalipto*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>VARIABLES a estudiar</b>
<b>Asepsia</b>				
Etanol	70	%	1 min	· % de contaminación · % de supervivencia de los segmentos nodales · Grado de oxidación de los segmentos nodales
Hipoclorito de sodio	0,1	%	2 min	
	0,2	%	5 min	
Tween 20	1	Gota	5 min	
Agua destilada estéril				

**Elaborado por:** Panchi Erika

Desinfección para el protocolo de *Myroxylon balsamum* Bálsamo propuesto por (Indacochea et al., 2018) en la etapa de desinfección en Arupo rosado.

**Tabla 11.**

*Dosis y tiempo ajustadas para el protocolo de Bálsamo*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tiempo</b>	<b>VARIABLES a estudiar</b>
<b>Asepsia</b>				
Tween 80 + povidona	1	Gota	5 min	· % de contaminación · % de supervivencia de los segmentos nodales · Grado de oxidación de los segmentos nodales
Hipoclorito de sodio	1	%	2min	
Hipoclorito de sodio	2	%	5 min	
Cloruro de mercurio	0,1	%	2 min	
Cloruro de mercurio	0,2	%	5 min	
Agua destilada				

**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 9.10 Procedimiento

### 9.10.1 Preparación del medio de cultivo

### Descripción del material para cultivo in vitro

Se dispensan en frascos de vidrio de 100 ml los mismos que tienen las siguientes medidas 7,0 cm de altura y 5,1 cm de ancho.

Realizar los siguientes cálculos para la cantidad de medio de cultivo que se debe pesar de acuerdo al volumen de agua en función de ml que se dispensara en cada frasco.

### Medio Murashige y Skoog

En cada frasco se debe dispensar 30 ml de cada medio de cultivo considerando que se usa 50 frascos para el protocolo 1, el volumen de agua es de 1500 ml los frascos de autoclave son de 500 ml tomando en cuenta los porcentajes establecidos el primer protocolo.

### Tabla 12.

*Porcentajes de medio de cultivo M&S*

Establecimiento		
Bencilaminopurina(BAP)	0,1	mg/l
Sacarosa	30	g/l
Acido ascórbico	50	mg/l
Ácido cítrico	50	mg/l
Murashige & Skoog y Agar	2,4	g/l
Agar	14	g/l
Hidróxido de potasio	0,1	Normal

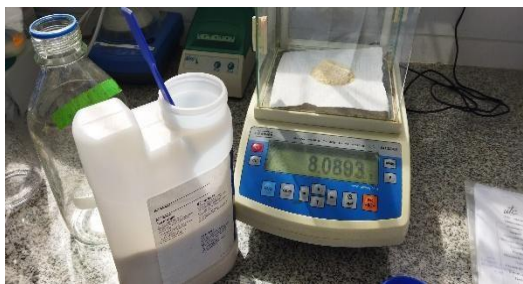
**Fuente:** (Castro & Sánchez, 2016)

BAP 0,1 mg ----- 1000 ml

X mg BAP -----500 ml

X= 0,05 mg BAP

Pesar en la balanza analítica los siguientes reactivos 0,05 mg de BAP, 15 g de sacarosa, 25 mg de ácido cítrico, 25 mg de ácido ascórbico, 1,2 g de Murashige, 7,00 g de Agar para los 500 ml y posteriormente se esteriliza a 121 °C por 20 minutos dejándose incubar el explante en la oscuridad durante 30 días adicionando.

**Figura 5.** Cantidad de medio de cultivo

**Fuente:** (Panchi Erika 2025)

### Medio Gambort

En cada frasco se debe dispensar 30 ml de cada medio de cultivo considerando que se usa 50 frascos para el protocolo 2, el volumen de agua es de 1500 ml los frascos de autoclave son de 500 ml tomando en cuenta los porcentajes establecidos el segundo protocolo.

**Tabla 13.**

*Porcentajes de medio de cultivo Gambort*

Establecimiento		
Agar	14	g/l
Sacarosa	30	g/l
Gentamicina	20	mg/l
Cloruro de calcio	10	ml/l
Yoduro de potasio	10	ml/l
Sulfato de hierro	10	ml/l
Vitamina Gambort	10	ml/l
Cisteína	10	ml/l
Hidróxido de sodio	0,1	Normal

**Fuente:** (Indacochea et al., 2018)

14 g de Agar ----- 1000 ml

X g de Agar ----- 500 ml

X= 7 g de Agar

Pesar en la balanza analítica las cantidades de 7 g de Agar, 5 ml de cloruro de calcio, 5 g de yoduro de potasio, 5 g de sulfato de hierro, 5 ml de vitamina Gambort, 5 g de cisteína, para 500 m.

**Figura 6.** *Dispensar el medio de cultivo*



**Fuente:** (Panchi Erika 2025)

### 9.10.2 Ajustar pH

Revisar con el pH metro cada uno de los medios de acuerdo a los protocolos por el contrario si se presenta acidez en los medios se procede a ajustar con hidróxido de potasio para el protocolo 1 y el hidróxido de sodio para el protocolo 2.

Preparación de la solución de pH

Para el medio que contiene los minerales M&S se prepara la solución con Hidróxido de Potasio con 5,6 g el mismo que será disuelto en 1 L de agua destilada para ajustar al 0,1 Normal.

Para el medio que contiene la vitamina Gambort se pesa 5,6 g de hidróxido de sodio para disolver en 1 L de agua destilada ajustando al 0,1 Normal.

**Figura 7.** *Medición del pH*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

### 9.10.3 Esterilización

Distribuir parcialmente 30 ml de medio M&S en los 20 frascos para ser esterilizados junto con el frasco de autoclave que contiene el medio Gambort la Temperatura de esterilización será 121 °C por 20 min.

Esterilizar los siguientes materiales frascos, pinzas, tijeras, toallas, camiseta, agua destilada, vasos de precipitación en el auto clave por 35 min.

