



## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Cultivo In-Vitro y Crioconservación de polineos del género *Epidendrum* en la Provincia de Imbabura.

In-Vitro culture and Cryconservation of *Epidendrum* gender polineos in the Province of Imbabura.

María F. López<sup>1\*</sup>, Thalia Sánchez<sup>1</sup>, Diego Jauregui<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. Herbario ECAA.

Av. Aurelio Espinosa Pólit, Ibarra – Ecuador.

Correspondencia: mflopez2@pucesi.edu.ec

### Resumen

El género *Epidendrum* de la Familia Orchidaceae es un grupo de plantas nativas del Ecuador. Es un género de plantas que puede aguantar una gran diferencia de temperaturas de calor a temperaturas frías. Se caracteriza por unas grandes inflorescencias que llevan docenas de flores diminutas pero muy elaboradas. Actualmente se encuentra en estado vulnerable debido a los desastres naturales (incendios forestales) y la acción antrópica del hombre (tala indiscriminada) en el país; por esta razón se consideró realizar una propagación in vitro para la conservación de esta especie. Por lo cual se realizó diferentes parcelas que determinaron la incidencia de este género en la comunidad de Morocho, Provincia de Imbabura. Además, se desarrolló un protocolo de cultivo in vitro a partir de hojas jóvenes, yemas y semillas; estos fueron sembrados en un medio de cultivo preparado de Murashige y Skoog a su totalidad de concentración (4,3g. l-1), sacarosa (30g.l-1), agar (10g.l-1), suplementados con antioxidantes ácido cítrico y ácido ascórbico (100mg.l-1), además con hormonas reguladoras de crecimiento ANA y BAP (10 mg. l-1). Transcurrido los 120 días de la siembra in vitro se evaluó en cada uno de los tratamientos (hojas jóvenes, yemas y semillas) la formación de brotes, la longitud y sobrevivencia del explante. Siendo el mejor tratamiento el de las semillas, debido a que obtuvo los mejores resultados en comparación con los demás explantes (yemas y hojas jóvenes). Finalmente se conservó los polineos en nitrógeno líquido para su posterior evaluación de viabilidad.

**Palabras claves:** Cultivo in vitro, *Epidendrum*, Murashige y Skoog, ANA, BAP.

### Abstract

The genus *Epidendrum* of the Family Orchidaceae is a group of plants native to Ecuador. It is a genus of plants that can withstand a great difference from heat temperatures to cold temperatures. It is characterized by large inflorescences that carry dozens of tiny but very elaborate flowers. He is currently in a vulnerable state due to natural disasters (forest fires) and the anthropic action of man (indiscriminate logging) in the country; for this reason, it was considered to carry out an in vitro propagation for the conservation of this species. Therefore, different plots were carried out that determined the incidence of this genus in the community of Moro-



chos, Province of Imbabura. In addition, an in vitro culture protocol was developed from young leaves, buds and seeds; these were seeded in a culture medium prepared of Murashige and Skoog in full concentration (4.3g.l-1), sucrose (30g.l-1), agar (10g.l-1), supplemented with acid antioxidants citric and ascorbic acid (100mg.l-1), in addition to growth regulating hormones ANA and BAP (10 mg. l-1). After 120 days of sowing in vitro, the formation of buds, the length and survival of the explant were evaluated in each of the treatments (young leaves, buds and seeds). The best treatment being that of the seeds, because it obtained the best results compared to the other explants (yolks and young leaves). Finally, the polynes were conserved in liquid nitrogen for later evaluation of viability.

**Keywords:** In vitro culture, Epidendrum, Murashige and Skoog, ANA, BAP

## **Introducción**

En la actualidad a nivel mundial el método de cultivo in vitro es una alternativa muy viable para multiplicar masivamente diferentes especies de plantas en el laboratorio en poco tiempo en relación con cultivos en campo; con el fin de obtener plantas libres de bacterias, hongos e incluso pueden estar libres de virus (González & Mollogón, 2013).

Estos ensayos consisten en aislar un explante del espécimen escogido que se va a cultivar en condiciones de asepsia y ambientales controladas; dependiendo como se manejen estos factores en este cultivo, determinará el éxito de este tipo de ensayos (Aragón, 2015).

El cultivo in vitro es ideal principalmente para especies de difícil propagación, que están en estado vulnerable o de peligro de extinción, como es el caso del género Epidendrum.

En la provincia de Imbabura se ha perdido una cantidad de orquídeas a causa de incendios forestales ocurridos en el 2016 (Jiménez, 2009). Según la SGR (Secretaría de Gestión de Riesgos) 1430,46 hectáreas de ecosistema boscoso han sido quemadas. Por esta razón se ha considerado realizar una serie de ensayos de conservación in vitro en

la comunidad Morochos, Cantón Cotacachi, por ser una de las poblaciones indígenas donde se realiza turismo comunitario, con el apoyo de la operadora turística Runa Tupary. La información detallada acerca de este sector, fue tomada como referencia de la publicación realizada por (Andrade & Terán, 2013). En este marco, se estudió la conservación in vitro a partir de explantes del género Epidendrum; considerando al cultivo in vitro como parte esencial de una estrategia de conservación e intercambio de recursos genéticos, por la cual se podrá ofrecer el almacenamiento de un gran número de muestras creadas a partir de hojas jóvenes, yemas y semillas de esta planta; con el fin de contribuir a la disminución de la pérdida de biodiversidad, logrando realizar un protocolo efectivo para cultivar el género Epidendrum.

## **Materiales y Métodos**

### **Ubicación geográfica y de contexto**

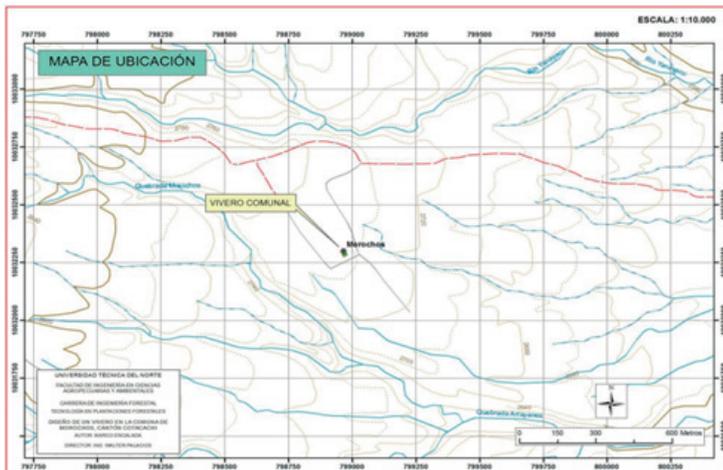
La Comunidad de Morochos se encuentra ubicada a siete kilómetros al occidente del cantón Cotacachi, provincia de Imbabura. En la Figura 1, se representa el sitio de muestreo, de las tres parcelas implementadas dentro de la zona de estudio que se encuentra ubicado entre los 2600 y 3200 msnm. La comunidad se extiende desde la quebrada de Aliacu al norte, y desde la quebrada de

Punguaico hasta el sector de Pinshupungo. Su relieve es bastante irregular, se caracteriza por el predominio de tierras bajas, las mismas que han permitido levantamientos orográficos, cuyas alturas no pasan los 100 metros, hacia la parte sur las montañas decrecen formando un cerro y varias montañas separadas.

}  
El clima de la comunidad es muy variable por estar en las faldas del volcán Cotacachi, acorde a las estaciones predominantes de invierno y verano. En invierno se presentan frecuentes precipitaciones, con temperaturas que oscilan entre los 12°C y 15°C. Mientras que, en verano, el clima es templado, acom-

pañado de fuertes vientos y las temperaturas oscilan entre los 16°C y 19°C. En temporada de verano se presenta una larga sequía, perdiéndose gran parte de sus sembríos, ya que en la comunidad no disponen de un sistema de riego.

La comunidad de Morochos cuenta actualmente con 1006 habitantes incluyendo pobladores de los sectores aledaños como Pinshupungo Chichupamba, de acuerdo al último censo realizado en el año 2010. Se han establecido en este sector 160 familias, de las cuales el mayor genero presente es el femenino. En toda la Comunidad, existen 356 hombres (47%) y 650 mujeres, (53%).



**Figura 1.** Mapa ubicación comunidad de Morochos.  
**Fuente:** López, MF 2018.

Esta investigación se realizó en dos fases una de campo y otra de laboratorio. La fase de campo se realizó en la provincia de Imbabura, Cantón Cotacachi, Comunidad de Morochos, mientras que la fase de laboratorio se realizó en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra (PUCE-SI).