### 9.10.4 Aplicación del antibiótico en el medio

Dentro de la cabina de flujo laminar colocar en el antibiótico gentamicina de 20 mg en el medio Gambort y mezclar

### 9.10.5 Preparación de la solución para desinfección

#### Protocolo 1

#### Tabla 14.

*Porcentaje de desinfectante medio M&S*

Materiales	Cantidades	Unidades
------------	------------	----------

<b>Asepsia</b>		
Etanol	70	%
Hipoclorito de sodio	0,1	%
	0,2	%
Tween 20	1	Gota
Agua destilada estéril		

**Fuente:** (Castro & Sánchez, 2016)

$$C1V1=C2V2$$

$$10\%NaClO=0,1\% \text{ en } 100ml$$

$$X = \frac{0,1\%NaClO \times 100ml}{10\%NaClO} = 1ml$$

De acuerdo a la dosis ajustada para el protocolo 1 se coloca en la pipeta 1 ml de hipoclorito de sodio para disolver en 99 ml de agua destilada. **Protocolo 2**

**Tabla 15.**

*Porcentaje de desinfectante medio Gambort*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidades</b>	<b>Unidades</b>
<b>Asepsia</b>		
Tween 80	1	Gota
Povidona	2	Gota
Hipoclorito de	1	%
	2	%
Cloruro de mercurio	0,1	%
	0,2	%
Agua esterilizada		

**Fuente:** (Indacochea et al., 2018)

### Hipoclorito de sodio

$$C1V1=C2V2$$

$$10\%NaClO=1\% \text{ en } 100ml$$

$$X = \frac{1\%NaClO \times 100ml}{10\%NaClO} = 10ml$$

De acuerdo a la primera dosis ajustada para el protocolo 2 se coloca en la pipeta 10 ml de hipoclorito de sodio para disolver en 90 ml de agua destilada.

### Cloruro de mercurio

$$C1V1=C2V2$$

$$5\%HgCl2 = 0,1\% \text{ en } 100ml$$

$$X = \frac{0,1\%HgCl2 \times 100ml}{5\%HgCl2} = 2ml$$

De acuerdo a la primera dosis ajustada para el protocolo 2 se coloca en la pipeta 2 ml de cloruro de mercurio para disolver en 98 ml de agua destilada.

**Figura 8.** *Preparación de los desinfectantes*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

### 9.10.6 Desinfección de los segmentos nodales

Cortar con las tijeras las muestras vegetales recolectadas luego colocar en las cajas Petri etiquetadas para llevarlas a la cámara de flujo laminar.

Dentro de la cabina de flujo laminar encender los mecheros y cortar de 4 cm de largo los segmentos nodales con la ayuda del bisturí.

Para la desinfección en el protocolo 1 con la ayuda de las pinzas se coloca el segmento nodal en etanol al 70 % por 1 min, luego en NaClO al 0,1 % por 2 min, seguido de Tween 20 por 15 min, finalmente enjuagar con el agua destilada.

Para la desinfección en el protocolo 2 con la ayuda de las pinzas se coloca el segmento nodal en la solución de tween 80 + povidyn por 5 min, luego del hipoclorito de sodio al 1% por 2 min, seguido del cloruro de mercurio al 0,1 % por 2 min finalmente enjuagar con agua destilada.

**Figura 9.** *Desinfección de los segmentos nodales*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

### 9.10.7 Siembra de los segmentos nodales

Después de realizar el enjuague, secar el agua de los segmentos con las toallas absorbentes, con las pinzas se coloca en los medios establecidos para proceder al etiquetado de acuerdo al diseño.

#### Figura 10.

*Siembra*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 10.1 Dispersión

Se evaluaron dos protocolos de desinfección para la etapa de establecimiento de cultivo in vitro de *Chionanthus pubescens* en donde se analizaron las siguientes variables dependientes como % de contaminación, % de supervivencia, % de oxidación.

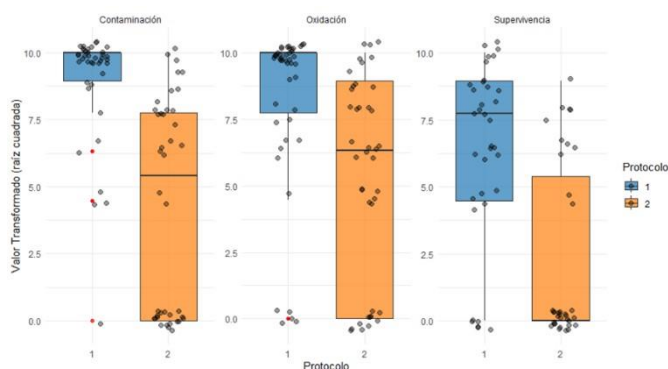
De acuerdo a los resultados obtenidos se observa en la figura 5 la distribución de valores por protocolo en donde para la variable de contaminación en el protocolo 1 existen valores

dispersos y altos que demuestra que hay mayor contaminación a diferencia del protocolo 2 donde los datos son menores y se encuentran agrupados con una menor contaminación.

En la variable de oxidación los dos protocolos muestran valores elevados con una menor dispersión demostrando que no existe una diferencia mayor entre los dos protocolos para la oxidación.

Se observa en la variable de supervivencia en donde en el protocolo 1 se registra valores altos con mayor % de supervivencia a diferencia del protocolo 2 los valores son menores lo cual baja el porcentaje de vida de los explantes.

**Figura 11.** *Distribución de Valores por Protocolo y Variable*



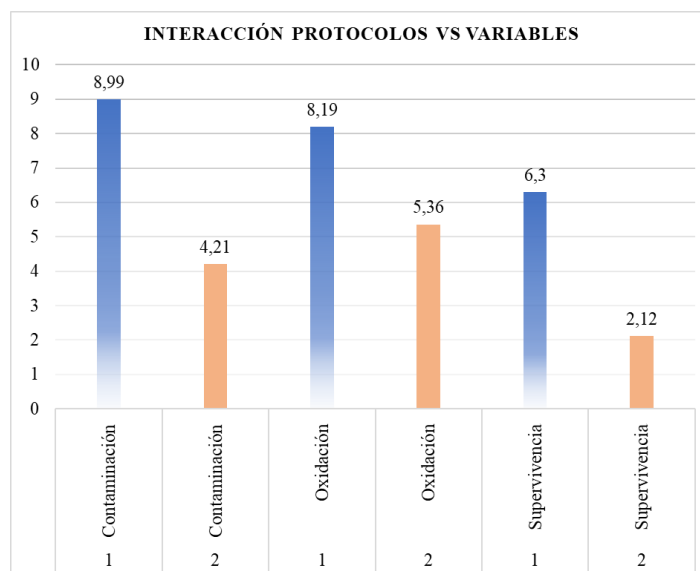
## 10.2 Análisis no paramétrico

De acuerdo a los resultados obtenidos para la variable de contaminación el protocolo 1 se obtuvo una media máxima de 8,99 % mientras que el protocolo 2 muestra una media baja con 4,21 % de contaminación de los explantes.

Para la variable de oxidación en el protocolo 1 se obtiene una media alta de 8,19 % a diferencia del protocolo 2 se obtiene una media baja del 5,36 %.

En la variable de supervivencia el protocolo 1 muestra una media de 6,30 % mientras que el protocolo 2 muestra una media baja del 2,12 %.

**Figura 12.** *Interacción de protocolos vs variables*

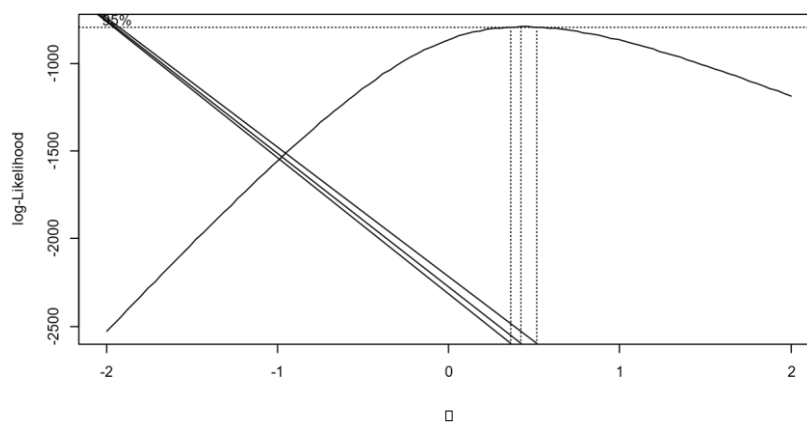


**Elaborado por: (Panchi Erika 2025)**

### 10.3 Transformación Box-Cox

En el eje x ( $\lambda$ ) representa valores diferentes del parámetro lambda en el eje y (log – likelihood) representa el valor del log-verosimilitud del modelo para los valores de lambda los intervalos de confianza son  $\lambda = 0$  o  $\lambda = 1$  el valor de  $\lambda$  óptimo está cerca de 0.

**Figura 13.** *Transformación Box-Cox*



## 10.4 GLM con distribución Gamma

De acuerdo a las interacciones realizadas entre los protocolos y las variables se demuestra que el protocolo 1 presenta una diferencia ( $p < 2e-16$ ) altamente significativo frente al protocolo 2 en la variable de contaminación.

En la variable de oxidación la diferencia es de ( $p = 0,594$ ) entre el protocolo 1 y 2 no existen diferencias significativas.

La variable de supervivencia es marginalmente significativa de acuerdo a ( $p = 0,0576$ ) obtenidos entre el protocolo 1 y 2.

Las interacciones realizadas con la variable de oxidación y supervivencia del protocolo 2 en relación al protocolo 1 no existe cambios los dos protocolos son iguales.

**Tabla 14.**

*GLM con distribución Gamma*

Término	Estimación	Error Estándar	t valor	Valor p	Significancia
(Intercepto)	2.207	0.126	17.565	< 2e-16	***
Protocolo2	-0.747	0.178	-4.202	7.79e-05	***
variableOxidación	-0.091	0.172	-0.532	0.594	ns
variableSupervivencia	-0.315	0.184	-1.990	0.0576	. (marginal)
Protocolo2:variableOxidación	+0.330	0.248	1.330	0.185	ns
Protocolo2:variableSupervivencia	-0.312	0.260	-1.200	0.231	ns

## 10.5 ANOVA no paramétrica con ARTool

Los protocolos tienen un efecto altamente significativo sobre la variable contaminación.

**Tabla 18.**

*Anova no paramétrica con ARTool*

	Df	Df. res	F. value	Pr(>F)	

<b>1</b>	<b>Protocolo</b>	1	229	87	< 2,22E-16	***
<b>2</b>	<b>Variable</b>	2	229	15,7637	3,85E-07	***
<b>3</b>	<b>Protocolo:variable</b>	2	229	3,2051	0,004238	*

### 10.6 Análisis Post-Hoc

En Contaminación, se observó una diferencia media de 0.748 unidades ( $p < 0.001$ ) altamente significativo.

En Oxidación, la diferencia fue de 0.417 unidades ( $p = 0.0265$ ), también significativa,

En Supervivencia, la diferencia es más pronunciada, con 1.059 unidades ( $p < 0.001$ ), lo que sugiere un impacto considerable del protocolo sobre la variable de supervivencia.

#### Tabla 19.

*Análisis comparativo de protocolos entre variables de contaminación, oxidación, supervivencia.*

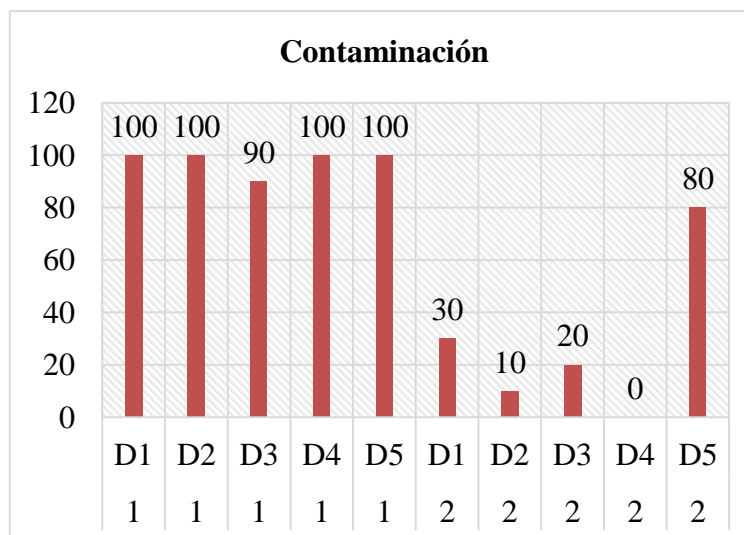
Variable	Diferencia	Error Estándar	gl	Estadístico t	Valor p	Significativo
<b>Contaminación</b>	0.748	0.178	229	4.202	0,748	Sí
<b>Oxidación</b>	0.417	0.173	229	2.414	0.0265	Sí
<b>Supervivencia</b>	1.059	0.190	229	5.574	1,059	Sí

### 10.7 Datos agrupados por fechas

#### 10.7.1 Contaminación

De acuerdo con la figura 8 se observa los siguientes valores obtenidos en el protocolo 1 a los 4 días de haber realizado la siembra en diferentes dosis para la variable de contaminación la dosis 1, 2, 4, incluido el testigo presentan el 100 % de contaminación mientras que la dosis 3 presenta el 90% de contaminación, para el protocolo 2 la dosis 1 presenta el 60 % de contaminación mientras que la dosis 2 el 10 %, seguido de la dosis 3 con el 20 %, la dosis 4 presenta 0 % de contaminación en el testigo o dosis 5 se observa el 80 %.