### Fase de campo Parcelas

Para implementar las parcelas se basó en la metodología propuesta por Foster y Hernández, (2014) mediante la cual según los datos

obtenidos en campo a través de la evaluación ecológica rápida, se procedió a realizar 3 parcelas permanentes de 50x50 m, cada 200 metros a partir de los 3000 msnm, esta medida y la distancia que se tomó para cada uno de ellas, fue debido a que según estudios realizados por estos autores es una muestra representativa para dar a conocer la biodiversidad de especies, que en este caso fue conocer si el género *Epidendrum* es abundante o no y en qué cantidad se encuentra en esta zona.

### Identificación taxonómica del Género

## **Epidendrum**

Para la identificación taxonómica del género *Epidendrum* se basó en información bibliográfica de diferentes autores como Bogh, (2011), revisión de catálogos de plantas vasculares de Iñiguez, (2010), además se analizó la clave dicotómica de las mismas, una vez identificada taxonómicamente el género se procedió a codificar y almacenar en el Herbario de la PUCE-SI.

Según Cuadra, (2010) para realizar un cultivo in vitro del género *Epidendrum* a partir de cualquier explante de esta especie, recomienda recolectar de 3 a 5 individuos, por lo cual para esta investigación se recolectó 5 individuos del género *Epidendrum*, cada uno de los individuos fueron registrados e identificados para su transporte. Las muestras colectadas, fueron colocadas dentro de un cooler plástico en fundas de papel selladas, las cuales se transportaron al laboratorio de biotecnología de la PUCE-SI.

## **Muestra de Herbario**

Para obtener la muestra de herbario se basó en los protocolos de manejo de muestras botánicas del Herbario de la PUCE-SI, en la cual primero se prensó la muestra, luego se procedió a colocar la muestra en una deshidratadora a una temperatura promedio de 50 a 70 °C por 2 horas, luego de obtener ya la muestra deshidratada se procedió al montaje y etiquetado de la misma.

## **Fase de laboratorio**

**Desinfección de las hojas jóvenes y semillas**  
Se comenzó realizando un lavado superficial con jabón yodado y agua potable; luego en condiciones asépticas se preparó una solución con fungicida Benlate (1g. l-1), donde fueron introducidos los explantes con una agitación continua por 30 minutos; después fueron puestos en una solución de etanol al 70% por 25 segundos; seguido a esto se los colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 1% con cuatro gotas de

Tween por 15 minutos; y por último se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril. Posteriormente en el caso de las hojas jóvenes fueron cortadas de 3 a 5 mm y las semillas fueron sacadas de la cápsula donde se encontraban, dejándolos listos para la siembra in vitro (Sagastume, 2013).

## **Desinfección de las yemas**

En el caso de las yemas primero se inició con un lavado superficial con jabón yodado y agua potable; después de esto se las colocó por 5 segundos en cada una de las soluciones preparadas anteriormente, luego se hizo tres enjuagues con agua destilada estéril y se procedió con un bisturí a cortar las paredes laterales que se encuentran alrededor de la yema, dejándolas listas para la siembra (Labus y Abel, 2011).

## **Preparación del medio de cultivo**

Para la preparación del medio cultivo se utilizó agar (7g. l-1), sacarosa (30g.l-1), Murashige y Skoog (4,3g. l-1), hormonas reguladoras de crecimiento ANA y BAP (10mg.l-1); suplementados con antioxidantes ácido cítrico y ácido ascórbico (100mg.l-1); esto se colocó en un frasco ámbar de 250 ml con agua destilada. Posteriormente se esterilizó este medio y todos los materiales de laboratorio que se utilizó para la siembra in vitro, y se colocó en el auto clave a una temperatura de 121° C con 1,5 atmósferas de presión, por 1h15min para su total esterilización (Labus y Abel, 2011).

## **Cultivo in vitro**

Se procedió a colocar los materiales previamente esterilizados en la cámara de flujo laminar por 10 minutos sometidos a luz UV para su esterilización; luego de esto en condiciones asépticas, se esparció el medio de cultivo sobre las cajas Petri para la siembra de los explantes. Se esperó 15 minutos para la solidificación del medio y se procedió a la siembra in vitro. (Sagastume, 2013).  
Para la siembra de las hojas se colocó 5

segmentos de 3 a 5 mm en el medio de cultivo de las cajas Petri, se realizó un total de 3 repeticiones, luego con las yemas preparadas se procedió a sembrar, siguiendo el mismo protocolo para la siembra de hojas, de igual manera se realizaron 3 repeticiones y finalmente se realizó la siembra de las semillas, se colocó 5 semillas y fueron sembradas en cada una de las cajas Petri por 3 repeticiones;(Calderón et al., 2011).

Finalmente, todos estos medios de cultivo fueron colocados dentro de una cámara germinadora a una temperatura de 25°C, fotoperiodo de 16 horas luz, 8 de oscuridad y un porcentaje de humedad del 55% durante un periodo de 30 días. Transcurrido este tiempo se los llevó al cuarto de tejidos vegetales del laboratorio de biotecnología de la PUCE-SI, se los colocó en un stand con luces de encendido automatizado (16 horas luz-8horas oscuridad), este stands se lo cubrió en su totalidad con plástico con la finalidad de evitar la contaminación del

ambiente, seguidamente se colocó un termómetro de mercurio que midió la temperatura ambiente la cual se mantuvo en un rango de 25 a 27°C; además se colocó dos vasos de precipitación de 1000 ml con agua destilada para mantener un ambiente húmedo en un periodo de dos meses (Aragón, 2015).

### Diseño experimental

En esta investigación se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar con nueve unidades experimentales, tres tratamientos y tres repeticiones, con la aplicación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

La duración del ensayo fue de 3 meses tiempo necesario para evaluar las variables en estudio que fueron: longitud del explante, sobrevivencia y número de brotes en las hojas jóvenes, yemas y semillas del género *Epidendrum*.

Para la aplicación de los tratamientos se distribuyó de la siguiente manera:

**Tabla 1:** Descripción de los tratamientos realizados en la investigación

Tratamiento	Descripción
Tratamiento 1	Yemas
Tratamiento 2	Semillas
Tratamiento 3	Hojas jóvenes

**Nota.** Datos obtenidos por: López, MF. 2018

**Fuente:** Unidad experimental

Cada uno de los tratamientos (yemas, semillas y hojas jóvenes) constó de tres repeticiones dando un total de 9 unidades experimentales, por la cual se utilizó 9 cajas Petri, en todas las cajas Petri se colocó 5ml de medio de cultivo, con la diferencia que en las 3 primeras cajas se puso 5 pequeños trozos de yemas, luego en las tres cajas siguientes, se colocó 5 semillas en cada una de estas y finalmente en las 3 últimas cajas se puso 5 pequeños trozos de hojas jóvenes en cada una.

### Variabes dependientes a evaluar

Número de brotes

Esta variable fue medida transcurrido 90 días a partir de la siembra in vitro, en donde se contó el número de brotes formados en cada una de las unidades experimentales de yemas, hojas jóvenes y semillas.

### Longitud del explante

Esta variable se decidió medir a los 3 meses de su siembra in vitro, ya que el explante se encuentra en la etapa de crecimiento. Esta variable se midió en cada unidad experimental de yemas, hojas jóvenes y semillas, se utilizó un calibrador, el cual se colocó a lo largo del brote formado, es decir desde

donde inició el brote hasta su final; esto no se lo realizó en las hojas debido a que no se obtuvo ningún resultado.

### Sobrevivencia

Esta variable de igual manera se midió a los 90 días des pues de la siembra in vitro, para medir la sobrevivencia de los explantes de cada una de la unidades experimentales y se observó cuantas se encontraban vivas, se realizó un conteo de forma manual en cada unidad experimental de yemas, hojas jóvenes

y semillas.

### Resultados

La Figura 2 se muestra un gráfico explicativo de la incidencia del género Epidendrum en cada una de las parcelas realizadas; mediante el cual mayor incidencia de este género tiene la parcela 3; esto quiere decir que el género se desarrolla mejor a una altura de 2600 msnm con una temperatura promedio de 18°C.