#### Figura 15. Contaminación

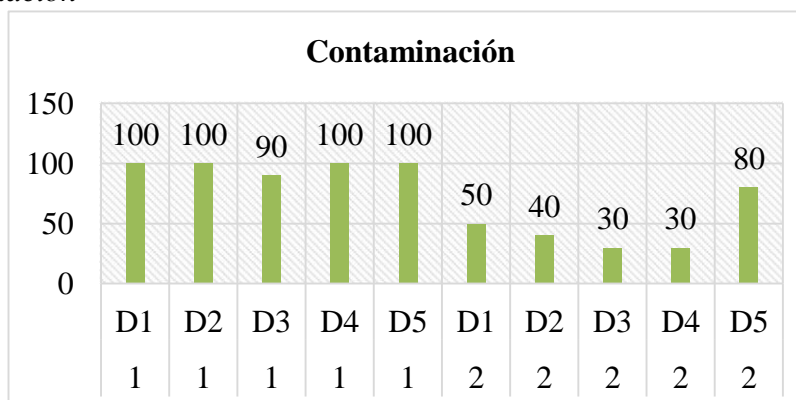


**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

De acuerdo con la figura 9 se observa los siguientes valores obtenidos en el protocolo 1 a los 8 días de haber realizado la siembra en diferentes dosis para la variable de contaminación la dosis 1, 2, 4, incluido el testigo presentan el 100 % de contaminación mientras que la dosis 3 presenta el 90% de contaminación, para el protocolo 2 la dosis 1 presenta el 50 % de contaminación mientras que la dosis 2 el 40 %, seguido de la dosis 3 con el 30 %, la dosis 4 presenta 30 % de contaminación en el testigo o dosis 5 se observa el 80 %.

**Figura 16.**

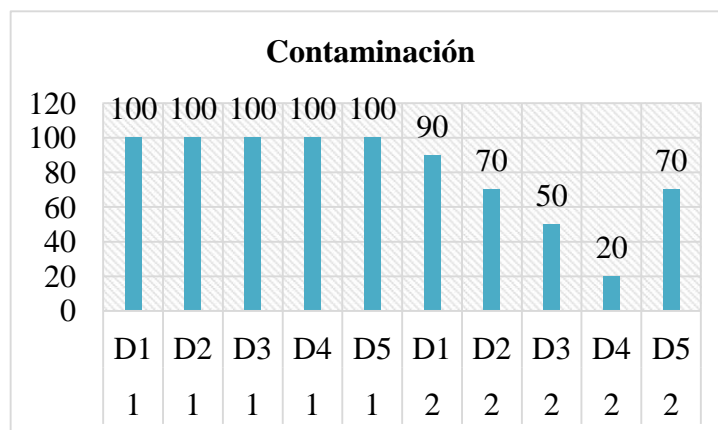
*Contaminación*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

De acuerdo con la figura 10 se observa los siguientes valores obtenidos en el protocolo 1 a los 18 días de haber realizado la siembra en diferentes dosis para la variable de contaminación la dosis 1, 2, 3, 4, incluido el testigo presentan el 100 % de contaminación para el protocolo 2 la dosis 1 presenta el 90 % de contaminación mientras que la dosis 2 el 70 %, seguido de la dosis 3 con el 50 %, la dosis 4 presenta 20 % de contaminación en el testigo o dosis 5 se observa el 70 %.

**Figura 17.** *Contaminación*

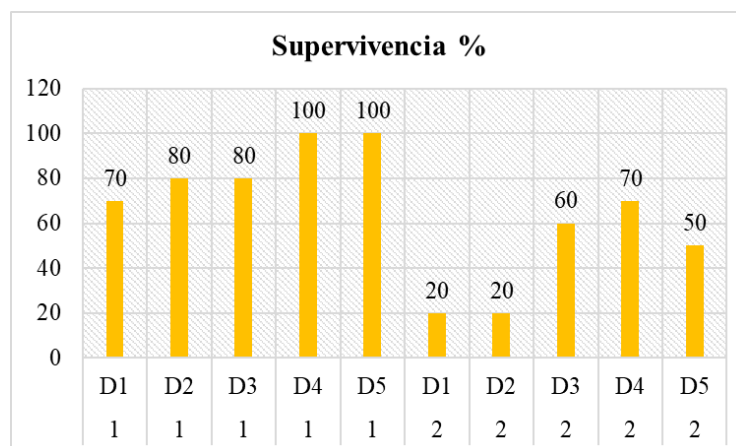


Elaborado por: (Panchi Erika 2025)

## 10.8 Supervivencia

De acuerdo con la figura 11 a los 4 días de haber realizado la siembra se registran los siguientes datos de supervivencia en el protocolo 1 en la dosis 1 hay el 70 % de explantes vivos, la dosis 2 y 3 presentan el 80 %, la dosis 4 y 5 presentan el 100 % mientras en el protocolo 2 se observan los siguientes valores para la dosis 1 y 2 existe un 20 % de explantes vivos, para la dosis 3 el 60 %, la dosis 4 presenta el 70 % y finalmente la dosis 5 o testigo presenta el 50 % de explantes vivos.