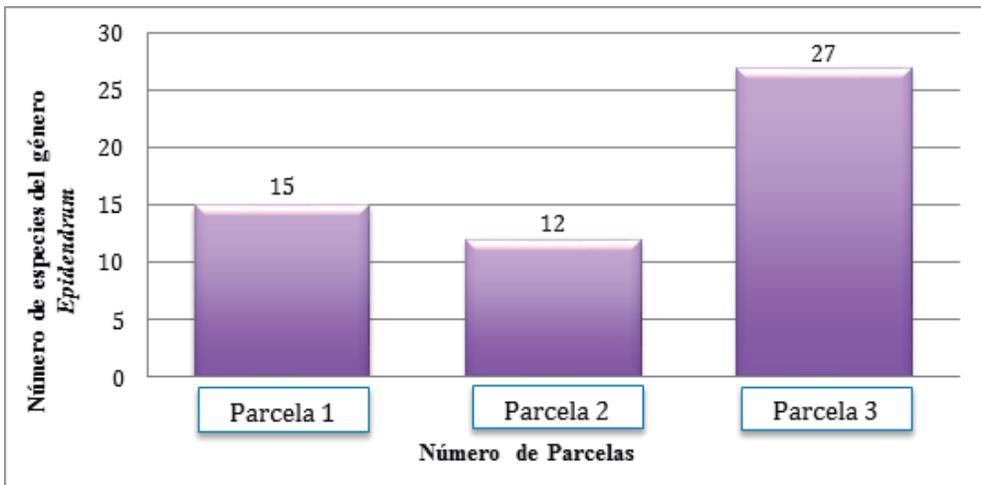


Figura 2. Incidencia del género Epidendrum.

Fuente: López, MF. 2018

#### a) Análisis del número de brotes

Debido a que no existió normalidad se procedió a realizar la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis; mediante la cual se definió

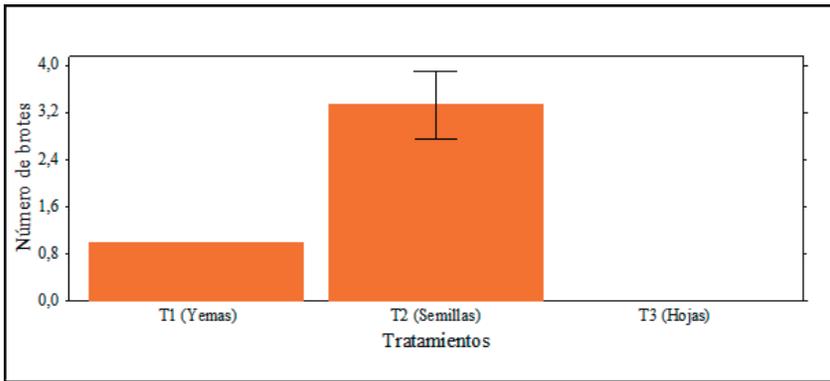
cual fue el mejor tratamiento empleado para la formación de brotes. El valor de p fue de 0,0149, el cual indica que existieron significancias entre los tratamientos, como se puede observar en la Tabla 2.

Tabla 2: Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de brotes

Tratamiento	Rango promedio	Grupos homogéneos
Semillas (T2)	3,33	a
Yemas (T1)	1	ab
Hojas (T3)	0	b

Nota. Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por López, MF. 2018

Fuente: Autora



**Figura 3.** Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: López, MF. 2018  
**Fuente:** Autora

Se puede observar (Figura 3) que existen tres grupos representativos a, ab, y b; donde el grupo a de las semillas (T2) posee el mayor rango promedio (3,33), entre los tratamientos; seguido el grupo ab de las yemas (1) y finalmente el grupo b de hojas jóvenes (0); es decir que el mejor tratamiento transcurrido los 90 días de su siembra fue el de las semillas debido a que existió mayor formación de número de brotes en comparación con las otras variables en estudio.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Mroginski y Roca, (2010) acerca de cultivo in vitro del género *Epidendrum*, se afirma que los resultados alcanzados son reales, debido a que de

igual manera a los 3 meses de la siembra in vitro evaluaron sus tratamientos, indicando que el mejor explante fue el de las semillas; en lo que respecta al número de brotes formados, superando al segundo tratamiento que fueron yemas.

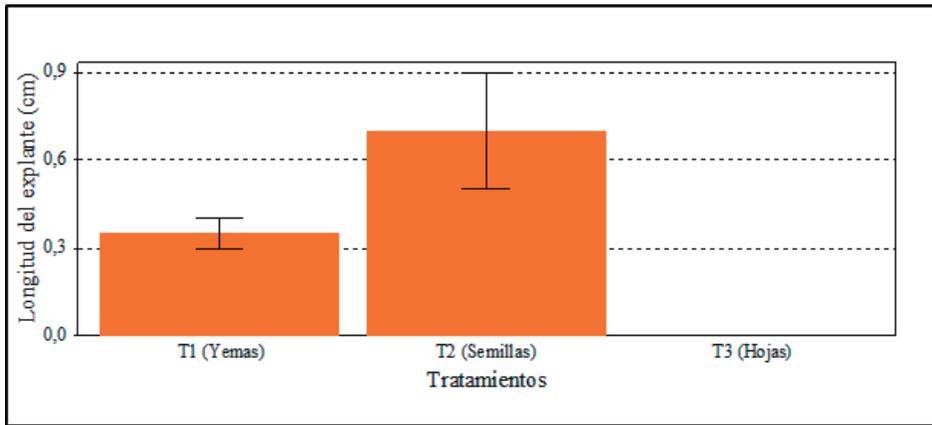
#### b) Análisis de la longitud del explante

Se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis; mediante la cual se definió el mejor tratamiento utilizado con respecto a la Longitud del explante. El valor de p fue de 0,0212, el cual mostró que existieron significancias entre los tratamientos como lo indica la Tabla 3.

**Tabla 3:** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable longitud del explante

Tratamiento	Rango promedio	Grupos homogéneos
Semillas (T2)	0,7	a
Yemas (T1)	0,35	ab
Hojas (T3)	0	b

**Nota.** Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por López, MF. 2018  
**Fuente:** Autora



**Figura 4.** Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: López, MF.

**Fuente:** Autora

Se puede observar en la Figura 4 que existen tres grupos representativos a, ab y b; donde el grupo a fue el de las semillas (T2), el cual tuvo el mayor rango promedio (0,7) en comparación de las yemas (0,35) y hojas jóvenes (0); indicando mediante esto que el mejor tratamiento a los 90 días de su siembra fue de las semillas debido a que tuvieron un mayor crecimiento longitud de los explantes en comparación a los otros tratamientos utilizados.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Cuadra (2010), acerca de cultivo in vitro del género *Epidendrum* se afirma que los resultados alcanzados son reales debido a que en esta investigación de igual manera a mes y medio de su siembra se dio a conocer que el mejor explante fue de las semillas; en donde se midió el crecimiento

(Longitud del explante) de cada uno de los tratamientos empleados; para lo cual se realizó un análisis de varianza, este dio a conocer que existen una diferencia significativa entre los tratamientos  $p= 1,9\%$ , debido a que existió interacciones entre T1 (meristemas apicales) y T2 (semillas); además se realizó una prueba de Tukey por cada interacción donde se encontró que presentan diferencias significativas entre tratamientos.

#### c) Análisis de la sobrevivencia

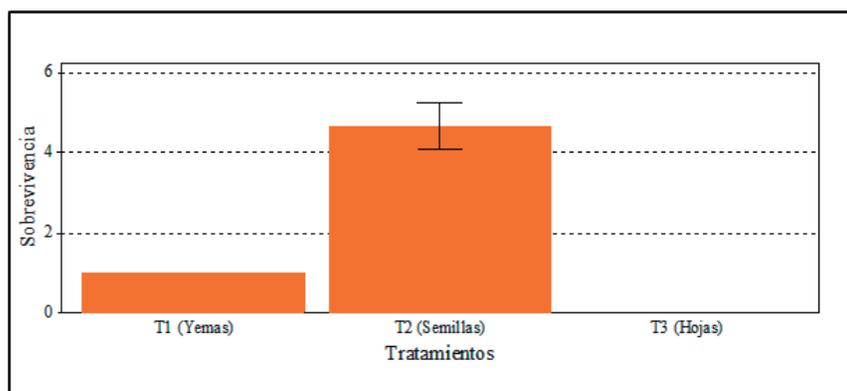
Se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, se demostró cual fue el mejor tratamiento empleado para la variable sobrevivencia, indicando que el valor de  $p$  es de 0,0149, el cual mostró que existieron significancias entre los tratamientos como lo indica la Tabla 4.