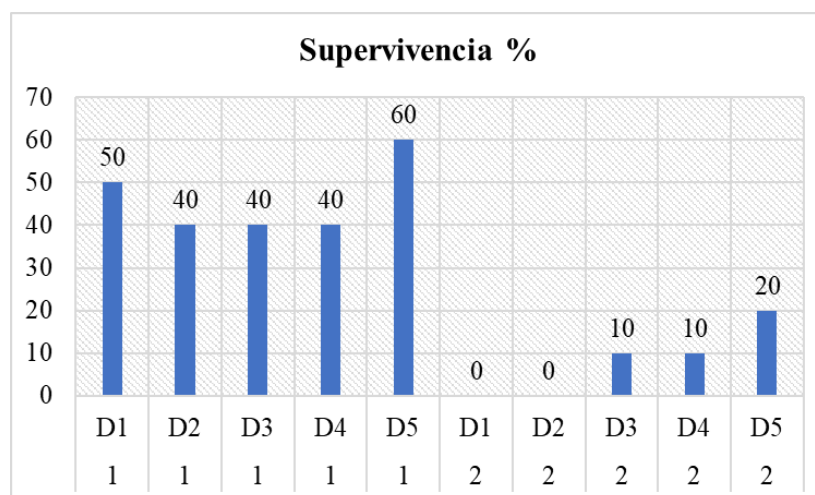
**Figura 18.** *Supervivencia*



**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

De acuerdo con la figura 12 a los 8 días de haber realizado la siembra se registran los siguientes datos de supervivencia en el protocolo 1 en la dosis 1 hay el 50 % de explantes vivos, la dosis 2, 3, 4 presentan el 40 %, mientras en el protocolo 2 se observan los siguientes valores para la dosis 1 y 2 existe un 0 % de explantes vivos, la dosis 3 y 4 presenta el 10 % y finalmente la dosis 5 o testigo presenta el 20 % de explantes vivos.

**Figura 19.** *Supervivencia*

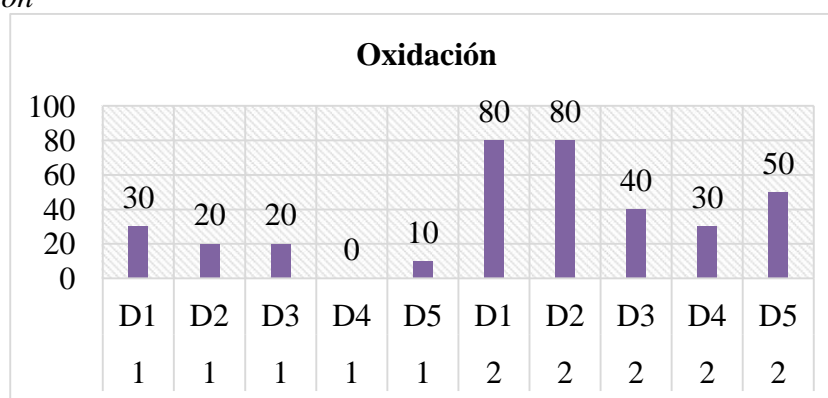


**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

## 10.9 Oxidación

De acuerdo con la figura 13 a los 4 días de haber realizado la siembra se registran los siguientes datos de oxidación en el protocolo 1 en la dosis 1 hay el 30 % de oxidación, la dosis 2 y 3 presentan el 20 %, la dosis 4 presenta 0 %, la dosis 5 o testigo se obtiene el 10 % de oxidación mientras en el protocolo 2 se observan los siguientes valores para la dosis 1 y 2 existe un 80 % de oxidación, la dosis 3 el 40 %, la dosis 4 el 30 % y finalmente la dosis 5 o testigo presenta el 50 % de oxidación.

**Figura 20.**  
*Oxidación*

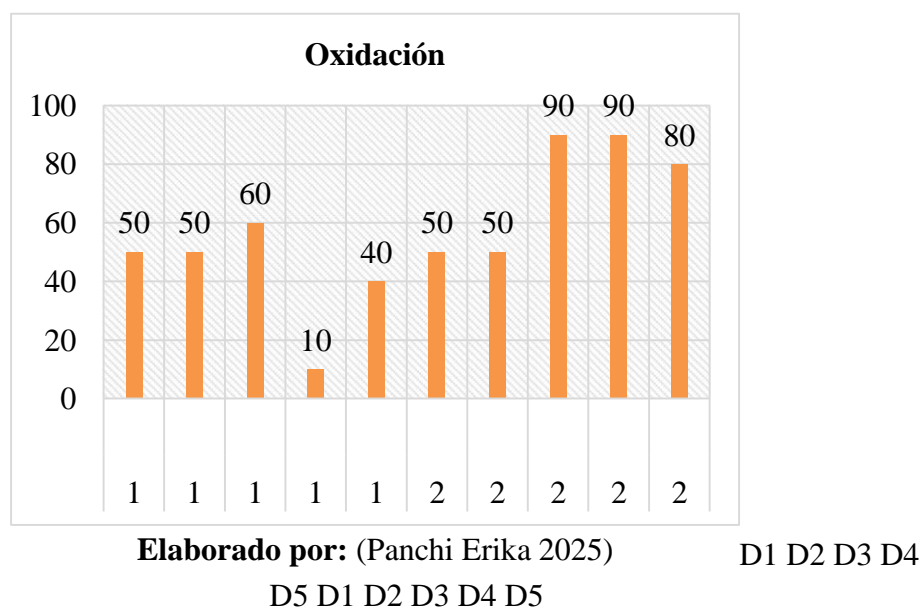


**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

De acuerdo con la figura 14 a los 8 días de haber realizado la siembra se registran los siguientes datos de oxidación en el protocolo 1 en la dosis 1 y 2 hay el 50 % de oxidación, la dosis 3 presenta el 60 %, la dosis 4 presenta 10 %, la dosis 5 o testigo se obtiene el 40 % de oxidación mientras en el protocolo 2 se observan los siguientes valores para la dosis 1 y 2 existe un 50 % de

oxidación, en la dosis 3 y 4 existe el 90 % y finalmente la dosis 5 o testigo presenta el 80 % de oxidación.

**Figura 21. Oxidación**



## 11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

### 11.1 Impacto técnico

El impacto fue positivo frente a la variable de contaminación ya que se logró determinar el protocolo óptimo de desinfección la aplicación de tween 80 junto con el povidyn, hipoclorito de sodio y cloruro de mercurio reducen los riesgos de contaminación en los explantes.

### 11.2 Impacto social

El desarrollo de la investigación puede incentivar al desarrollo de nuevos estudios sobre la propagación in vitro del árbol de arupo a partir de los protocolos propuestos.

### 11.3 Impacto ambiental

El presente proyecto tiene la finalidad de conservar las especies nativas en peligro de extinción fomentando el desarrollo local de las comunidades mejorando la calidad de vida de acuerdo con los ODS.

## 12. PRESUPUESTO

El costo de implementación del presente proyecto de investigación es determinante debido al siguiente gasto en la implementación del ensayo.

**Tabla 20.**

*Presupuesto del proyecto*

<b>Materiales/Insumos</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Costo Total</b>
Cloruro de calcio liquido	250	g	\$ 5,50
Sulfato de hierro	300	g	\$ 3,57
Sacarosa	1	kg	\$ 4,35
Arupo	12	Plantas	\$ 84,00
Bencilaminopurina	500	g	\$ 97,00
Vitamina Gambort	500	ml	\$ 192,00
Cisteína	1	kg	\$ 218,00
Etanol	1000	ml	\$ 4,50
Hipoclorito de sodio	500	ml	\$ 1,00
Tween 80	500	ml	\$ 1,00
Povidyn	250	ml	\$ 3,75

Gentamicina	20	mg	\$ 0,80
Toallas absorbentes	1	Paquete	\$ 3,50
Papel de cocina	2	Paquete	\$ 2,00
Bisturí	4	Hojas	\$ 1,00
Camiseta	1		\$ 5,00
			<b>\$ 626,97</b>

**Elaborado por:** (Panchi Erika 2025)

### 13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos los dos protocolos no demuestran diferencias máximas para las variables de oxidación, es decir en el protocolo 1 se obtiene una media de 8,19 % de oxidación y el protocolo 2 presenta el 5,36 % de oxidación en la variable de supervivencia el protocolo 1 registra una media del 6,3 % de supervivencia mientras que el protocolo 2 una media baja del 2,12 % frente a la variable de supervivencia el protocolo 1 fue mejor que el protocolo 2.

El protocolo que menor porcentaje de contaminación registro en la evaluación de los desinfectantes fue el protocolo 2 con una media del 4,21 % en relación con el protocolo 1 que presenta una media alta de 8,99 % de segmentos nodales contaminados.

### 14. RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de antioxidantes (ácido cítrico 50 mg/l y ácido ascórbico 50 mg/l) como alternativa para reducir la oxidación.

Se recomienda la aplicación de un antibiótico (Gentamicina a 20 mg/l) en la solución madre del medio de cultivo y la desinfección de segmentos nodales con hipoclorito de sodio y cloruro de mercurio en bajas concentraciones para reducir la contaminación.

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- Abdo, S. A. (2021). *EVALUACIÓN DE SAPONINAS DE QUINUA (Chenopodium quinoa) PARA EL CONTROL DE Fusarium spp., CAUSANTE DEL DAMPING-OFF EN ARUPO (Chionanthus pubescens Kunth), EN CHAMBO, CHIMBORAZO*. 1–80.  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15937/1/33T00318.pdf>
- Aguilera, G. A., Puentes, C. L., & Rodríguez, E. (2021). Métodos de desinfección para el establecimiento in vitro de dos variedades de yuca para uso agroindustrial. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(3), 21–30.  
<https://doi.org/10.53287/kdux7546xv191>
- Alcántara, J., Castilla, M., & Sánchez, R. (2017). Importancia de los cultivos vegetales in vitro para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias*, 1, 71–83.  
<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/Biociencias/article/view/2222/2382>
- Alvarado, Y., Cruz, M., Portal, N., García, L., Freire, M., Quiala, E., & Gómez, R. (2003). Estrategia de trabajo para la prevención y el control de la contaminación bacteriana en la micropropagación de la caña de azúcar. *Biotecnología Vegetal*, 3(2), 77–82.  
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/221/html>

- Amente, G., & Chimdessa, E. (2021). Control of browning in plant tissue culture: A review. *Journal of Scientific Agriculture, April*, 67–71. <https://doi.org/10.25081/jsa.2021.v5.7266>
- Anusha, G., Sunayana, R., Ponnampalani, M., & Kumar, B. A. (2020). Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(6), 77–80.
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Buckner, C. A., Lafrenie, R. M., Dénoimée, J. A., Caswell, J. M., Want, D. A., Gan, G. G., Leong, Y. C., Bee, P. C., Chin, E., Teh, A. K. H., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., Masuelli, M., Korrapati, S., Kurra, P., ... Mathijssen, R. H. J. (2016). Plant Tissue Culture Media Abobkar. *Intech, 11(tourism)*, 13. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-inbiometrics>
- Castro, D., & Sánchez, G. (2016). Propagación clonal in vitro de Eucalyptus pellita F. Muell a partir de árboles plus. *Temas Agrarios*, 15(1), 34–43. <https://doi.org/10.21897/rta.v15i1.817>
- Chamba, P. E. (2022). *Evaluación de la relación entre las propiedades físicas y químicas de la madera en Chionanthus pubescens, árbol patrimonial de la ciudad de Loja*. 75. [https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/26005/1/Patricia Enith Chamba Shonda.pdf](https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/26005/1/Patricia%20Enith%20Chamba%20Shonda.pdf)
- Cienfuegos Velasco, M. de los Á., García Manzano, P. J., & González Pérez, C. (2022). Lo cuantitativo y cualitativo desde un tratamiento estadístico. *RICSH Revista Iberoamericana de Las Ciencias Sociales y Humanísticas*, 11(21), 18–49. <https://doi.org/10.23913/ricsh.v11i21.275>
- Coral, J. Y., Zapata-rogel, C. Y., Ricardo, V., & Millingalli, C. (2025). Propagación in vitro de tomate ( Solanum lycopersicum L .) en diferentes concentraciones de inositol , mediante explantes apicales different concentrations of inositol , by means of apical explants. *Kosmos*, 4(1), 145–159. <https://doi.org/https://doi.org/10.62943/rck.v4n1.2025.170>
- Córdova, S. (2018). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DEL FERTILIZANTE EN LAS PLANTAS DE Chionanthus pubescens K. (ARUPO), PARROQUIA LA PENÍNSULA, CANTÓN AMBATO, PROVINCIA DE TUNGURAHUA*. 3(2), 91–102.

[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwikip8m6kO2NAXVwSDABHXd\\_Iq4QFnoECBcQAQ&url=https%3A%2F%2Fdspace.espoch.edu.ec%2Fhandle%2F123456789%2F8732&usg=AOvVaw2\\_4DxaPddSFyCW9NAVqrgO&opi=89978449](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwikip8m6kO2NAXVwSDABHXd_Iq4QFnoECBcQAQ&url=https%3A%2F%2Fdspace.espoch.edu.ec%2Fhandle%2F123456789%2F8732&usg=AOvVaw2_4DxaPddSFyCW9NAVqrgO&opi=89978449)

Díaz, M. I., Pereira, K. D., Brítez, J. R., Mongelós, J. Y., & Mussi, C. E. (2023). Efecto de la concentración del hipoclorito de sodio sobre la contaminación y oxidación de meristemas en la micropropagación de banano. *Reportes Científicos de La FACEN*, 14(2), 156–164.

<https://doi.org/10.18004/rcfacen.2023.14.2.156>

Enriquez, P. J., Aguilar, P. B., Espín, L. H., Zambrano, A. V., & Vargas, C. C. (2020). PROPAGATION in vitro of QUSHUAR (Buddleja incana Ruíz & Pav) | PROPAGACIÓN in vitro DE QUISHUAR (Buddleja incana Ruíz & Pav). *Granja*, 31(1), 74–84.

Gamborg, O. L., Miller, R. A., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1), 151–158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)

Ghanti, K., Kaviraj, C. P., Venugopal, R. B., Jabeen, F. T. Z., & Rao, S. (2004). Rapid regeneration of *Mentha piperita* L. from shoot tip and nodal explants. *Indian Journal of Biotechnology*, 3(4), 594–598.

Hasnain, A., Naqvi, S. A. H., Ayesha, S. I., Khalid, F., Ellahi, M., Iqbal, S., Hassan, M. Z., Abbas, A., Adamski, R., Markowska, D., Baazeem, A., Mustafa, G., Moustafa, M., Hasan, M. E., & Abdelhamid, M. M. A. (2022). Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. *Frontiers in Plant Science*, 13(October), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009395>

Hernández, Y., & González, M. (2010). EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA Y OXIDACIÓN FENÓLICA EN EL ESTABLECIMIENTO In Vitro DE FRUTALES PERENNES. *SCIELO*, 1, 1–15.

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S025859362010000400015&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S025859362010000400015&script=sci_arttext)

Ibujés, J. A. Q. (2009). Evaluació chionanthus pubescens Kn de seis tratamientos pre germinativos y cuatro tipos de sustratos para la propagación de arupo (*Chionanthus pubescens* Kunt.). *Escuela Superior Politecnica de Chimborazo-Facultad de Recursos Naturales*, 01–147.

[http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/708/1/33T0062\\_QUISHPE\\_JANNETH.pdf](http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/708/1/33T0062_QUISHPE_JANNETH.pdf)

Indacochea, B., Parrales, J., Hernández, A., Castro, C., Vera, M., Zhindón, A., & Gabriel, J. (2018).

Evaluation of in vitro culture media for native forest species in danger of extinction in Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 63–89.

Jaimes de Lindarte, G., & Bustamante-Corzo, C. (2016). Fundamentos de biotecnología vegetal.

In *Respuestas* (Vol. 2, Issue 1, pp. 18–29). <https://doi.org/10.22463/0122820x.566>

Jimenez, V., & Abdelnour, A. (2016). In vitro establishment of *Vaccinium consanguineum*, a native blueberry from Costa Rica. *Tecnología En Marcha*, 29(2), 77–84.

[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjqs8DZoZqOAxW4SjABHUVGDIQQFnoECBcQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.scielo.sa.cr%2Fscielo.php%3Fscript%3Dsci\\_arttext%26pid%3DS0379-39822016000200077&usg=AOvVaw1BZWdVhGdBoXU32J](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjqs8DZoZqOAxW4SjABHUVGDIQQFnoECBcQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.scielo.sa.cr%2Fscielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3DS0379-39822016000200077&usg=AOvVaw1BZWdVhGdBoXU32J)

Kumar, N., & Reddy, M. P. (2011). In vitro Plant Propagation: A Review. *Journal of Forest Science*, 27(2), 61–72.

López, A. L., Loaiza, C., & López, M. (2016). Efecto De Diferentes Agentes Gelificantes En La Germinación Y Desarrollo in Vitro De Plántulas De *Echinocactus Platyacanthus* Link Et Otto (Cactaceae). *Polibotánica*, 0(42), 153–166. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.42.8>

Malik, S. (2017). Observation Versus Experiment: An Adequate Framework for Analysing Scientific Experimentation? *Journal for General Philosophy of Science*, 48(1), 71–95.

<https://doi.org/10.1007/s10838-016-9335-y>

Martini, A. N., Vlachou, G., & Papafotiou, M. (2022). Effect of Explant Origin and Medium Plant Growth Regulators on In Vitro Shoot Proliferation and Rooting of *Salvia tomentosa*, a Native Sage of the Northeastern Mediterranean Basin. *Agronomy*, 12(8).

<https://doi.org/10.3390/agronomy12081889>

Martius, K. F. P. von. (1826). Nova Genera et Species Plantarum brasiliensum. *Nova Genera et Species Plantarum*, 2(17), 119. <https://www.ipni.org/search?q=Chionanthus pubescens>

Matos, A., Betancourt, I., Pérez, A., Lezcano, Y., Carlos, E., Abreu, A., Pina, D., Vives, K., Daquinta, M., & Maritza, E. (2016). DE *Moringa oleifera* Lam . In vitro propagation of *Moringa oleifera* Lam . cultivars Arturo Matos Ruiz ) , Iris Capote Betancourt , Aurora Pérez Martínez . *SCIELO*, 37, 49–56. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1717.7202>

Mihai, R. A., Espinoza Caiza, I. A., Melo Heras, E. J., Florescu, L. I., & Catana, R. D. (2023). Comparative Assessment of Antioxidant Activity and Functional Components of *Chionanthus virginicus* and *Chionanthus pubescens* from the Andean Region of Ecuador. *Pharmaceutics*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061676>

- Moreno-Bermúdez, L. J., García, L. R., Pérez, M., & La, M. (2020). Protocolo para la micropropagación de *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. a partir de segmentos nodales. *Biotecnología Vegetal*, 20(3), 249–256. <https://orcid.org/0000-0003-2300-2458>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). Murashige1962Revised.Pdf. *Physiologia Plantarum*, 15, 474–497. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Peralta, E. (2017). *El arupo*. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5575>
- PNUMA, & FAO. (2022). *Principios para la Restauración de los Ecosistemas como guía para el decenio de las Naciones Unidas 2021-2030*. 1–21. [https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/40470/PERG\\_SP.pdf?sequence=5](https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/40470/PERG_SP.pdf?sequence=5)
- Przepiorka, W. (2023). Laboratory Experiments. *Utrecht University, Department of Sociology / ICS*, 1–21. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199548477.003.0051>
- Ramos-Galarza, C. (2021). Editorial: Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica*, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.33210/ca.v10i1.356>
- Rocha, M. A. C. da, Costa, M. A. P. de C., Silva, S. A., Ledo, C. A. da S., Moreira, M. J. S., & Bastos, L. P. (2008). Enraizamento in vitro e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(3), 769–774. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452008000300035>
- Rodríguez, M. (2021). *Acclimatization of Lisianthus ( Eustoma grandiflorum ( Raf. ) Shinners )*. 42(1).
- Romero, M. J. A., Mediavilla, B. S. H., & Pantoja, M. I. V. (2021). Pre-germinative treatments applied to *Chionanthus pubescens* and *C. Virginicus* seeds for sexual propagation. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 51, 1–7. <https://doi.org/10.1590/1983-40632021v51i66875>
- Rosas, M. A., Ochoa, N., & Rocha, M. D. C. (2023). Regeneration of leaf explants of five raspberry genotypes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(6), 1–12. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i6.3183>
- Ruiz, H., Guerrero, M., & Álvarez, J. (2023). Efecto de tratamientos de desinfección sobre explantes de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para introducción in vitro. *Entramado*, 20(1), 1–9. <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.10219>
- Saldaña, M., & Vera, K. (2019). *Diagnóstico de plagas y enfermedades presentes en las plantas de la zona urbana de la ciudad de Cuenca*. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18164>
- Secretaría de ambiente de Quito. (2016). Manuales técnicos de arbolado urbano. Plantación. *Alcaldía de Quito*, 21.

[http://www.quitoambiente.gob.ec/images/Secretaria\\_Ambiente/Documentos/patrimonio\\_natural/arbolarado/manual1.pdf](http://www.quitoambiente.gob.ec/images/Secretaria_Ambiente/Documentos/patrimonio_natural/arbolarado/manual1.pdf)

Tejedor-Garavito, N., Álvarez, E., Caro, S. A., Murakami, a A., Blundo, C., Espinoza, T. E. B., & Torre, M. a La. (2012). Evaluación del estado de conservación de los bosques montanos en los Andes tropicales. *Ecosistemas*, 21, 148–166. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2023-1.RLTS.T36532A212027379.en>

Varea, A., Suárez, L., Chávez, G., Cordero, M., Alvarez, N., Fuentes, F. E., Miño, P., Eguiguren, P. C., Vogel, J. H., Vásquez, L., Pocaterra, F., Zambrano, B., Rodríguez, L., Romero, F., Suárez, L., Chávez, G., Cordero, M., Alvarez, N., Fuentes, F. E., ... Carrión, P. (1997). *BIODIVERSIDAD, BIOPROSPECCION y BIOSEGURIDAD*.

Vásquez, P. C., & Yunga, J. C. (2008). Universidad del Azuay Universidad del Azuay -. *Universidad Del Azuay*, 4, 1–145. <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6819/1/07260.pdf>

Villegas, Giménez, Vílchez, & Moreno. (2008). *Oxidación en la inducción de la embriogénesis somática a partir de flores masculinas inmaduras de Gran Enano ( Musa AAA ) Oxidation during the induction of somatic embryogenesis with immature male flowers of Grand Nain ( Musa AAA )*. 570–588. [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiMq5b2qouOAxWPRzABHbJGBVoQFnoECBAQAQ&url=http%3A%2F%2Fve.scielo.org%2Fscielo.php%3Fscript%3Dsci\\_arttext%26pid%3DS0378-78182008000300010&usg=AOvVaw10QHHYsVRQdNWog3yvir](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiMq5b2qouOAxWPRzABHbJGBVoQFnoECBAQAQ&url=http%3A%2F%2Fve.scielo.org%2Fscielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3DS0378-78182008000300010&usg=AOvVaw10QHHYsVRQdNWog3yvir)

FAO. (2022). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Obtenido de <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/27c42fe0-a995-464b-86de-a6eaeaedfea8/content/src/html/deforestation-land-degradation.html>

Natusfera . (2025). Obtenido de <https://spain.inaturalist.org/projects/recreo-verde-arboles-uecardenal-de-la-torre/journal/106169-arupos#summary>

POWO. (2025). *Plants of the World Online*. Obtenido de [http://powo.science.kew.org/taxon/300138-2?\\_gl=1\\*13hq8qf\\*\\_ga\\*NTQ0MjY3NTYzLjE3NDk0MzQwMTQ.\\*\\_ga\\_ZVV2HHW7P6\\*cZE3NDk1NzgzOTYkbzQkZzAkdDE3NDk1NzgzOTYkajYwJGwwJGgw](http://powo.science.kew.org/taxon/300138-2?_gl=1*13hq8qf*_ga*NTQ0MjY3NTYzLjE3NDk0MzQwMTQ.*_ga_ZVV2HHW7P6*cZE3NDk1NzgzOTYkbzQkZzAkdDE3NDk1NzgzOTYkajYwJGwwJGgw)

Primicias. (11 de 07 de 2019). *Quito tendrá un bosque de arupos en el sector de El Trébol.*

Obtenido de <https://www.primicias.ec/noticias/sociedad/quito-bosque-arupos-arbolestrebol/>

Real Jardín Botánico de Kew. (26 de 01 de 2025). Obtenido de <http://specimens.kew.org/herbarium/K006155407>

UICN. (2023). *IUCN*. Obtenido de <https://www.iucnredlist.org/species/36532/212027379>

WFO. (2025). *worldfloraonline*. Obtenido de Taxón:

<https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000830209>