**Tabla 4:** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable sobrevivencia

Tratamiento	Rango promedio	Grupos homogéneos
Semillas (T2)	4,67	a
Yemas (T1)	1	ab
Hojas (T3)	0	b

**Nota.** Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por López, MF. 2018

**Fuente:** Autora



**Figura 5:** Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: López, MF. 2018

**Fuente:** Autora

Se puede observar en la Figura 5 que existen tres grupos representativos a, ab y b; donde el grupo a de las semillas (T2) posee el mayor rango promedio (4,67), entre los tratamientos; seguido el de las yemas (1) y finalmente el grupo b de hojas jóvenes (0); por medio de esto se determinó a los 90 días de su siembra que el mejor tratamiento fue de las semillas (T2), ya que alcanzó un 100% de sobrevivencia, en cambio las yemas tuvieron el 80% de sobrevivencia y en el caso de las hojas el 0% de sobrevivencia.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Sagastume (2013) de cultivo in vitro del género *Epidendrum*, se corrobora que los resultados recopilados son reales, ya que en esta investigación de igual manera a los 90 días de la siembra in vitro el mejor tratamiento fue el de las semillas, ya que estas obtuvieron el 97% de sobrevivencia, por lo contrario, las yemas alcanzaron el 84% de sobrevivencia y las hojas jóvenes solo se tuvo el 5,5 % de sobrevivencia.

## Discusión

A nivel mundial existen pocos trabajos de propagación in vitro del género *Epidendrum* por lo cual Sandoval (2011) propuso germinar in vitro tres especies de este género a

partir de semillas durante 13 meses, en los cuales se produjeron múltiples brotes. Estos medios de cultivo se realizaron con diferentes concentraciones de MS (Murashige y Skoog) completo y a la mitad de su concentración; suplementados con diferentes combinaciones de BAP (Benzil amino purina) y ANA (Ácido naftalénico acético) que son hormonas reguladoras de crecimiento; agregando de 0,5 g.l-1 o 1 g.l-1. En cambio, en un ensayo realizado de cultivo in vitro para propagar especies de *Tillandsia cyanea* Linden a partir de semillas. Cueva (2011) menciona que esta germinación dio resultados a los dos meses de su siembra; aquí utilizaron sales de MS, en diferentes concentraciones, además de hormonas reguladoras de crecimiento (BAP y ANA), suplementados con sacarosa al 3% y agar gel (7g. l-1); por lo cual en el medio de cultivo con sales de MS completas se obtuvo 88,9 % de germinación del hipocótilo y en el medio de MS con la mitad de concentración fue el 100%. Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Cuadra (2010), acerca de cultivo in vitro de la especie *Tillandsia pruinosa*, se afirma que los resultados alcanzados son reales debido a que en esta investigación de igual manera a mes y medio de su siembra se dio a conocer que el mejor explante fue de las semillas; en donde se midió el crecimiento (longitud del explante).

te) de cada uno de los tratamientos empleados; para lo cual se realizó un análisis de varianza, este dio a conocer que existen una diferencia significativa entre los tratamientos  $p=1,9\%$ , debido a que existió interacciones entre T1 (meristemas apicales) y T2 (semillas); además se realizó una prueba de Tukey por cada interacción donde se encontró que presentan diferencias significativas entre tratamientos.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Sagastume (2013) de cultivo in vitro de la especie *Tillandsia streptophylla*, se corrobora que los resultados recopilados son reales, ya que en esta investigación de igual manera a los 90 días de la siembra in vitro el mejor tratamiento fue el de las semillas, ya que estas obtuvieron el 97% de sobrevivencia, por lo contrario las yemas alcanzaron el 84% de sobrevivencia y el las hojas jóvenes solo se tuvo el 5,5 % de sobrevivencia.

## **Conclusiones**

A través de la evaluación ecológica rápida realizada en esta investigación se dio a concluir que el género *Epidendrum*, dentro de la Comunidad de Morochos no es muy abundante, debido a que actualmente según la UICN se encuentra en estado vulnerable. Según el inventario realizado en cada una de las parcelas se dio a conocer, que mayor incidencia del género *Epidendrum* se encuentra en la parcela 3 a comparación de los otros, es decir que esta especie se desarrolla mejor a una altura de 2600 msnm con una temperatura promedio de 18°C.

A los 120 días de la siembra in vitro se mostró que el mejor tratamiento en la medición de la variable número de brotes fue el de las semillas, debido a que existió mayor formación de estos, porque hubo mayor diferenciación celular a comparación de los otros tratamientos. La medición de la varia-

ble longitud del explante en cada uno de los tratamientos empleados (semillas, yemas, hojas jóvenes), manifestó a los 90 días que el tratamiento (T2) de las semillas obtuvo los mejores resultados en comparación a los otros tratamientos; esto se dio ya que este explante alcanzó la mayor diferenciación celular.

Al hablar de la sobrevivencia de los brotes el mejor explante fue el de las semillas, debido a que transcurrido los 120 días de la siembra in vitro este tratamiento tuvo el 100% de explantes vivos es decir en su totalidad, en cambio las yemas tuvieron el 80% y las hojas jóvenes el 0% de sobrevivencia, esto ocurrió ya que las semillas fueron más susceptibles para adaptarse al medio de cultivo y a las condiciones ambientales con las que se mantuvo a lo largo de los 90 días. En el caso de las hojas jóvenes se determinó que no tuvieron ninguna respuesta favorable en comparación a los otros tratamientos, ya que no existió formación de brotes, crecimiento de longitud, además ninguno de los explantes sembrados sobrevivieron a los 90 días; debido a que no existió diferenciación celular ya que el medio de cultivo no fue el adecuado.

## **Literatura Citada**

- Aragón, C. (2015). Propagación in vitro de orquideas. en sistemas de inmersión temporal. *Biotecnología Vegetal*, pag. 30-37.
- Artigas, R., y Díaz, F. (2013). Muestreo en transecto de formaciones vegetales de fanerófitos y epífitas (I): fundamentos metodológicos. *Estudios Geográficos*, 67-88.
- Bogh, A. (2011). Composición y distribución de la flora epífita vascular en el Ecuador. *Selbyana*, pag. 20-24.
- Calderón, A., Restrepo, A., y Urrea, A. (2011). Morfogénesis in vitro a partir de

- yemas apicales y base de hojas de la especie de Bromelias *Aechmea veitchii* y *Racinaea crispa*. *Interciencia*, pag.17-33.
- Cerón, C. (2014). Manual de Botánica Sistemática, Etnobotánica y Métodos de Estudio en el Ecuador. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Cuadra, J. (2010). Evaluación de diferentes medios de cultivo para el establecimiento in vitro de *Tillandsia xerographica* Rohweder. Guatemala: Universidad Rafael Landívar.
- Foster, B., y Hernández, E. (2014). Un método de transectos variables para la evaluación rápida de comunidades de plantas en los trópicos. Chicago: Field Museum of Natural History.
- GAD Antonio Ante. (2018). Shapes de la parroquia de San Roque (Mapa base, Mapa de tipos y uso del suelo, Mapa de Vegetación). Atuntaqui.
- García, A. (2014). Generalidades del género *Tillandsia*. CEPAL, pag. 90-105.
- González, M., y Mollogón, S. (2013). Efecto del medio de cultivo in vitro y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento de bromelias. *SciELO*, 15-20.
- Iñiguez, P. (2010). Directrices para la evaluación ecológica rápida de la biodiversidad de las zonas costeras, marinas y de aguas continentales. Suiza: Secretaria de la Convención Ramsar.
- Jiménez, S. (2009). Análisis de Sistema de Gestión del Riesgo de Desastres. Quito: FAO.
- Labus, S., & Abel, W. (2011). Regeneración de Especies del Género *Epidendrum* a través de Propagación In Vitro. México: Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal.
- León, S., Valencia, R., y Pitman, N. (2011). Libro rojo de especies endémicas del Ecuador. Quito: Imprenta Mariscal.
- Mendoza, H. (2010). Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. En *Plantas* (págs. 79-94). Bogotá, Colombia: Instituto Alexander von Humboldt.
- Mroginski, L., y Roca, C. (2010). Cultivo de Tejidos In Vitro de *Epidendrum*, Fundamentos y Aplicaciones. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT.
- Ramírez, J. (2014). Caracterización General de la Parroquia de San Roque. Atuntaqui: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Antonio Ante.
- SAGARPA. (2016). La importancia de los herbarios y las colecciones de trabajo para especies ornamentales. México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas.
- Sagastume, H. (2013). Propagación in vitro de tres especies del género *Epidendrum* en vías de extinción y de potencial uso sustentable. *Revista Tikalia*, pag.17-22.
- Salgado, A. (2016). Informe de la situación actual de incendios forestales ocurridos en el Ecuador hasta el año 2016. Samborondón, Ecuador: Sistema de Gestión de Riesgos.
- Tierrafría, H., y Cruz, E. (2012). Establecimiento de un cultivo in vitro de *Bromelia hemisphaerica*. México: Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional.