

INSTITUTO SUPERIOR TECNOLÓGICO SUDAMERICANO



INSTITUTO TECNOLÓGICO
SUDAMERICANO
Hacemos gente de talento!



DESARROLLO AMBIENTAL
TECNOLOGÍA SUPERIOR

TECNOLOGÍA SUPERIOR EN DESARROLLO AMBIENTAL

“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”

INFORME DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE TECNÓLOGO EN LA TECNOLOGÍA SUPERIOR EN DESARROLLO
AMBIENTAL.

AUTOR:

Benavides Cuenca Edith Angélica

Lozada Celi Oscar Anthony

DIRECTOR:

Ing. Cristian Fabián Prieto Merino.

Loja, Noviembre de 2023

Certificación del Director del Proyecto de Investigación de Fin de Carrera

Ing.

Cristhian Fabián Prieto Merino

DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICA:

Que ha supervisado el presente proyecto de investigación titulado **“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”** el mismo que cumple con lo establecido por el Instituto Superior Tecnológico Sudamericano; por consiguiente, autorizo su presentación ante el tribunal respectivo.

Loja, 10 de noviembre de 2023



firmado electrónicamente por:
**CRISTHIAN FABIAN
PRIETO MERINO**

.....

Firma

Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino

Autoría

Yo EDITH ANGELICA BENAVIDES CUENCA con C.I. N° 1105819237 declaro ser el autor del presente trabajo de tesis titulado **“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”**, es original e inédito, dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el proyecto de investigación.

Loja, 10 de noviembre del 2023

.....

Edith Angelica Benavides Cuenca

C.I 1105819237

Autoría

Yo OSCAR ANTHONY LOZADA CELI con C.I. N° 1150038010 declaro ser el autor del presente trabajo de tesis titulado **“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”**, es original e inédito, dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el proyecto de investigación.

Loja, 10 de noviembre del 2023

.....

Oscar Anthony Lozada Celi

C.I 1150035010

Dedicatoria

El siguiente proyecto se lo dedico a mis padre y hermanas, por ser un pilar fundamental que me motivó, ayudó, y guio en mis estudios, ya que gracias a su apoyo he podido culminar todas las facetas que la carrera me impuso, dedico este trabajo a mi hija y mi esposo por ser mi inspiración y motivo para seguir adelante, doy todo este esfuerzo a Dios y agradezco por darme la sabiduría de escoger una carrera que me determina a seguir especializándome.

Edith Angelica Benavides Cuenca

Este trabajo de investigación lo quiero ofrecer de manera especial a mi esposa, mi hija, y mis padres ya que han sido la fuente de inspiración y la razón de superarme en mis estudios; de manera particular quiero dedicarlo también a mis maestros, hermanos y amigos quienes han sabido brindarme el apoyo moral e incondicional para alcanzar una de las metas más importantes de mi vida profesional.

Oscar Anthony Lozada Celi

Agradecimientos

Agradezco al Instituto Tecnológico Superior Sudamericano, por permitirme escoger la carrera que me inspira a seguir adelante, agradezco a todos los docentes que ciclo a ciclo me guiaron y enseñaron temas complementarios e importantes para seguir con mis estudios, de manera excepcional agradezco a la Ing. Fabiola Martínez por su paciencia y dedicación con cada uno de nuestros compañeros, también quiero agradecer a las amistades que forme en el transcurso de estos años ya que gracias a sus consejos y platicas amenas que tuvimos logramos seguir hasta el final de nuestra carrera.

Edith Angelica Benavides Cuenca, Oscar Anthony Lozada Celi

Acta de cesión de derechos

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE FIN DE CARRERA

Conste por el presente documento la Cesión de los Derechos de proyecto de investigación de fin de carrera, de conformidad con las siguientes cláusulas:

PRIMERA. - Por sus propios derechos; el Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino, en calidad de Director del proyecto de investigación de fin de carrera; y, Edith Angelica Benavides Cuenca, en calidad de autor del proyecto de investigación de fin de carrera; mayores de edad emiten la presente acta de cesión de derechos

SEGUNDA.- Edith Angelica Benavides Cuenca y Oscar Anthony Lozada Celi, realizaron la Investigación titulada “EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”, para optar por el título de Tecnólogo en DESARROLLO AMBIENTAL, en el Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de Loja, bajo la dirección de la Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino.

TERCERA.- Es política del Instituto que los proyectos de investigación de fin de carrera se apliquen y materialicen en beneficio de la comunidad.

CUARTA. - Los comparecientes Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino, en calidad de Director del proyecto de investigación de fin de carrera y Edith Angelica Benavides Cuenca como autor, por medio del presente instrumento, tienen a bien ceder en forma gratuita sus derechos de proyecto de investigación de fin de carrera titulado “EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”, a favor del Instituto Superior

Tecnológico Sudamericano de Loja; y, conceden autorización para que el Instituto pueda utilizar esta investigación en su beneficio y/o de la comunidad, sin reserva alguna.

QUINTA.- Aceptación.- Las partes declaran que aceptan expresamente todo lo estipulado en la presente cesión de derechos.

Para constancia suscriben la presente cesión de derechos, en la ciudad de Loja, en el mes de octubre del 2023.

F. _____

DIRECTOR

Ing. Cristian Fabián Prieto Merino

C.I 110300088-9

F. _____

AUTOR

Edith Angelica Benavides Cuenca

C.I 110581923-7

F. _____

AUTOR

Oscar Anthony Lozada Celi

C.I 115003501-0



Declaración juramentada

Loja, 10 de noviembre del 2023

Nombres: Edith Angelica

Apellidos: Benavides Cuenca

Cédula de Identidad: 1105819237

Carrera: DESARROLLO AMBIENTAL

Semestre de ejecución del proceso de titulación: abril-septiembre 2023

Tema de proyecto de investigación de fin de carrera con fines de titulación:
“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA*
(BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE
CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”,

En calidad de estudiante del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja;

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor del trabajo intelectual y de investigación del proyecto de fin de carrera.
2. El trabajo de investigación de fin de carrera no ha sido plagiado ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. El trabajo de investigación de fin de carrera presentado no atenta contra derechos de terceros.
4. El trabajo de investigación de fin de carrera no ha sido publicado ni presentado anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados. Las imágenes, tablas, gráficas, fotografías y demás son de mi autoría; y en el caso contrario aparecen con las correspondientes citas o fuentes.

Por lo expuesto; mediante la presente asumo frente al INSTITUTO cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del trabajo de investigación de fin de carrera.

En consecuencia, me hago responsable frente al INSTITUTO y frente a terceros, de cualquier daño que pudiera ocasionar al INSTITUTO o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causa en el trabajo de investigación de fin de carrera presentado, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello.

Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para EL INSTITUTO en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del trabajo de investigación de fin de carrera.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente dispuesta por la LOES y sus respectivos reglamentos y del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja.

Firma.....

C.I 1105819237



Declaración juramentada

Loja, 10 de noviembre del 2023

Nombres: Oscar Anthony

Apellidos: Lozada Celi

Cédula de Identidad: 1105819237

Carrera: DESARROLLO AMBIENTAL

Semestre de ejecución del proceso de titulación: abril-septiembre 2023

Tema de proyecto de investigación de fin de carrera con fines de titulación:
“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”,

En calidad de estudiante del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja;

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor del trabajo intelectual y de investigación del proyecto de fin de carrera.
2. El trabajo de investigación de fin de carrera no ha sido plagiado ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. El trabajo de investigación de fin de carrera presentado no atenta contra derechos de terceros.
4. El trabajo de investigación de fin de carrera no ha sido publicado ni presentado anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados. Las imágenes, tablas, gráficas, fotografías y demás son de mi autoría; y en el caso contrario aparecen con las correspondientes citas o fuentes.

Por lo expuesto; mediante la presente asumo frente al INSTITUTO cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del trabajo de investigación de fin de carrera.

En consecuencia, me hago responsable frente al INSTITUTO y frente a terceros, de cualquier daño que pudiera ocasionar al INSTITUTO o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causa en el trabajo de investigación de fin de carrera presentado, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello.

Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para EL INSTITUTO en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del trabajo de investigación de fin de carrera.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente dispuesta por la LOES y sus respectivos reglamentos y del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja.

Firma.....

CI. 1150035010

Índice de contenidos

1. Autoría.....	III
2. Dedicatoria.....	V
3. Agradecimiento.....	VI
4. Acta de cesión de derechos.....	VII
5. Declaración juramentada.....	IX
6. Índice de contenidos.....	XIII
7. Índice de figuras.....	XVI
8. Índice de tablas.....	XVII
1. Resumen.....	- 1 -
2. Abstract.....	- 2 -
3. Problemática	- 3 -
4. Tema	- 5 -
5. Líneas y sublíneas	- 6 -
6. Justificación	- 6 -
6.1. Justificación de la línea y sublínea	- 6 -
6.2. Justificación académica.	- 6 -
6.3. Justificación tecnológica.....	- 6 -
6.4. Justificación ambiental.	- 7 -
6.5. Justificación socio-cultural	- 7 -
7. Objetivos	- 8 -
7.1. Objetivo general	- 8 -
7.2. Objetivos específicos.....	- 8 -
8. Marco teórico.....	- 9 -
8.1. Marco institucional	- 9 -
8.2. Reseña histórica.....	- 9 -

8.3.	Modelo educativo	- 11 -
9.	Marco conceptual.....	- 14 -
9.1.	¿Qué es una planta epifita?.....	- 14 -
9.2.	¿Qué es una planta vascular y no vascular?	- 14 -
9.3.	Deforestación.....	- 15 -
9.4.	¿Por qué hay deforestación?.....	- 15 -
9.5.	¿Qué es una biotecnología?	- 15 -
9.6.	¿Qué se considera una especie amenazada?	- 16 -
9.7.	¿Cómo ayudan las biotecnologías con especies amenazadas?	- 16 -
9.8.	Plantas ornamentales	- 17 -
9.9.	Propagación, multiplicación	- 17 -
9.10.	¿Qué significa in vitro?.....	- 17 -
9.11.	Tipos de Multiplicación vegetativa	- 18 -
9.11.1.	Asexualmente	- 18 -
9.11.2.	Artificiales si son producidas por el hombre.....	- 18 -
9.12.	¿Qué es la totipotencia?.....	- 19 -
10.	Métodos y Técnicas	- 20 -
10.1.	Método Fenomenológico	- 20 -
10.2.	Método hermenéutico	- 20 -
10.3.	Método Práctico Proyectual.....	- 20 -
10.4.	Técnicas de investigación.....	- 20 -
10.5.	Observación in situ	- 21 -
10.6.	Entrevista.....	- 21 -
11.	Fases metodológicas	- 21 -
11.1.	Fase I: Preliminar.....	- 21 -
11.2.	Fase II: Georreferenciación y línea base	- 23 -

11.3.	Fase III: Experimentación	- 25 -
11.4.	Fase IV: Socialización del manual de procedimientos	- 30 -
12.	Resultados	- 31 -
12.1.	Fase I: Preliminar.....	- 31 -
12.2.	Fase II: Georreferenciación y línea base	- 40 -
12.3.	Fase III: Experimentación	- 47 -
12.4.	Fase IV: Socialización del manual de procedimientos	59
13.	Conclusiones	75
14.	Recomendaciones	75
15.	Referencias.....	77
16.	Anexos	79
16.1.	Anexos I.....	79
16.2.	Anexo II: Autorización para la ejecución.....	81
16.3.	Anexo III: Certificado de Implementación.....	82
16.4.	Anexo IV: Presupuesto	83
16.5.	Presupuesto para el primer objetivo	83
16.6.	Presupuesto para el segundo objetivo.....	83
16.7.	Presupuesto para el tercer objetivo	84
16.8.	Anexo V: certificado de aprobación de abstract.....	85
16.9.	Anexo VI: Cronograma	86
16.10.	Anexo VI: evidencias fotográficas.....	88

Índice de figuras

Figura 1: elemento grafico que identifica a la institución.....	9
Figura 2: vinculación con la sociedad.....	12
Figura 3: estructura organizacional del ISTS.....	13
Figura 4: camino para llegar a la cascada.....	23
Figura 5: ubicación y división de la ciudad de Loja.....	40
Figura 6: camino del recorrido a pie desde el capulí a la cascada Namanda.....	41
Figura 7: uso de la cobertura vegetal del sector donde se recolectará la sp.....	43
Figura 8: Materia prima que se utilizó para producción del medio de cultivo (maduro)...	48
Figura 9: Materiales utilizados.....	48
Figura 10: Lavado de manos y desinfección objetos.....	49
Figura 11: Esterilización del ambiente.....	49
Figura 12: Desinfección de los embaces.....	50
Figura 13: Colocación de los embaces dentro de la cámara de asepsia.....	50
Figura 14: Sustancias en la licuadora.....	51
Figura 15: Banda medidora de Ph.....,	51
Figura 16: Envasando el medio de cultivo.....	52
Figura 17: Lavado de explante.....	52
Figura 18: Embaces listos.....	53
Figura 19: 7 días luego de la siembra.....	54
Figura 20: Recipientes con mohos.....	55
Figura 21: Hijuelos sembrados.....	55
Figura 22: Crecimiento de los hijuelos.....	56
Figura 23: Hijuelos.....	57
Figura 24: Explantes de las hojas.....	57
Figura 25: Yemas sembradas.....	57
Figura 26: Explicación por zoom a los estudiantes.....	72

Índice de tablas

Tabla 1: descripción de la socialización del manual.....	30
Tabla 2: especies reproducidas por medio de cultivo in vitro en UNL-UTPL.....	39
Tabla 3: clasificación de las plantas visualizadas.....	44
Tabla 4: mastofauna.....	45
Tabla 5: avifauna.....	45
Tabla 6: herpetofauna.....	45
Tabla 7: Descripción de la socialización del manual ya con fecha definida.....	59
Tabla 8: presupuesto primera fase.....	81
Tabla 9: presupuesto segunda fase.....	81
Tabla 10: presupuesto tercera y cuarta fase.....	82
Tabla 11: presupuesto final.....	82

1. Resumen

Las bromelias *Guzmania* sp son un tipo de plantas epifitas de gran importancia ecológica ya que estas permiten que muchos animales encuentren refugio dentro de sus hojas, se alimenten en su interior, y beban agua de las “piscinas” que en ellas se forman, la tala de los bosques a causa de la minería ilegal y la industria maderera sin duda, han sido, una de las mayores amenazas que estas plantas presentan en su habitat.

Por medio de la investigación bibliográfica y de fuentes cercanas se determinó que el desconocimiento por la especie como la tala indiscriminada pone en riesgo la supervivencia de diferentes cadenas alimenticias que se desarrollan a partir de una “simple” especie como la *Guzmania* sp es por eso que hoy en día existen varias formas de multiplicación y reproducción artificial es por eso que proponemos la “EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”

En consecuencia, se plantea evaluar e investigar la zona, reproducción y enraizamiento de *Guzmania* sp (bromeliácea) mediante técnicas de georreferenciación, entrevistas y procesos biotecnológicos en cultivo in vitro utilizando explantes e hijuelos de la planta estudiada, para proponer alternativas de multiplicación a través de un manual, del cual se presencié aceptación e interés por parte de los compañeros a quienes expusimos nuestro tema. El empleo de los métodos de investigación (fenomenológico, hermenéutico, práctico proyectual), y técnicas como (observación y la entrevista) llevaron a desarrollar una propuesta de acción, un manual explicativo donde se detalla paso a paso como realizar este proceso, el cual sin duda será un aporte importante al igual que todo este proyecto ya que serviría de punto de partida para quienes deseen empezar a reproducir especies por este método.

Se concluye con los resultados asertivos frente a la experimentación casera con una especie de bromelia *Guzmania*, en donde se refleja que tomando todas las medidas de asepsia y materiales necesarios si se puede reproducir mediante yemas axilares e hijuelos por cultivos in vitro, es por eso que se recomienda investigar sobre la especie en cuestión para saber cuáles son todas sus necesidades, y se puedan adaptar al medio aséptico que se preparó.

2. Abstract

Bromeliads *Guzmania* sp are a type of epiphyte plants of great ecological importance because they allow many animals to find refuge inside their leaves, feed inside them, and drink water from the "pools" that are formed in them, the logging of forests due to illegal mining and timber industry have undoubtedly been one of the biggest threats that these plants present in their habitat.

Through bibliographic research and nearby sources it was determined that the lack of knowledge of the species and indiscriminate logging threatens the survival of different food chains that develop from a "simple" species such as *Guzmania* sp, that is why today there are several ways of multiplication and artificial reproduction, that is why we propose the "EVALUATION OF IN VITRO REPRODUCTION OF THE SPECIES GUZMANIA (BROMELIÁCEA) THROUGH EXPLANTS, AS A STRATEGY FOR THE CONSERVATION OF EPIPHYTES IN THE CITY OF LOJA DURING THE YEAR 2023".

Consequently, it is proposed to evaluate and investigate the area, reproduction and rooting of *Guzmania* sp (bromeliacea) through georeferencing techniques, interviews and biotechnological processes in in vitro culture using explants and hyjuelos of the plant studied, to propose alternatives for multiplication through a manual, which was witnessed acceptance and interest from colleagues to whom we presented our topic. The use of research methods (phenomenological, hermeneutic, practical and projectual), and techniques such as (observation and interview) led to the development of a proposal for action, an explanatory manual detailing step by step how to carry out this process, which will undoubtedly be an important contribution as well as this entire project, since it will serve as a starting point for those who wish to start reproducing species by this method.

It is concluded with the assertive results in front of the homemade experimentation with a species of *Guzmania* bromeliad, where it is reflected that taking all the asepsis measures and necessary materials if it is possible to reproduce by means of axillary buds and offspring by in vitro cultures, that is why it is recommended to investigate on the species in question to know which are all their needs, and they can be adapted to the aseptic medium that was prepared.

3. Problemática

A nivel mundial la primera vez que las plantas fueron incluidas en la Lista Roja de la UICN fue durante 1997. Ese año, las cifras revelaron que cerca de 380 especies se habían extinguido en estado silvestre y casi 370 fueron consideradas como amenazadas. Sin embargo, sólo era una primera aproximación, ya que esta lista incluyó solamente plantas vasculares (helechos, coníferas y plantas que producen flores, pues en la Lista Roja 2007 de la UICN, se encuentra que, de las 12.043 plantas clasificadas, 8.447 están consideradas como especies amenazadas (Benites A, 2023). El estado de conservación de las bromelias existentes fue No Evaluado (NE) en más de un 85%, lo que indica que aún muchas especies deben ser estudiadas por un comité de expertos de la UICN (Chávez S, Chimbo N, 2018).

Las bromelias son reconocidas por distintas características que tienen, en algunos países como Argentina, los pobladores las utilizan como parte de la dieta de ganado lo que ha hecho que esta práctica sea invasiva para la especie (Jiménez N, 2015), y es que otra gran amenaza que esta presenta es el desconocimiento, pues muchos pobladores piensan que las bromelias epifitas son parasitas cuando no es así, la particularidad de estas es que no toman los nutrientes del árbol en el que crecen. Se alimentan de la humedad del aire a través de sus raíces y hojas (Joly A, 2022).

Cuando hablamos de especies vegetales a veces no nos percatamos de la gran importancia que tienen dentro de nuestra cadena alimenticia, y por eso el hombre, algunas veces, inconscientemente destruye su hábitat y con ello distintas especies que pueden estar en peligro de extinción. Cada año, las cifras dan cuenta de un deterioro y disminución progresiva en la cantidad de especies vegetales existentes. Una amenaza constante no sólo a la biodiversidad vegetal, sino también a los animales que dependen de ellas para sobrevivir (Benites A, 2023).

Uno de los problemas que agravan esta situación en Ecuador son las madereras ilegales ya que estas crean rutas por donde no está permitido el acceso, desencadenando así un laberinto donde arrastran todo a su paso para extraer madera de todo tipo, y con ello se llevan especies tanto vegetales como faunísticas, la deforestación y posterior conversión de un bosque tropical en un cultivo agrícola o pastizal, implican la muerte de casi todas las epífitas, ya que solo algunas especies pueden sobrevivir sobre árboles remanentes que se dejan para sombra y/o como fuente de alimento para el ganado (Paz A, 2023).

Sin duda este es otro gran problema por el que tienen que pasar las especies vegetales ya que al necesitar más pastizales por la demanda de carne incrementa la tala de bosques completos. Esto crea una vulnerabilidad inmensa al bosque ya que este queda expuesto a varias industrias que también explotan sus minerales tales como la minería ilegal y petrolera las cuales arrasan con hectáreas completas de los bosques sin importar si estos están dentro de un área protegida (Paz A, 2023).

No hay duda de que la minería ilegal sigue siendo un problema que no solo afecta zonas de bosque prístino sino, incluso, áreas protegidas por el Estado. En su más reciente reporte sobre Ecuador, el Proyecto de Monitoreo de la Amazonía Andina (MAAP) iniciativa de Amazon Conservation Association, Conservación Amazónica (ACCA) y la Fundación Eco-ciencia, reveló que la actividad se está realizando dentro del Parque Nacional Podocarpus, en el sureste de la Amazonía, entre las provincias de Loja y Zamora Chinchipe (Paz A, 2023).

Debido a la constante alteración que se da en este ecosistema sabiendo que el Podocarpus cuenta con espacios vulnerables a la alteración, como por ejemplo el del sector conocido como Dos Camas, donde se registraron 4.7 hectáreas afectadas por la tala y el depósito de sedimentos resultado de la actividad minera subterránea, El segundo caso de estudio es el frente minero San Luis, en donde 11 hectáreas tienen daños por la tala y los sedimentos causados por la minería de socavón. En estos casos es cuando las especies vegetales como animales se ven altamente degradadas poniendo en riesgo la supervivencia de las especies epifitas como las bromelias ya que por la tala su número descende cada vez más (Paz A, 2023).

Se conoce que el grupo de las bromelias es uno de los más sensibles a la destrucción y fragmentación de los bosques es por eso que la conservación de plantas epifitas tanto a nivel in situ como ex situ es muy compleja, sabemos que existen al menos 3 especies con categoría de Amenazada, junto con 9 especies Vulnerables, y en orquidearios se albergan al menos 16 especies dentro de alguna categoría de amenaza y por ello son urgentes acciones de protección por la importancia que tienen para la biodiversidad del país, debido al elevado número de especies y hábitos de crecimiento que estos vegetales muestran al existir ambientes tan variados se complica su conservación, es por eso que existen algunas técnicas de propagación y mantenimiento donde tratan especialmente la conservación de especies epifitas como las bromelias (Chávez S, Chimbo N, 2018).

4. Tema

**“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE
GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA
DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL
AÑO 2023”**

5. Líneas y sublíneas

Línea: Sistemas de gestión ambiental y conflictos socio-ecológicos

Sublínea: Pérdida de la biodiversidad

6. Justificación

6.1. Justificación de la línea y sublínea

En los sistemas de gestión ambiental dedicada al enfoque conservacionista, considerando que la flora posee un rol ecológico importante, pues muchas especies aportan un gran favorecimiento a la cadena alimenticia, existe un gran índice de pérdida de especies día a día, la complejidad que trae consigo el manejo y administración de los recursos naturales dentro de sistemas socio-ecológicos sugiere entonces sistemas de gobernanza más sofisticados.

6.2. Justificación académica.

El objetivo del proyecto de titulación de fin de carrera es cumplir con uno de los reglamentos académicos establecidos por la nueva Ley Orgánica de Educación Superior, el cual está establecido como requisito previo al título de tercer nivel de Tecnólogos en Desarrollo Ambiental en el Instituto Superior Tecnológico Sudamericano.

La preparación académica permitirá fortalecer el proceso de investigación y sustentar los años de estudio referente a la biodiversidad florística y la importancia de este recurso en el planeta Tierra estos estudios nos ayudaran en el futuro laborar, para poder desempeñarnos en diferentes campos ambientales, y así contribuir a la conservación de las especies que están en peligro de extinción y minimizar los impactos que se genera por la deforestación.

6.3. Justificación tecnológica.

Como parte de nuestra responsabilidad ambiental, debemos realizar estudios de calidad, que garantice el Buen vivir de una comunidad y con esto se impulsará el desarrollo social, económico y tecnológico de una sociedad. Adoptando así la educación ambiental, que es la guía básica de nosotros los estudiantes de Desarrollo Ambiental, para así crear biotecnologías seguras y amigables con el medio ambiente que garanticen un avance sostenible.

Estas ayudan a reducir las emisiones de CO₂, fomenta el cultivo de alimentos más nutritivos y libres de toxinas, protege al ambiente al limitar el uso de pesticidas, ayuda a reducir el desperdicio de agua.

6.4. Justificación ambiental.

Mediante la propagación in vitro cuidamos las especies vegetales que pueden estar en peligro de extinción, como también nos permite cultivar células, tejidos, órganos, semillas, embriones y obtener individuos selectos de forma rápida. Ayudando así a las cadenas alimenticias que se pueden ver afectadas por la pérdida de una especie vegetal.

Ya que la pérdida de cualquier especie puede generar cambios negativos en los ecosistemas, asimismo crear un desequilibrio que perturbe el ambiente y genere sistemas insalubres, que a su vez produzcan una alteración en otros seres vivos, ocasionando enfermedades nuevas o la ampliación de sus fronteras

6.5. Justificación socio-cultural

Una adecuada germinación de las plantas nos permite propagar especies que presentan dificultad por los métodos tradicionales, mejorando la calidad de sus productos de una forma higiénica, conservando especies de valor ecológico y cultural, como es el caso de las bromelias, ya que se ha visto desde la antigüedad como esta especie es extraída para distintos fines, uno de ellos es que en muchos países estas adornan los nacimientos convirtiéndose como una tradición, pero gracias a las biotecnologías podríamos mejorar su ADN y resistencia a las plagas ayudando al repoblamiento de estas, disminuyendo el impacto de la extracción.

7. Objetivos

7.1. Objetivo general

Evaluar e investigar la zona, reproducción y enraizamiento de la especie *Guzmania* (bromeliácea) mediante técnicas de georreferenciación, entrevistas y procesos biotecnológicos en cultivo in vitro utilizando explantes e hijuelos de nuestra planta estudiada, para proponer alternativas de multiplicación a través de un manual.

7.2. Objetivos específicos

1. Realizar un levantamiento de información primaria a través de entrevistas a funcionarios que laboran en la reproducción de cultivos in vitro para conocer la importancia de la conservación ex situ.
2. Identificar la zona de estudio mediante técnicas de georreferenciación y levantamiento de línea base para la colecta de la especie *Guzmania* sp.
3. Realizar la experimentación de reproducción por medio de explantes de *guzmania* sp, a través de la técnica de cultivo in vitro para determinar la viabilidad.
4. Socializar a los estudiantes y docentes de la Tecnología Superior en Desarrollo Ambiental del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano los resultados a través de la presentación de un manual de procedimiento de cultivo in vitro para dar a conocer nuevas técnicas de multiplicación vegetal a los estudiantes y docentes.

8. Marco teórico

8.1. Marco institucional

Figura 1

Elemento gráfico que identifica a la institución



Nota. Información obtenida de la página oficial de la institución.

8.2. Reseña histórica

El Señor Manuel Alfonso Manitio Conumba crea el Instituto Técnico Superior Particular Sudamericano para la formación de TÉCNICOS, por lo que se hace el trámite respectivo en el Ministerio de Educación y Cultura, el cual con fecha 4 de junio de 1996 autoriza, con resolución Nro. 2403, la CREACIÓN y el FUNCIONAMIENTO de este Instituto Superior, con las especialidades del ciclo post bachillerato de: Contabilidad Bancaria, Administración de Empresas y Análisis de Sistemas.

Posteriormente, con resolución Nro. 4624 del 28 de noviembre de 1997, el Ministerio de Educación y Cultura autoriza el funcionamiento del ciclo post bachillerato, en las especialidades de: Secretariado Ejecutivo Trilingüe y Administración Bancaria. Con resolución Nro. 971 del 21 de septiembre de 1999, resuelve el Ministerio de Educación y Cultura elevar a la categoría de INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR PARTICULAR SUDAMERICANO, con las especialidades de: Administración Empresarial, Secretariado Ejecutivo Trilingüe, Finanzas y Banca, y Sistemas de Automatización.

Con oficio circular nro. 002-DNPE-A del 3 de junio de 2000, la Dirección Provincial de Educación de Loja hace conocer la nueva Ley de Educación Superior, publicada en el Registro Oficial Nro. 77 del mes de junio de 2000, en el cual dispone que los Institutos Superiores Técnicos y Tecnológicos, que dependen del Ministerio de Educación y Cultura, forman parte directamente del “Sistema Nacional de Educación Superior” conforme lo determina en los artículos 23 y 24. Por lo tanto, en el mes de noviembre de 2000, el Instituto Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja pasa a formar parte del Consejo Nacional De

Educación Superior CONESUP, con registro institucional Nro. 11-009 del 29 de noviembre de 2000.

A medida que avanza la demanda educativa el Instituto propone nuevas tecnologías, es así que de acuerdo con el Nro. 160 del 17 de noviembre de 2003, la Dirección Ejecutiva del CONESUP otorga licencia de funcionamiento en la carrera de: Diseño Gráfico y Publicidad, para que conceda títulos de técnico superior.

Con acuerdo ministerial Nro. 351 del 23 de noviembre de 2006, el CONESUP acuerda otorgar licencia de funcionamiento para las tecnologías en las carreras de: Gastronomía, Gestión Ambiental Electrónica y Administración Turística.

En circunstancias de que en el año 2008 asume la dirección de la academia en el país el CES (Consejo de Educación Superior), la SENESCYT (Secretaría Nacional de Educación Superior Ciencia y Tecnología) y el CEAACES (Consejo de Evaluación, Acreditación y Aseguramiento de la Calidad de la Educación Superior), el Tecnológico Sudamericano se une al planteamiento de la transformación de la educación superior tecnológica con miras a contribuir con los objetivos y metas planteadas en el Plan Nacional del Buen Vivir 2013-2017, para el consecuente cambio de la matriz productiva que nos conduzca a ser un país con un modelo de gestión y de emprendimiento ejemplo de la región.

Esta transformación inicia su trabajo en el registro de carreras, metas que luego de grandes jornadas y del esfuerzo de todos los miembros de la familia sudamericana se consigue mediante Resolución RPC-SO-11-Nro.110-2014 con fecha 26 de marzo del 2015. Con dicha resolución, las ocho carreras que en aquel entonces ofertaba el Tecnológico Sudamericano demuestran pertinencia para la proyección laboral de sus futuros profesionales.

En el año 2014 el CEAACES ejecuta los procesos de evaluación con fines de acreditación a los institutos tecnológicos públicos y particulares del Ecuador; para el Tecnológico Sudamericano, este ha sido uno de los momentos más importantes de su vida institucional en el cual debió rendir cuentas de su gestión. De esto resulta que la institución acredita con una calificación del 91% de eficiencia según resolución del CES y CEAACES, logrando estar entre las instituciones mejor puntuadas del Ecuador.

Actualmente, ya para el año 2022 el Tecnológico Sudamericano ha dado grandes pasos, considerando inclusive el esfuerzo redoblado ejecutado durante cerca de dos años de pandemia sanitaria mundial generada por la Covid-19; los progresos se concluyen en:

- ✓ 10 carreras de modalidad presencial

- ✓ 7 carreras de modalidad online
- ✓ 2 carreras de modalidad semipresencial
- ✓ 1 centro de idiomas CIS, este último proyectado a la enseñanza – aprendizaje de varios idiomas partiendo por el inglés. Actualmente Cambridge es la entidad externa que avala la calidad académica del centro.
- ✓ Proyecto presentado ante el CES para la transformación a Instituto Superior Universitario
- ✓ Proyecto integral para la construcción del campus educativo en Loja – Sector Moraspamba.
- ✓ Proyecto de creación de la Sede del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano en la ciudad de Machala
- ✓ Progreso hacia la transformación integral digital en todos los procesos académicos, financieros y de procesos.

Nuestros estudiantes provienen especialmente del cantón Loja, así como de la provincia; sin embargo, hay una importante población estudiantil que proviene de otras provincias como El Oro, Zamora Chinchipe, Azuay e incluso de la Región Insular Galápagos.

La formación de seres humanos y profesionales enfocados a laborar en el sector público como privado en la generación de ideas y solución de conflictos es una valiosa premisa, empero, el mayor de los retos es motivar a los profesionales de tercer nivel superior tecnológico para que pasen a ser parte del grupo de emprendedores; entendiéndose que esta actividad dinamiza en todo orden al sistema productivo, económico, laboral y por ende social de una ciudad o país.

La misión, visión y valores constituyen su carta de presentación y su plan estratégico su brújula para caminar hacia un futuro prometedor en el cual los principios de calidad y pertinencia tengan su asidero.

8.3. Modelo educativo

A través del modelo curricular, el modelo pedagógico y el modelo didáctico se fundamenta la formación tecnológica, profesional y humana que es responsabilidad y objetivo principal de la institución; cada uno de los modelos enfatiza en los objetivos y perfiles de salida estipulados para cada carrera, puesto que el fin mismo de la educación tecnológica que brinda

el Instituto Sudamericano es el de generar producción de mano de obra calificada que permita el crecimiento laboral y económico de la región sur del país de forma prioritaria.

Figura 2

Vinculación con la sociedad



Nota. Información otorgada por secretaria del ISTS

El modelo en conjunto está sustentado en la Teoría del Constructivismo; el constructivismo percibe el aprendizaje como actividad personal enmarcada en contextos funcionales, significativos y auténticos. Todas estas ideas han sido tomadas de matices diferentes, se pueden destacar dos de los autores más importantes que han aportado más al constructivismo: Jean Piaget con el Constructivismo Psicológico y Lev Vygotsky con el Constructivismo Social.

El modelo curricular basado en competencias pretende enfocar los problemas que abordarán los profesionales como eje para el diseño. Se caracteriza por: utilizar recursos que simulan la vida real, ofrecer una gran variedad de recursos para que los estudiantes analicen y resuelvan problemas, enfatizar el trabajo cooperativo apoyado por un tutor y abordar de manera integral un problema cada vez.

9. Marco conceptual

9.1.¿Qué es una planta epífita?

Las epifitas son plantas que crecen sobre otras plantas adheridas a los troncos y ramas de árboles y arbustos principalmente, por ello, son llamadas, con toda propiedad, epifitas (del griego *epi* que significa “sobre”, y *phyte*, “planta”). El hospedero o “forofito” sobre el que crece una epífita es utilizado sólo como soporte sin recibir más daño que el que pueda provocar su abundancia dentro de su ramaje; por tanto, una epífita difiere de una planta parásita en que esta última obtiene agua y nutrientes del hospedero. Algunas hendiduras o huecos ofrecen sitios de fácil colonización para estas plantas, por ello, se puede resaltar que para las epifitas el anclaje al sustrato es siempre muy débil (Sánchez, D; Ríos, G, 20003).

Las epifitas despliegan mecanismos muy variados y novedosos para sobrellevar no sólo la sequía, sino también, la adquisición de nutrimentos del ambiente, sin tomarlos del hospedador. Tal especialización requiere, en ocasiones, de interacciones mutua listicas con microorganismos, artrópodos y algunos grupos de vertebrados y de características morfoanatómicas y funcionales muy especiales. Este grupo incluye organismos no vasculares, y vasculares que se relacionan ecológicamente con hospedadores muy diversos que se establecen en ambientes con alta humedad atmosférica. Por ello, son responsables, en gran parte, de que los bosques húmedo tropicales contengan la diversidad biótica más alta de todos los ecosistemas continentales (Sánchez, D; Ríos, G, 20003).

9.2.¿Qué es una planta vascular y no vascular?

Una característica de las plantas vasculares es que cuentan con tejidos conductores y estructurales diseñados para otorgarles un mejor soporte y aporte de energía para su desarrollo. Es aquella que cuenta con estructuras evolucionadas para conseguir un crecimiento óptimo. Asimismo, también reciben el nombre de plantas superiores debido a este motivo. En la amplia mayoría de los casos, las plantas vasculares presentan sus partes de manera diferenciada. Hablamos de la raíz, tallo, hojas, flores y frutos. Por ello, es muy probable que la gran mayoría de las plantas que te rodean y conoces formen parte de esta clasificación (Acosta B, 2021).

Las briófitas o vasculares, de forma general, se caracterizan por no contar con un sistema vascular, es decir que no disponen de xilema y floema. Las plantas no vasculares, por el hecho de carecer de raíz, tallo, hojas y flores, son mucho más primitivas y están formadas por estructuras más simples que se encargan de transportar el agua a través de los llamados poiquilohífricos (condición de los organismos que carecen de un mecanismo para regular el

contenido hídrico. Estos absorben el agua directamente de la atmósfera que envuelve a la planta a la vez que lo mueve por el organismo (Acosta B, 2021).

9.3. Deforestación

La deforestación y la desvaloración forestal son temas urgentes relacionados con los bosques de nuestro planeta, La deforestación se refiere a la tala de un bosque, eliminándolo por completo, para dar espacio a algo más en su lugar. La principal causa de la deforestación es la agricultura insostenible e ilegal, que da pie a cultivos comerciales como el aceite de palma y el caucho, ya que estos tienen una demanda alta en el mercado por los comerciantes. La realidad sobre la deforestación es impresionante: los bosques están desapareciendo a un ritmo muy acelerado. Cuando un bosque se degrada significa que aún existe, pero ya no funciona bien. Se convierte en una versión reducida de lo que solía ser y su salud disminuye hasta que ya no puede sustentar a las personas y la vida silvestre. Por ejemplo, filtrando el aire que respiramos y el agua que bebemos, o proporcionando alimento y refugio a los animales (Hancock, 2019).

9.4. ¿Por qué hay deforestación?

La deforestación de los bosques debido a la tala indiscriminada se da principalmente a una industria multimillonaria basada en la creciente demanda de madera, productos de papel y combustible baratos, monocultivos de especies comerciales, tala y quema, guerras e incendios por el cambio climático, sumándole la extracción irresponsable de madera genera más impacto debido a que estos crean caminos para extraer la mayor cantidad posible de árboles de alto valor y arrastran la madera para venderla (Hancock, 2019).

En un bosque degradado debido a la tala ilegal e insostenible existen claros, una telaraña de caminos, vegetación devastada y maleza, al igual que trincheras excavadas en el suelo del bosque, a consecuencia de estos otros madereros lo seguirán y con ellos mineros, ganaderos y agricultores que de otra manera no habrían tenido acceso, es por ello que varias especies vegetales se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, es por la demanda que la población tiene por una especie, que nos olvidamos que existen otras también importantes para el equilibrio ambiental (Hancock, 2019).

9.5. ¿Qué es una biotecnología?

Es un conjunto de técnicas que utiliza células vivas, cultivo de tejidos o moléculas derivadas de un organismo, por ejemplo, enzimas, para obtener o modificar un producto, mejorar una planta o un animal o desarrollar un microorganismo para utilizarlo con un

propósito específico, se trata de procesos tecnológicos asociados a organismos vivos y a los procesos biológicos (SAGP, 2023).

Esta actividad se apoya sobre el conocimiento de determinados procesos biológicos básicos y ofrece instrumentos para el desarrollo de la agricultura, la pesca, la actividad forestal y las industrias alimentarias de manera sostenible. Cuando se integra debidamente con otras tecnologías para la producción de alimentos, entre otros servicios, la biotecnología es una herramienta de gran importancia para satisfacer las necesidades de una población en crecimiento (SAGP, 2023).

9.6.¿Qué se considera una especie amenazada?

Especie cuya supervivencia está en riesgo por la acción de los seres humanos, cuando su ecosistema fundamental se encuentra alterado y se vuelve contraproducente para la especie, esta pierde la capacidad de subsistir y por ende la abundancia poblacional disminuye, poniéndola en peligro sumándole a esto su ciclo reproductivo y el cambio climático, factores que también alteran su supervivencia en el ecosistema (Muñoz, 2020).

9.7.¿Cómo ayudan las biotecnologías con especies amenazadas?

La biotecnología vegetal nos sirve como una técnica de multiplicación para la conservación de la integridad genética del material vegetal, permitiéndonos así reproducir especies que se encuentren amenazadas. Estas técnicas también pueden ser utilizadas para la obtención de material vegetal destinadas a trabajos de restauración ecológica, introducción o reintroducción cuando la reproducción por métodos tradicionales no resulta factible o eficaz (Cano J 2021).

No obstante, la propagación por vías tradicionales tiene como principal inconveniente el largo tiempo que media entre la obtención de las nuevas posturas hasta su reintroducción, así como las bajas tasas de multiplicación que dificultan la disponibilidad de gran cantidad de posturas, con lo cual se alargan los programas de restauración ecológica, es por eso que las biotecnologías nos ayudan a que este proceso sea mucho más eficaz, ya que, obtendremos muchos más beneficios tanto en multiplicación como en producción (Pence, 1999).

Las herramientas biotecnológicas como el cultivo y propagación in vitro, cultivo de tejido vegetal y cultivo en biorreactores de inmersión temporal y gracias al esfuerzo de muchas personas, tanto investigadores como coleccionistas, se han preservado y reincorporado algunas especies de epifitas, para con ello, recuperar la ecología y ser capaces de admirarlas en su hábitat natural (Piña I, 2023).

9.8.Plantas ornamentales

Ornamental, por otra parte, es un adjetivo que refiere a lo perteneciente o relativo a la ornamentación. Los ornamentos son aquellos adornos o atavíos que permiten decorar una cosa y hacerla más vistosa. Esto quiero decir que las plantas ornamentales son aquellos vegetales que se utilizan en la decoración con la intención de adornar o embellecer un espacio. Son plantas que se cultivan con una finalidad estética, a diferencia de otras especies (como las plantas comestibles o las medicinales. De todas formas, hay plantas que pueden cumplir con más de una de estas funciones (Pérez J, Gardey A, 2011).

Las plantas ornamentales pueden destacarse por la forma o el color de sus hojas y flores, por su perfume, por la presencia de frutos o por su textura, entre otras características. Estas plantas se utilizan para crear diseños paisajísticos, embellecer jardines o decorar un ambiente interior (como un living). Los expertos consideran que existen más de 3.000 plantas que se destinan al uso ornamental (Pérez J, Gardey A, 2011).

9.9.Propagación, multiplicación

La multiplicación o propagación vegetativa es la producción de una planta a partir de una célula, un tejido, un órgano o parte de una planta madre. Existe una gran variedad de métodos, desde los procedimientos más sencillos como las estacas, hasta los biotecnológicamente más complejos, cultivo in vitro (Jhon Dree, 2017). También se da la multiplicación asexual, esta es una forma de reproducción, tanto en plantas como en otros organismos, a través de la que se forman nuevos individuos idénticos al progenitor, sin que intervengan óvulos ni espermatozoides. Es decir, sólo se requiere de un organismo y no de dos como en la reproducción sexual (UNAM, 2017)

9.10. ¿Qué significa in vitro?

La expresión cultivo in vitro de plantas, significa cultivar dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Castillo A, 2017).

9.11. Tipos de Multiplicación vegetativa

Los métodos de propagación pueden ser clasificados como naturales, según si se trata de estructuras propias de las plantas que le permiten reproducirse. Claudia luna nos explica de la siguiente manera.

9.11.1. Asexualmente

Bulbos. Son órganos subterráneos de almacenamiento de nutrientes, ejemplo el ajo, el cultivo se establece vía asexual por medio de la plantación de los bulbos o “dientes” directamente en la tierra con el borde agudo hacia arriba. Pueden tener yemas laterales, las que durante el período de crecimiento dan origen a nuevos bulbos, denominados bulbillos, los bulbos se clasifican en tunicados, en los que sus bases están rodeadas por capas superpuestas cuando el bulbo está totalmente rodeado por las bases persistentes de las hojas.

Tubérculos. Son tallos modificados y engrosados donde se acumulan sustancias de reserva, comúnmente almidón, ejemplo la papa.

Rizomas. Son tallos subterráneos con varias yemas que crecen de forma horizontal emitiendo raíces y brotes herbáceos de sus nudos, ejemplo jengibre.

Estolones. Son brotes o ramas laterales más o menos delgados que nacen de la base del tallo, que crecen horizontalmente con respecto al nivel del suelo o subterráneo. Tienen entrenudos largos que generan raíces adventicias, ejemplo a frutilla.

Hijuelos. Son un tipo característico de brote lateral o rama que se desarrolla sobre la base del tallo principal de ciertas plantas. Este término se aplica generalmente al tallo engrosado, acortado y con aspecto de roseta. El término hijuelo o macollo, como algunas veces se lo denomina, se aplica al cultivo de plátanos, ananá o piña, palma datilera.

9.11.2. Artificiales si son producidas por el hombre

Estaca o esqueje. La propagación por estacas es una técnica de multiplicación vegetal en la que se utilizan trozos de tallos, los que colocados en condiciones ambientales adecuadas son capaces de generar nuevas plantas idénticas a la planta madre, estas porciones son fitómeros, es la menor porción formada por un nudo con la yema y una porción de los entrenudos superior e inferior que permite la multiplicación. Plantadas bajo condiciones ambientales favorables se induce a

formar raíces, y luego desarrolla el vástago produciendo así una nueva planta independiente. (Burgos A, 2016).

Injerto. Son segmentos de plantas se adhieren a otra receptiva más resistente o de mejores características (ej. cítricos, frutales de pepita, cacao, rosales). El injerto es un método de multiplicación que consiste en unir yemas de una determinada variedad o cultivar sobre una estaca de otra variedad, cultivar, u otra especie (de la misma familia botánica), con tolerancia normalmente a problemas de suelo porciones de plantas de manera que formen un solo individuo. En un árbol injertado se distinguen por tanto una parte situada por debajo del punto de injerto, denominada hipobionte, porta-injerto o patrón, provista generalmente de raíces y una parte superior, llamada epibionte, injerto o púa, destinada a formar la copa (Burgos A, 2016).

Acodo. Es un método de propagación en el cual se provoca la formación de raíces adventicias a un tallo que está todavía unido a la planta madre. Luego, el tallo enraizado, acodado, se separa para convertirlo en una nueva planta que crece sobre sus propias raíces. La rama acodada sigue recibiendo agua y minerales debido a que no se corta el tallo y la xilema permanece intacto. (Burgos A, 2016).

Micro propagación o Cultivo in-vitro. En esta técnica se utilizan células o pequeñas partes de tejidos u órganos denominados explantos, los mismos son cultivados en condiciones controladas de laboratorio. La técnica se basa en la totipotencialidad. Las células que conservan mejor esta potencialidad son las que están menos diferenciadas hacia una función específica, ej. Meristemas apical de tallo o raíz, cambium o células adultas que conservan su núcleo. Gracias a la totipotencialidad, en un medio de cultivo prácticamente cualquier célula con núcleo logra iniciar el proceso de proliferación casi infinita (a través de divisiones mitóticas), formando un callo que originará nuevas plantas genéticamente iguales (Burgos A, 2016).

9.12. ¿Qué es la totipotencia?

La totipotencia es la capacidad que tiene una célula en este caso la de las plantas, de generar un individuo completamente idéntico a la célula madre, la cual tiene la misma información genética y la misma función (Kieran & Col, 1997), es decir, indica que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta a la que pertenece (Ferl y Paul, 2000).

10. Métodos y Técnicas

Es el conjunto de reglas y normas para el estudio y solución de problemas. A continuación, se detalla los siguientes métodos de investigación que se utilizan en la producción técnica científica en el Instituto Superior Tecnológico Sudamericano:

10.1. Método Fenomenológico

Este método permite que el investigador se acerque a un fenómeno tal como sucede en una persona, de modo que se accede a la conciencia de alguien para aprender lo que esa conciencia pueda manifestar con referencia a un fenómeno que esa persona vivió; es decir se utiliza la técnica de investigación seleccionada dependiendo al tipo de investigación para poder observar la información del problema (Trejo, 2012)

10.2. Método hermenéutico

Este método permite penetrar en la esencia de los procesos y fenómenos de la naturaleza, la sociedad y el pensamiento al ofrecer un enfoque e instrumento metodológico para su interpretación desde niveles de comprensión y explicación que desarrolle la reconstrucción (interpretación) del objeto de investigación y su aplicación en la praxis social. La ciencia se comienza a construir desde la observación y la interpretación de sus procesos, y es aquí donde se erige la hermenéutica como un enfoque metodológico que atraviesa toda la investigación científica. Consiste en tomar conclusiones generales para explicaciones particulares. Se inicia con el análisis de postulados, teoremas, leyes, principios de aplicación universal y de comprobada validez para aplicarlos a soluciones o hechos particulares

10.3. Método Práctico Proyectual

Servirá para definir los límites en los que deberá moverse el diseñador. Definido el tipo de problema se decidirá entre las distintas soluciones: una solución provisional o una definitiva, una solución puramente comercial o una que perdure en el tiempo, una solución técnicamente sofisticada o una sencilla y económica. Descomponer el problema en sus diversos elementos. Esta operación facilita la proyección ya que tiende a descubrir los pequeños problemas particulares que se ocultan tras los sub-problemas ordenados por categorías (Munari, 2020)

10.4. Técnicas de investigación

Las técnicas son utilizadas en la investigación documental, que es la parte fundamental de la investigación científica, donde se apoya a la recopilación de antecedentes utilizando

diferentes documentos; y, a la investigación de campo, que se realiza directamente sobre el objeto de estudio a fin de recopilar datos e información necesaria para analizarla.

10.5. Observación *in situ*

Es la más común, sugiere y motiva los problemas y conduce a la necesidad de la sistematización de los datos, es la percepción visual de las cosas (Yzkarina, 2017).

10.6. Entrevista

La entrevista es una técnica de recogida de información que además de ser una de las estrategias utilizadas en procesos de investigación, tiene ya un valor en sí misma. Tanto si se elabora dentro de una investigación, como si se diseña al margen de un estudio sistematizado, tiene unas mismas características y sigue los pasos propios de esta estrategia de recogida de información. El principal objetivo de una entrevista es obtener información de forma oral y personalizada sobre acontecimientos, experiencias, u opiniones de personas referente a un tema en específico (Folgueiras P, 2020)

11. Fases metodológicas

11.1. Fase I: Preliminar

Para el cumplimiento del primer objetivo denominado: Realizar un levantamiento de información primaria a través de entrevistas a funcionarios que laboran en la reproducción de cultivos *in vitro* para conocer la importancia de la conservación *ex situ*, se utilizara el método fenomenológico que inicia con la aproximación a funcionarios que laboran en biotecnologías, continua con la aplicación de entrevistas y finaliza con la redacción de fundamentos importantes.

11.1.1. Instituciones que aplican biotecnología en la ciudad de Loja

UTPL

En la universidad, se tiene como concepto que la biotecnología emplea diversas técnicas como la clonación, la cual se realiza en plantas, por ejemplo, con el cultivo *in vitro*, donde se regenerará una o muchas plantas libres de microbios en condiciones ambientales controladas, además de la propagación masiva de plantas, producción de semillas, mejora genética de especies, entre otros. Esta innovadora técnica se enseña en la Maestría en Biotecnología Agropecuaria, mención Producción Vegetal, especialidad en la que los alumnos reciben el módulo denominado “Ingeniería Genética en Plantas: Cultivo *In Vitro* y Mejora de Plantas” (UTPL, 2021). Elisa Quiala Mendoza es investigadora del Instituto de Investigaciones

Agropecuarias (INIA) de Chile en el área de Tecnología Vegetal, y es docente invitada de la Maestría de Biotecnología Agropecuaria, mención Producción Vegetal de la UTPL.

UNL

La Universidad Nacional de Loja, tiene el reto de producir plantones, utilizando para ello los métodos de propagación convencional a nivel de vivero y en condiciones controladas, a través de la Técnica de Cultivo de tejidos Vegetales in vitro, para el efecto el Laboratorio cuenta con los servicios básicos, iluminación, agua, Internet, red hidro-sanitarias. A través de la Ex – Facultad de Ciencias Agrícolas, dio el primer paso en el campo de la Biotecnología Vegetal, al dictar al Primer Curso Nacional de “Propagación de Plantas por Tejidos”, contó con la participación de Investigadoras del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INCA), de la República de Cuba, gracias al Proyecto de Investigación “Propagación de orquídeas por medio de la técnica de cultivo de tejidos in vitro” – Convenio CONUEP-UNL (LMVUNL, 2012).

Entrevista

Buenos días Sr/Ing.... responsable del área de..., mi nombre es Edith Benavides y mi compañero es Oscar Lozada, somos estudiantes del instituto superior tecnológico sudamericano, el motivo de nuestra entrevista es para adquirir más conocimientos con respecto a los cultivos in vitro ya que es tema en nuestro proyecto de titulación.

1. ¿Cuáles son las principales medias de asepsia que toman al momento de realizar el proceso de cultivo in vitro?
2. ¿Cuántos tipos de plantas han reproducido por este medio?
3. ¿Cuáles son los micro y macro nutrientes principales para estos cultivos
4. ¿Las sustancias que usan son las mismas para cada cultivo?
5. ¿considera que este tipo de procesos se los pueda llevar a cabo dentro de un ambiente casero tomando en cuenta todos los procesos de asepsia?
6. Que recomendaciones nos podría brindar para realizar nuestros cultivos en la especie *guzmania* bromeliácea.

GRACIAS POR SU TIEMPO Y/O COLABORACIÓN

11.2. Fase II: Georreferenciación y línea base

Para el cumplimiento del segundo objetivo: Identificar la zona de estudio mediante técnicas de georreferenciación y levantamiento de línea base para la colecta de la especie *guzmania* sp. Se utilizará el método hermenéutico que inicia con la búsqueda de información de estudio realizado, continua con la redacción de información en diferentes fuentes investigadas y finaliza con la redacción de fundamentos importantes.

11.2.1. Georreferenciación de la especie recolectada

Para realizar este paso nos ayudaremos de aplicaciones como el GPS y ArcGIS, así delimitaremos la zona de recolección de la especie *Guzmania* (Bromeliácea) por medio de coordenadas tomadas en la zona.

Ver la siguiente imagen, referencial del sector.

Figura 4

Camino para llegar a la cascada Namanda



Nota. Imagen satelital, google maps.

Tomaremos coordenadas en el sector con una aplicación de GPS:

X (se colocarán posteriormente al ir al sector a la recolección de la especie)

Y (se colocarán posteriormente al ir al sector a la recolección de la especie)

Z (se colocarán posteriormente al ir al sector a la recolección de la especie)

Y también varios datos que nos servirán para realizar nuestro proyecto.

11.2.2. Línea base del área de recolección de especies

Áreas de influencia

El área de influencia comprende el lugar donde se manifiestan directa e indirectamente la investigación bibliográfica que se obtiene sobre la especie en cuestión en la ciudad de Loja.

Área de influencia directa

El análisis del área de la investigación de influencia directa del proyecto está determinado por las características sociales, biológicas, ambientales y físicas que afectada el desarrollo y/o propagación de la especie en el sector Namanda

Área de influencia indirecta

El área de influencia indirecta se considerará a los sectores que de una u otra forma reciben algún beneficio o participarán indirectamente en las actividades de multiplicación y propagación de la especie en la ciudad de Loja.

11.2.3. Descripción del componente físico

Temperatura

Se revisará bibliografía de los últimos 10 años de las condiciones meteorológicas. Estos datos se podrán obtener del INAMHI o DAC. Las estaciones meteorológicas usadas serán las más cercanas al lugar del proyecto. Se debe describir como mínimo los siguientes parámetros: Precipitación, Temperatura, Humedad Relativa, Nubosidad, Balance Hídrico, Evapotranspiración Potencial (ETP), Velocidad.

Geología

Se revisará bibliografía del área del proyecto basándose en estudios previos y fuentes bibliográficas.

Suelo

Se revisará bibliografía del área del proyecto basándose en estudios previos y fuentes bibliográficas e información cartográfica de las diferentes entidades como: IGM, SIG TIERRAS (MAGAP).

Hidrología

Se revisará bibliografía y estudios previos.

Paisaje Natural

Se revisará bibliografía y la calificación y cuantificación de la calidad del paisaje natural abarcará la descripción de los siguientes parámetros: visibilidad, fragilidad del paisaje y calidad paisajística.

11.2.4. Factor Biótico

Cobertura Vegetal y/o Usos del Suelo

Fundamentaremos el estudio de la cobertura vegetal mediante el análisis bibliográfico respectivo, también se determinará las Zonas de vida en la que se encuentra ubicados los puntos de muestreo.

Flora

En esta metodología identificaremos grupos florísticos dominantes en los diferentes estratos del bosque y determinare la composición de la vegetación circundante. Lo cual lo realizaremos mediante revisión bibliográficas de años atrás.

Fauna

Nos basaremos en información primaria mediante revisión bibliográfica de estudios realizados anteriormente acerca del lugar, ingresando fuentes de las cuales nos basaremos para el levantamiento de información.

Factor Socio-Económicos y cultural

Para la descripción socio-económico y cultural del Área, se utilizará información secundaria en especial los datos del Censo 2010.

- Salud
- Educación
- Vivienda
- Infraestructura física
- Actividades productivas
- Vías de Acceso

11.3. Fase III: Experimentación

Para ejecutar el tercer objetivo denominado: Realizar la experimentación de reproducción por medio de explantes de *guzmania* sp, a través de la técnica de cultivo in vitro para determinar la viabilidad, se utilizará el método practico proyectual que inicia con las

prácticas de experimentación de cultivo in vitro, continua con la identificación de beneficios y culmina con el informe de los resultados obtenidos.

11.3.1. Experimentación

El cultivo de tejidos es una de las mejores opciones para poder suplir las demandas del mercado sin necesidad de dañar o alterar el hábitat natural de esta especie y produciendo plantas sanas masivamente (Carneiro et al. 2000). El desarrollo de las técnicas de micro propagación ha tenido resultados ventajosos en la propagación rápida y con calidad de genotipos élitos. Los protocolos de propagación in vitro de las Bromelias se han establecido a partir del cultivo de ápices, yemas axilares y explantes de hojas provenientes de plantas adultas. Entonces para poder realizar nuestra experimentación iniciaremos con dos partes de la planta, explantes de las hojas y/o la roseta, yemas axilares de la inflorescencia que están tiene (Pierik y Sprenkles, 1991).

Según Castañeda Fernando en su proyecto “establecimiento in vitro de la bromelia *Neoregelia carolinae* (Beer) L.B. Sm” y la biotecnóloga López Guadalupe

Para poder realizar nuestro medio de cultivo vamos a necesitar los siguientes reactivos y materiales:

Reactivos

- 30 gramos por litro de sacarosa
- 150gr de macro y microelementos
- 2,2 gramos por litro de gelatina en polvo o Agar estos nos sirven para gelificar el medio de cultivo
- Una banana mediana
- 1 pastilla de tiamina
- 1gr Piridoxina
- 1gr Ácido Nicotínico o complejo B
- 250ml de Agua destilada
- Vinagre
- Cloro
- Alcohol
- Bandas de pH
- Jabón líquido o detergente

Material vegetal, *Guzmania* sp

- Explantes
- Hijuelos

Materiales

- 5 recipientes o fuente de plástico
- Pinzas
- Velas
- Cajas magentas o Frascos herméticos
- Jarra milimetrada
- Licuadora
- Olla
- Balanza analítica
- Toallas desechables
- Guates
- Cofia
- Mandil
- Mascarilla
- Caja de aluminio, está la podemos hacer forrando un cartón con papel aluminio
- Trapos
- Olla de presión
- Papel film

11.3.2. Preparación del ambiente estéril

1. Como primer paso debemos lavarnos correctamente las manos con abundante agua y jabón.
2. Posteriormente vamos a limpiar con jabón y agua nuestra zona donde vamos a trabajar, rociaremos alcohol para posteriormente pasar una toalla desechable.
3. Nos colocaremos el mandil, cofia, mascarilla, y guantes quirúrgicos.
4. Colocaremos nuestra cámara de aluminio y alrededor las velas para crear un ambiente libre de patógenos.

11.3.3. Esterilización de envases

Para esto se necesita cajas magentas, pero también se puede utilizar frascos que tengan tapa, nosotros reutilizamos envases de compota, para poder usarlos necesitamos esterilizarlos correctamente.

1. Debemos lavar con abundante agua y jabón los frascos para sacar etiquetas y todos los residuos que puedan contener. Si fueran cajas magenta realizamos el mismo proceso de desinfección.
2. Una vez enjuagados los vamos a poner tapados, dentro de la olla de presión, esta debe estar con un trapo limpio en la parte inferior junto con agua hasta el nivel del trapo, encima irían los frascos y cerraremos para prender la hornilla, dejar que la olla pite, apagaremos y esperamos a que enfríe.

11.3.4. Preparación del medio de cultivo

1. Colocaremos nuestra caja de aluminio esterilizada con alcohol y encendemos las velas al rededor, todos los procesos a continuación los realizaremos dentro de nuestro ambiente estéril.
2. Todos los compuestos en polvo se pesan en una balanza analítica.
3. Posteriormente vamos a colocar los 250ml de agua destilada en la licuadora, se agrega la sacarosa esperamos a que se disuelva bien y agregamos la pastilla de tiamina, 1gr Piridoxina, 1gr Ácido Nicotínico o complejo B, junto con el banano y licuamos.
4. Una vez que ya tenemos todos los elementos del medio de cultivo lo que vamos hacer es pasar el líquido a una jarra milimetrada y aforamos a 500ml
5. Luego ajustamos el pH es decir los vamos a ponerlo a un pH de 5,6 pero debido a que posteriormente este medio será llevado a esterilización la sacarosa se hidroliza y hace que el medio de cultivo baje el pH por lo que cuando ajustamos en esta etapa el pH tendrá que ser 6 para que al sufrir la hidrólisis después de la esterilización provocada por el calor el medio quede aproximadamente de 5,6.
6. Una vez que ya está completado el medio de cultivo sólo nos falta agregar la gelatina sin sabor o el agar, que va a servir para gelificar, para que la gelatina se integre bien al medio de cultivo le aplicamos calor y ya está listo el medio

de cultivo para ser utilizado y dosificarlo en los recipientes que vamos a ocupar.

7. Sacamos los frascos de nuestra olla de presión y destapamos siempre pasando las tapas al abrir y cerrar por la vela, ponemos aproximadamente 40 mililitros del medio de cultivo en cada recipiente cerramos y sellamos con papel film, para finalizar colocamos los frascos en la refrigeradora y esperamos aproximadamente de 20 a 30 minutos para que solidifique.

11.3.5. Preparación del explante

1. Se utilizará dos partes de la planta, explantes de las hojas y/o la roseta, yemas axilares de la inflorescencia que están tiene.
2. Dentro de nuestra caja de aluminio colocamos 5 recipientes y dentro de ellos agua destilada, en el primero agregamos un chorro de vinagre, en el segundo detergente y dos gotas de cloro, en el tercer, cuarto y quinto frasco dejamos solo el agua destilada para proceder hacer los lavados.
3. Desde este momento vamos a tocar el explante solo con la pinza, lo colocamos por 10 minutos en el primer frasco, transcurrido el tiempo lo pasaremos al frasco número dos y repetimos el proceso, una vez pasado el tiempo procedemos a pasar al tercer frasco moviendo con la pinza el explante para que pueda lavarse durante un minuto y así sucesivamente con los siguientes frascos para que este tenga 3 lavados consecutivos y quitar todos los químicos que pueda tener.
4. Una vez limpio el explante lo colocaremos en un recipiente vacío dentro del ambiente estéril.

11.3.6. Siembra del explante en el medio de cultivo

1. Dentro de nuestra caja de aluminio, procederemos a sembrar un trozo de explante por frasco, antes de tocarlo pasamos la pinza por la flama de la vela, cuando la hoja es grande primero se la corta en medias de 2x2 aproximadamente, siempre teniendo en cuenta que la vena principal pase por el corte, cuando el frasco es grande se ponen más explantes, pero en nuestro caso pondremos uno en cada uno.
2. Cerramos los frascos siempre pasando por la flama de la vela los cerramos y sellamos con papel film.

11.3.7. Luz y cuarto de cultivo

En nuestra área adecuada para la geminación y formación de callos se colocara los recipientes con hijuelos yemas axilares para que reciban 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, los recipientes que contienen explantes de las hojas se los colocara en cajas negras para que la luz no les afecte en el crecimiento. Iremos monitoreando semana a semana desde el 19 de junio que se realizara la experimentación, los resultados que obtendremos se detallaran después de las 13 semanas de incubación.

11.4. Fase IV: Socialización del manual de procedimientos

Para cumplir el cuarto objetivo: Socializar a los estudiantes y docentes de la tecnología superior en desarrollo ambiental los resultados a través de la presentación de un manual de procedimiento mediante cultivo in vitro, se utilizará el método practico proyectual, que inicia con la elaboración de un manual, prosigue una descripción de los beneficiarios y termina con la defensa del proyecto ante el tribunal de grado designado por las autoridades del ISTS

11.4.1. Manual de procedimiento mediante cultivo in vitro

La propuesta se va a realizar en un documento que va a constar de:

- Caratula: contiene tema central, nombre de la carrera, nombres de los autores
- Introducción
- Objetivos
- Procedimiento
- Resultados

Tabla 1

Descripción de la socialización del manual.

Fecha y Hora	Tema	Método	Recurso	Resultados esperados
Por definir	Manual de procedimiento mediante cultivo in vitro	Código auditivo Código visual	- Material de apoyo -Computadora -Evidencia fotográfica -Recurso Humano - Presencial	Que la audiencia comprenda como realizar una práctica de cultivo in vitro

Nota. Cronograma hecho por los autores

12. Resultados

12.1. Fase I: Preliminar

Para el cumplimiento del primer objetivo denominado: Realizar un levantamiento de información primaria a través de entrevistas a funcionarios que laboran en la reproducción de cultivos in vitro para conocer la importancia de la conservación ex situ, se utilizara el método fenomenológico que inicia con la aproximación a funcionarios que laboran en biotecnologías, continua con la aplicación de entrevistas y finaliza con la redacción de fundamentos importantes.

12.1.1. Instituciones que aplican biotecnología en la ciudad de Loja

Universidad Nacional de Loja

Aplicamos nuestra entrevista a la MGS. Magali Yaguana, docente del laboratorio de micropropagación vegetal de la universidad, ella nos explicó y detallo cada una de las preguntas que le realizamos a continuación.

1. ¿Cuáles son las principales medias de asepsia que toman al momento de realizar el proceso de cultivo in vitro?

Un día antes de la practica en el laboratorio les decimos a nuestros estudiantes que vengan bien aseados, claro que todos deben estar libres de enfermedades virales como por ejemplo la influenza ya que estos podrían alterar la asepsia del entorno, una vez que los estudiantes llegan, se cambian el calzado se quitan todos los accesorios como manillas, y anillos posteriormente se colocan su mandil, y cofia, todos seguimos el mismo protocolo de bioseguridad donde especificamos que no se puede comer, fumar y también se indica que no podemos sacarnos la mascarilla, seguidamente nos lavamos las manos y colocamos alcohol al 70% lo mismo realizamos con los mesones ya que la desinfección debe ser en todo el entorno de trabajo.

Con respecto a los suelos estos son limpiados con desinfectante aromático, dentro de nuestro laboratorio no empleamos cloro ya que esta solución puede ser corrosiva para las superficies de los equipos que tenemos aquí, como el autoclave y el microondas, todo esto con respecto a la entrada del laboratorio, donde se puede ingresar con los estudiantes y más personas, ahora para el ingreso a las áreas más internas del mismo como el cuarto de luz donde van creciendo los explantes o el cuarto de inoculación y siembra, solo puede ingresar una sola

persona, el evaluador, ya que si ingresan más personas puede provocar que varios patógenos puedan ingresar y contaminar nuestros medios de cultivo.

2. Al adentrarnos un poco en los minerales y sustancias que usan, ¿el agar es su principal agente gelificante o han usado algún otro?

Si, el agente gelificante que usamos es el Bacto Difco agar, este es muy versátil además que no tiene ningún nutriente y por ende no altera nuestro medio de cultivo.

3. ¿Cuáles son los micro y macro nutriente principales para estos cultivos?

Existen diferentes medios de cultivo como el Knudson C (KC) y el de Murashige & Skoog (Ms). El medio de cultivo más utilizado en nuestro laboratorio ya que se adapta a diversas especies vegetales es el medio de Murashige & Skoog (Ms), está compuesto por 14 sales nutritivas, rico en nitratos y macronutrientes, las cantidades de los mismos varían dependiendo la especie ya que no podemos utilizar el mismo para una especie arbórea como la chinchona a una especie ornamental como la orquídea.

4. ¿Las sustancias que usan son las mismas para cada proceso de reproducción in vitro?

No, al igual que en el los macro y micronutrientes que se utilizan en el medio de cultivo las sustancias reguladoras de crecimiento como las hormonas van a variar dependiendo el resultado morfológico que queramos obtener, ya sea enraizamiento, como formación de tejidos o tallos, todas las cantidades que usamos las experimentamos en base a ensayos ya que por medio de todos los protocolos podemos saber cuáles son las cantidades necesarias para cada especie.

5. ¿Qué condiciones serían prioritarias (humedad, temperatura, horas de luz y obscuridad) para realizar la reproducción in vitro? ¿Esta varía dependiendo la especie?

Todas las áreas internas del laboratorio tienen una función, el cuarto de luz o incubación donde mantenemos los explantes cuenta con anaqueles que tienen un sistema de luces automatizado para dar 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, estos foto periodos nos ayudan al proceso de brotamiento, multiplicación, elongación y enraizamiento, pero cuando queremos formar callos en el explante debemos darles obscuridad total, es por eso que tenemos cajas negras las cuales hemos hecho de cartulina para aislarlos de la luz de los anaqueles. Con respecto a la temperatura a los que están sometidos nuestros explantes van desde los 22°C hasta

los 25°C si esta llega a superarse, encendemos los aires acondicionados que están colocados uno a cada lado, con la finalidad de bajar la temperatura.

La humedad que tenemos en el cuarto es de 75% podríamos decir que esta es relativa, en cambio a la que están expuestos los explantes dentro del frasco puede ser superior al 90% hasta un 100% dentro de este existe transpiración, es por eso que al momento de sub-cultivarlas a campo necesitan una aclimatación donde se las retira paulatinamente a un sustrato poroso como la turba cambiando poco a poco la humedad relativa en la que están acostumbradas para que sus estomas maduren y estas sean capaces de realizar la fotosíntesis por si solas, ya que al estar dentro del medio de cultivo ellas toman los nutrientes directamente y no realizan este proceso.

6. ¿Considera que este tipo de procesos se los pueda llevar a cabo dentro de un ambiente casero tomando en cuenta todos los procesos de asepsia?

Si, de hecho, a partir de la pandemia se evidencio varios emprendimientos donde se recrearon estos procesos en un ambiente dentro de casa donde se conservan las medidas de higiene básicas para realizar este proceso, incluso yo he visto mediante videos que sustituyen el uso de la autoclave por ollas de presión, se proveen de agua destilada ya que esta es indispensable para todos los procesos, he visto que lo realizan con distintas especies claro que los volúmenes de reproducción serán menores.

7. Considera usted ¿qué el proceso de micropropagación vegetal es de importancia para la conservación de especies de forma ex situ?

Claro que sí, de hecho una forma de mantener el germoplasma de especies amenazadas, en peligro de extinción, o que hayan perdido poblaciones muy importantes en campo, una forma de mantenerlas es así, por medio de cultivos in vitro, claro que hay ventajas y desventajas, pero una de las ventajas más significativa es que para poder conservar estas especies dentro de bancos de germoplasma in vitro no necesitamos de grandes extensiones de terreno a diferencia de las condiciones in situ, tampoco necesitamos de personal que este constantemente monitoreando las plantas en campo cuidándolas de plagas o distintos factores que pueden alterar su crecimiento, todos los nutrientes que necesitan están en el medio de cultivo y pueden permanecer la cantidad de años que el investigador considere necesario obviamente haciendo subcultivos.

Claro que hay que mencionar que existe un periodo de decadencia de las especies por ejemplo nosotros logramos determinar en nuestro laboratorio, que del material vegetal

introducido podemos realizar hasta 10 subcultivos sin perder las características propias del material vegetal progenitor, ya que después el material se deteriora, las hojas empiezan a cambiar de forma, textura, los tallos tienden a ser muy gruesos entre otras variables.

8. ¿Se han ejecutado procesos de reproducción in vitro de la especie *Guzmania bromeliácea*?

No, con bromelias no hemos trabajado, con otras especies de ornamentales sí.

9. ¿Cuántos tipos de plantas han reproducido por este medio?

Nosotros hemos reproducido gran variedad de especies por este método, como por ejemplo la *Cinchona pubescens*, cedro, algarrobo, café, papa, papaya, en ornamentales como orquídeas de diferentes especies y gloxíneas.

10. Que recomendaciones nos podría brindar para realizar nuestros cultivos en la especie *guzmania bromeliácea*.

La primera recomendación es que debemos tener una área cerrada que no hayan corrientes de viento que puedan traer esporas de polvo o algo parecido, mesones de acero o de cerámica, un lava manos dentro de la habitación, es indispensable el destilador para el agua, ya que comprar agua destilada es muy costosa, el autoclave el cual sustituimos por la olla de presión y vidriería a prueba de calor, adaptar una área de incubación, como por ejemplo una caja de vidrio que resista calor ya que dentro de ella estará un mechero de alcohol, para la desinfección del explante realice un enjuague con alcohol al 70% en un recipiente, y después con el agua destilada, posteriormente colocamos en 70ml de agua destilada una solución de 30ml de hipoclorito de sodio al 5% el cual es cloro convencional junto con dos gotas de jabón de manos para romper la tensión superficial, la colocamos 15 minutos, siempre agitando el recipiente para que todas las superficies sean alcanzadas con la solución.

Después hacemos 3 enjuagues con agua destilada, y previo a esto usted debe tener hecho el medio de cultivo, para este le recomiendo que utilice agua destilada y autoclaveada, incluso puede comprar las formulaciones ya hechas para el medio de cultivo, pero todo depende de los resultados que quiera alcanzar, ya que estas a veces nos sirven para desarrollar ciertas partes de las plantas, por ejemplo yo disuelvo esta solución en 100ml de agua destilada para después autoclaverarla y distribuirla en los recipientes es súper sencillo trabajar con estas soluciones, solo que ya le tocaría experimentar cual es la que mejor les convenga para su explante. Para la germinación utilice MS y agréguele 200ml de agua de coco ya que esta tiene muchos nutrientes y citocinas las cuales ayudan en la germinación.

Universidad Técnica Particular de Loja

Aplicamos nuestra entrevista al Ing. Máximo Moreira docente del laboratorio de biotecnología vegetal y ambiental, él nos explicó y detallo cada una de las preguntas que le realizamos a continuación. También nos indicaron todas las instalaciones del laboratorio y con ello varios cultivos que están realizando.

1. ¿Cuáles son las principales medias de asepsia que toman al momento de realizar el proceso de cultivo in vitro?

Nosotros tenemos equipos de limpieza para nuestra área, desde las escobas y los trapeadores, tenemos uno para cada área dentro del laboratorio para que de esta forma no entre ningún patógeno exterior, para empezar con el proceso realizamos una limpieza total de todos los equipos y áreas de trabajo, como por ejemplo las mesas, estas las limpiamos con agua y jabón y utilizamos también cloro al 1%, otro punto muy importante es el transporte del explante, nosotros recomendamos traerlo en fundas de papel, y en un cooler para que puedan mantener la temperatura, claro que esto también depende de la distancia que vengan, después realizamos la desinfección con abundante agua y jabón, colocamos el explante en distintos frascos de alcohol y cloro, todo depende de la resistencia del tejido.

2. Al adentrarnos un poco en los minerales y sustancias que usan, ¿el agar es su principal agente gelificante o han usado algún otro?

Si, el agar es la principal sustancia que nosotros empleamos en nuestro laboratorio, claro que también existen otras gelatinas, hemos realizado ensayos, pero no son tan efectivos como el agar.

3. ¿Cuáles son los micro y macro nutrientes principales para estos cultivos?

El que más utilizamos nosotros es el MS, ya que este es el más generalista y se adapta a distintas especies, claro que también existe el KC y dicen que este es el más apto para orquídeas, sin embargo, en laboratorio hemos comprobado que el MS se adapta muy bien a esta especie

4. ¿Las sustancias que usan son las mismas para cada proceso de reproducción in vitro?

Si utilizamos el MS para todos nuestros cultivos, todas las sales son las mismas, lo que varía son las cantidades que se le añaden según los requerimientos de cada especie vegetal.

5. ¿Qué condiciones serían prioritarias (humedad, temperatura, horas de luz y obscuridad) para realizar la reproducción in vitro? ¿Esta varía dependiendo la especie?

Desde el inicio nosotros controlamos todas las variantes posibles en el medio de cultivo, desde el PH, para la luz la controlamos por medio de una sistematización de lámparas en los estantes que tenemos en el laboratorio, a esta la mantenemos desde 12 a 16 horas luz, y mantenemos la temperatura en 24°C esta la mantenemos con un aire acondicionado y un termostato que nos indica cuando esta se eleva para poder regularla por medio del aire acondicionado.

6. ¿Considera que este tipo de procesos se los pueda llevar a cabo dentro de un ambiente casero tomando en cuenta todos los procesos de asepsia?

Sí, claro que lo más correcto es realizarlo en un laboratorio, pero yo he evidenciado hace mucho tiempo en Cuenca, un señor que propagaba orquídeas en su casa, claro que la clave de esto es tener un ambiente estéril en una habitación solo para realizar este proceso, existe el cuarto de siembra, este debe ser pequeño e iluminado, también se debe contar con superficies lisas como los mesones, y si no se tienen basta con mesa y una cámara de vidrio. El cuarto de crecimiento el cual debe tener las condiciones para que los explantes puedan crecer. Existen muchos ensayos y me han contado buenas experiencias realizando estos procesos.

7. Considera usted ¿qué el proceso de micropropagación vegetal es de importancia para la conservación de especies de forma ex situ?

Completamente, ya que por medio de estos se pueden tener grandes volúmenes de la especie que necesite una repoblación. Genéticamente se las puede mejorar y hacerlas altamente más productivas.

8. ¿Se han ejecutado procesos de reproducción in vitro de la especie *Guzmania* bromeliácea?

No exactamente la especie *Guzmania*, pero hace muchos años reproducimos bromelias, con estas utilizamos explantes foliares, yemas axilares y meristemos apicales, Para las yemas axilares y meristemos apicales se evaluaron dos tratamientos basados en el medio de Murashige y Skoog (MS) suplementado con auxinas y citocininas, obtuvimos buenos resultados, excepto por los explantes foliares los cuales no resultaron.

9. ¿Cuántos tipos de plantas han reproducido por este medio?

Hemos reproducido bromelias, diferentes especies de orquídeas, como la Vainilla con la cual estamos experimentando, pitajaya, café arábica, cascarilla con esta en especial estamos realizando una repoblación ya que en pandemia esta descendió mucho.

10. ¿Qué recomendaciones nos podría brindar para realizar nuestros cultivos en la especie *guzmania bromeliácea*?

Primero deben investigar mucho a la especie, para saber cuáles son las demandas que esta tiene, tanto nutricionales, temperatura, humedad etc. Arriesgarse a realizar este proceso en un medio de cultivo adecuado, deben saber si van a empezar con tejido vegetal o semillas, adecuar las condiciones y guardar la asepsia que se debe tener y realizar sus ensayos.

12.1.2. Análisis de las respuestas de las dos entrevistas

A continuación, analizaremos las respuestas de manera conjunta de los docentes entrevistados para de esta forma tener puntos claves que nos ayuden en nuestra experimentación:

En la primera pregunta, *¿Cuáles son las principales medias de asepsia que toman al momento de realizar el proceso de cultivo in vitro?* Podemos deducir que en las dos instituciones realizan una desinfección especial para cada área de trabajo, cada una cuenta con protocolos y diferentes materiales de aseo propias para el laboratorio, a su vez los estudiantes como docentes cuentan con vestimenta y calzado adecuado, todos estos detalles aunque no parezcan muy relevantes, son de vital importancia para que el proyecto tenga éxito, es por eso que los especialistas nos explican que gran parte de la viabilidad depende de las condiciones controladas que se tienen al momento de realizar el medio de cultivo y desinfección del explante.

En la segunda pregunta, *Al adentrarnos un poco en los minerales y sustancias que usan, ¿el agar es su principal agente gelificante o han usado algún otro?* Nos explicaron que esta sustancia denominada Bacto Difco agar es la más recomendable para realizar estas experimentaciones, el Ing. Máximo Moreira nos manifestó que si han experimentado con otras gelatinas pero no han tenido buenos resultados, a su vez la Mgs, Magali Yaguana nos argumenta que el agar es una sustancia libre de nutrientes o cualquier otra sustancia que pueda alterar el medio de cultivo, es por eso que al realizar la experimentación con otras sustancia gelatinosas puede que no existan los mismos resultados claro que también depende de la asepsia de la misma.

En la tercera pregunta *¿Cuáles son los micro y macro nutrientes principales para estos cultivos?* Los docentes nos explicaron que existen diferentes medios de cultivo como el Knudson C (KC) y el de Murashige & Skoog (MS) especificándonos que la solución de medio de cultivo que más se adapta a sus experimentaciones es el medio MS ya que al tener 14 sales nutritivas lo hace más eficiente para diferentes tipos de especies que se deseen reproducir.

En la pregunta cuatro *¿Las sustancias que usan son las mismas para cada proceso de reproducción in vitro?* Ellos nos indicaron que las sustancias que se usan son las mismas del medio de cultivo, pero varían las cantidades, la Mgs. Nos explicó que existen diferentes tipos de hormonas que nos ayudan a desarrollar la raíz, tejidos, hojas etc. Al añadir estas sustancias y dependiendo los objetivos del proyecto cambiarían las formulaciones del mismo.

En la pregunta cinco *¿Qué condiciones serian prioritarias (humedad, temperatura, horas de luz y oscuridad) para realizar la reproducción in vitro? ¿Esta varía dependiendo la especie?* Nos respondieron que para cada área existen las condiciones necesarias, existen reguladores como lámparas automatizadas que controlan fotoperiodos de luz y de oscuridad para los explantes también cuentan con aires acondicionados que ayudan a tener una temperatura apta para los cultivos, en cuanto a la humedad, cada frasco cuenta con una humedad aproximada de 100 la cual es óptima para cada uno. Además, las condiciones pueden varias dependiendo los requerimientos que necesitemos, por ejemplo, si deseamos que el explante desarrolle callos, a este lo debemos mantener en completa oscuridad, todas estas variantes las debemos variar e investigar para cada especie.

En la pregunta seis *¿Considera que este tipo de procesos se los pueda llevar a cabo dentro de un ambiente casero tomando en cuenta todos los procesos de asepsia?* En concordancia, los docentes nos indicaron que este proceso si es viable desde un ambiente casero, obviamente la abundancia que tendrá la reproducción no será la misma, pero si se toman todas las medidas de asepsia y se controlan las variantes que pueden alterar la experimentación este sí tendría éxito.

En la pregunta siete *Considera usted ¿qué el proceso de micropropagación vegetal es de importancia para la conservación de especies de forma ex situ?* Nos respondieron que sí, puesto que de esta forma se puede obtener abundancia poblacional de una especie que esté en peligro de extinción o que por alguna condición antropogénica se vea afectada, y también por existen varias ventajas como el no necesitar una gran cantidad de terreno o de personal para su reproducción.

En la pregunta ocho ¿Se han ejecutado procesos de reproducción in vitro de la especie *Guzmania* bromeliácea? La Mgs. Magali Yaguana nos manifestó que no han experimentado con bromelias, y el Ing. Máximo Moreira, nos explicó que, si han trabajado con bromelias, pero no específicamente con *Guzmania*.

En la pregunta nueve ¿Cuántos tipos de plantas han reproducido por este medio? Los docentes nos manifestaron que han reproducido las siguientes especies.

Tabla 2

Especies reproducidas por medio de cultivo in vitro en las instituciones UNL-UTPL

Especies	UTPL	UNL
Bromelias	x	
Orquídeas	x	x
Vainilla	x	
Pitajaya	x	
Café	x	x
Cascarilla	x	x
Cedro		x
Algarrobo		x
Papa		x
Papaya		x
Gloxíneas		x

Nota. Especies nombradas por los docentes entrevistados que han sido reproducidas en los laboratorios.

Aquí podemos observar que en las dos universidades han reproducido orquídeas, ya que realizar experimentación con esta especie se aprenden fundamentos básicos del tema, tanto en la universidad técnica como en la universidad nacional han reproducido cascarilla esto como una medida de repoblación a consecuencia de la pandemia debido a que se creía que al mezclar la cascara de este árbol con aguardiente se disminuían los síntomas que causaba el Covid.

También reproducen café este en particular es muy importante en la ciudad de Loja ya que el consumo del mismo es de 289,974 tazas por día y tomando en cuenta los 145,604

habitantes el 74% escoge su café por el aroma y procedencia, por ende, es de vital importancia preservar estas semillas y plántulas de las cuales puede salir un café de especialidad que cumpla con los estándares de la población entonces podríamos decir que, el cultivo in vitro es una de las técnicas que ayudan a la conservación y mejora de las semillas (Alcívar, 2020).

En la pregunta número diez ¿Que recomendaciones nos podría brindar para realizar nuestros cultivos en la especie *guzmania* bromeliácea? La Mgs. Magali Yaguana nos dio diferentes recomendaciones que podemos realizar al momento de realizar la experimentación y antes de la misma, para poder conservar todas las medidas de asepsia posibles, el Ing. máximo Moreira nos supo manifestar que debemos investigar muchos puntos clases de la especie para darle las condiciones requeridas que necesita para reproducirse en condiciones in vitro.

12.2. Fase II: Georreferenciación y línea base

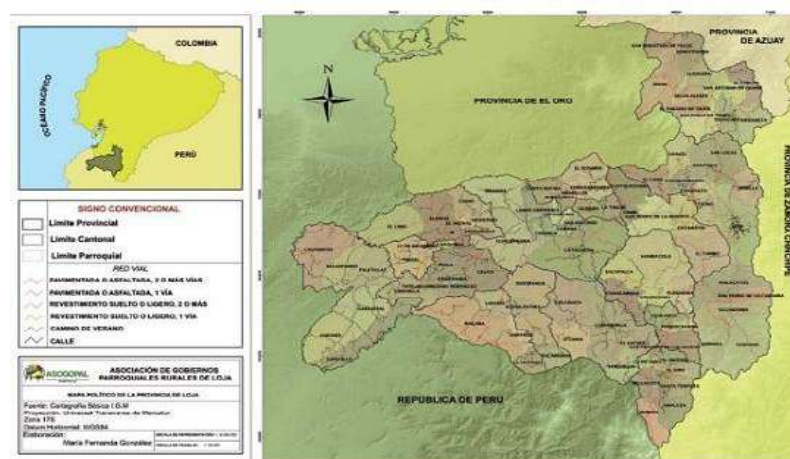
Para el cumplimiento del segundo objetivo: Identificar la zona de estudio mediante técnicas de georreferenciación y levantamiento de línea base para la colecta de la *guzmania* sp. Se utilizará el método hermenéutico que inicia con la búsqueda de información de estudio realizado, continua con la redacción de información en diferentes fuentes investigadas y finaliza con la redacción de fundamentos importantes.

12.2.1. Áreas de influencia

El proyecto se llevará a cabo en la ciudad de Loja ubicada entre las latitudes Sur: 03°19'49" y 04°45'00", constituye la provincia más austral del Ecuador. Tiene una superficie aproximada de 10.790 km² equivalente al 4% de la superficie del país.

Figura 5

Ubicación y división de la ciudad de Loja



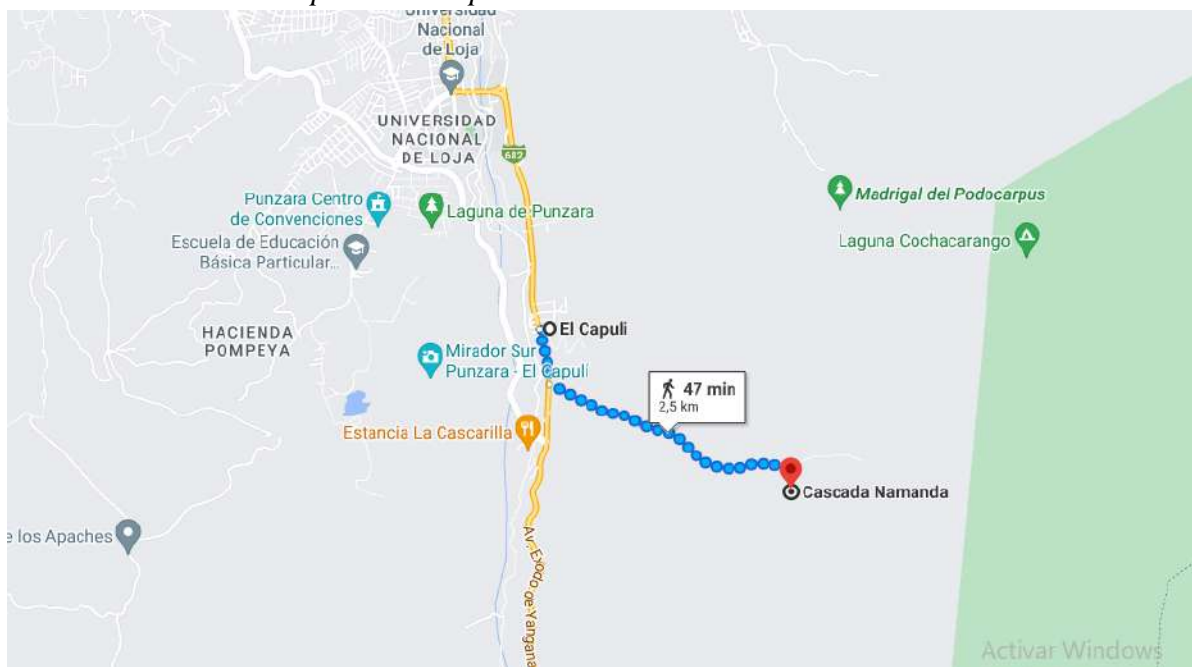
Nota. Mapa obtenido de González González Aníbal Eduardo

12.2.2. Área de influencia directa

La Cascada Namanda está ubicada en la ciudad de Loja, barrio El Capulí, vía que conduce a Vilcabamba a 8.7 kilómetros desde el terminal de Loja. Con coordenadas X: 9550884, Y: 702168, Z: 2333 m, luego de una hora de caminata desde la vía que conduce a Vilcabamba por un sendero definido se encuentra la cascada Namanda, donde se realizó la recolección de la *Guzmania* sp.

Figura 6

Camino del recorrido a pie desde capuli a la cacada namanda



Nota. Imagen obtenida de Google maps

12.2.3. Descripción del componente físico

Temperatura

La información de la estación Meteorológica “Loja – La Argelia” se justifica con el hecho de encontrarse dentro del sector del Área de Influencia del proyecto, Basados en la información que nos proporciona el PDOT del cantón Loja, (2020), el cantón Loja se ubica a altitud de 2100 msnm con una variación entre los 1200 msnm a 3800 msnm, posee un clima Ecuatorial Mesotérmico Semi Húmedo con una temperatura media de 15 °C, posee un clima cálido. En cuanto a pluviometría mediante el mapa bioclimático del estudio de Jiménez I, nos dice que el sector tiene un rango de precipitaciones isoyetas de 1000-1250 (Jiménez I, 2022).

Geología

Nuestro territorio por su origen presenta un sinnúmero de unidades geomorfológicas que tienen diferente origen genético que en nuestro cantón pueden ser tectónico erosivo, estructural, glaciario, tectónico, denudativo, fluvio lacustre, deposicional erosivo, erosivo o deposicional o acumulativo, a continuación, se detallan de acuerdo a este origen las diferentes unidades geomorfológicas presentes en el cantón Loja (PDOT, 2014).

Suelo

La litología del suelo está considerada entre, exquisitos verdes, graciosos, cuarcitas, génesis, meta andesitas, su formación es de rocas metamórficas indiferenciadas, es prácticamente impermeable ya que tiene porosidad intergranular y fisuración de rocas sin importancia hidrogeológica (Jiménez I, 2022).

Hidrología

En el sector de la cascada Namanda no existe mayor alteración antropogénica, la calidad del agua que baja de la cascada va disminuyendo a medida que se va encontrando con la población que viven aledaños a ella, ya que, al no existir una correcta recolección de la basura las personas proceden a botarla al río o la queman al igual que otras que desechan escombros. Esta microcuenca constituye 314,98 ha en la ciudad de Loja equivalente al 1,01% (Municipio de Loja, 2014).

Paisaje Natural

Se evidencia que la vegetación predominante en la zona corresponde a los tipos: Arbustal siempre verde montano del sur de los Andes, Bosque Siempre verde Montano Alto del Sur de la Cordillera Oriental de los Andes. Según la consultora ambiental Jiménez I, en su estudio realizado nos dice que

En cuanto a la Fragilidad del paisaje existe el sobrepastoreo por prácticas agrícolas y ganaderas, como también distintas actividades antropogénicas como la deforestación y quema de basura. Dentro de la calidad paisajística existen considerables extensiones intervenidas para establecimientos de áreas residenciales, los pastizales o herbazales son ecosistemas naturales han dado paso a los herbívoros y es por eso que gran parte de la fauna silvestre ha sido desplazada en beneficio de los animales domesticados. Entre estos últimos tenemos al ganado bovino, ovino y porcino.

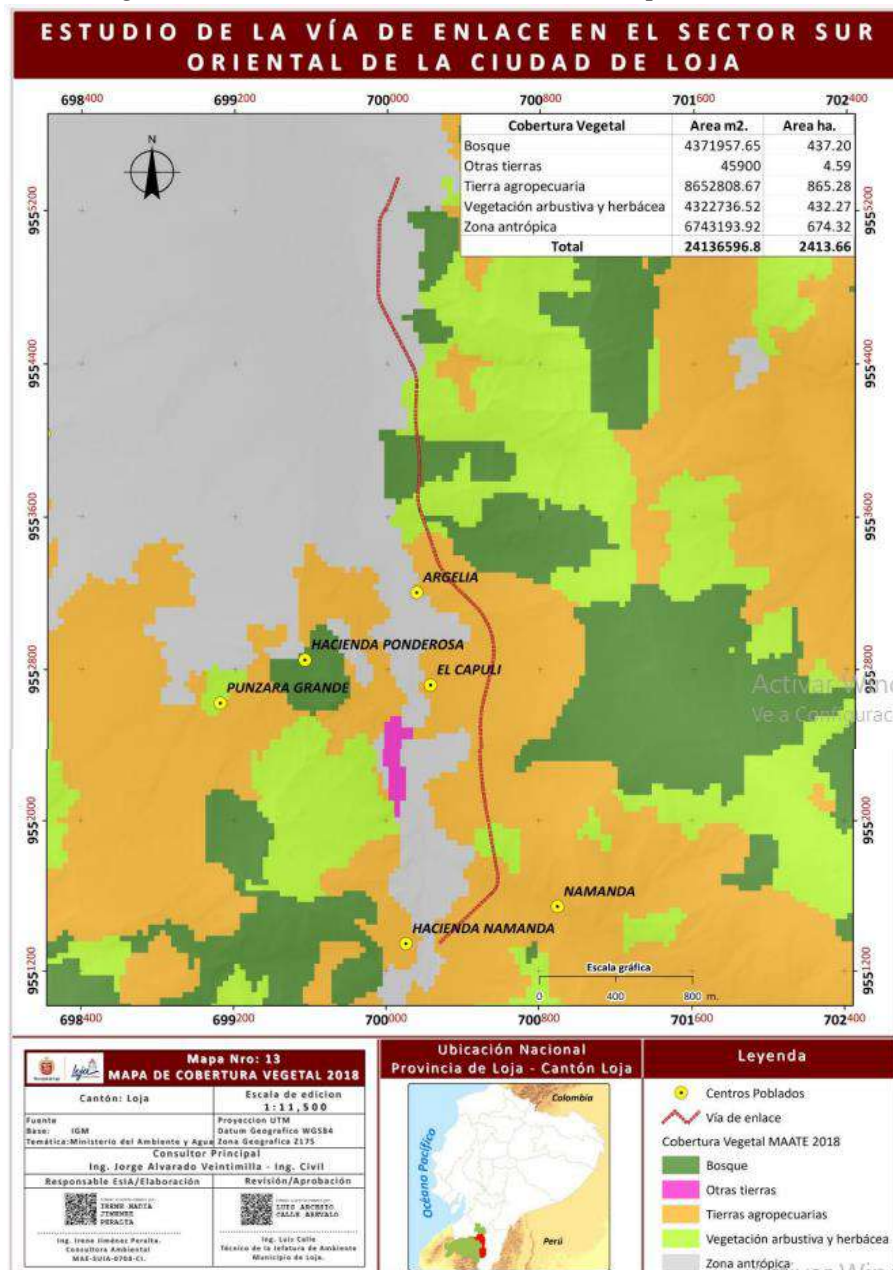
12.2.4. Factor Biótico

Cobertura Vegetal y/o Usos del Suelo

Para la zona del proyecto en donde se desarrolla la cascada Namanda se encontró que sus coberturas van desde Bosque natural, bosque plantado, matorrales, pasto, páramos y zona urbana, en el siguiente mapa se evidencia la cobertura vegetal de las tierras del sector Sur según el estudio de Jiménez I.

Figura 7

Usos de la cobertura vegetal del sector donde se recolectara la sp.



Nota. Imagen obtenida del estudio de la vía de enlace en el sector sur oriental

Flora

Para poder reconocer la flora que existe en el sector, se realizó un recorrido de aproximadamente 2.5 km desde la carretera del capulí hasta la cascada Namanda, junto con la ayuda de nuestros celulares tomamos fotografías de las especies que más predominan en el sector para luego reconocerlas por medio de una aplicación y búsqueda bibliográfica, de esta forma determinamos las especies que se encuentran en nuestra área de recolección, estas las clasificaremos por medio de la siguiente tabla.

Tabla 3

Clasificación de las plantas visualizadas

Familia	Género	Especie
BROMELIACEA	<i>Guzmania</i>	<i>Diffusa</i>
BROMELIACEA	<i>Mezobromeli</i>	<i>Fulgens</i>
POACEAE	<i>Chusque</i>	<i>Ascandens</i>
ARACEAE	<i>Anthurium</i>	<i>Mindense</i>
PODOCARPACE	<i>Prumnopitys</i>	<i>Montana</i>
PTERIDOPHYT	<i>Loxsomopsis</i>	<i>Pearcei</i>
PTERIDOPHYT	<i>Paesia</i>	<i>Glandulosa</i>
AMARANTHACEAE	<i>Alternanthera</i>	<i>porrigens</i>
CYPERACEAE	<i>Bulbostylis</i>	<i>capillaris</i>
MELASTOMATACEAE	<i>Tibouchina</i>	<i>laxa</i>
MIMOSACEAE	<i>Acacia</i>	<i>macracantha</i>
MYRTACEAE	<i>Eucalyptus</i>	<i>globulus</i>
PINACEAE	<i>Pinus</i>	<i>patula</i>
POACEAE	<i>Holcus</i>	<i>lanatus</i>
POACEAE	<i>Cortaderia jubata</i>	<i>(Lemoine) Stapf</i>
IRIDACEAE	<i>Sisyrinchium</i>	<i>chilense Hook</i>
CUPRESSACEAE	<i>Cupressus</i>	<i>cipre</i>
POACEAE	<i>Schizachyrium</i>	<i>Tenerum Nees</i>

Nota. Información obtenida con la ayuda de la aplicación Plantum.

Fauna

Para reconocer la fauna del sector nos basamos en la búsqueda bibliográfica, y también por medio de la observación de las especies que pudimos encontrar en el trayecto a la cascada

Namanda, en su mayoría se podía distinguir animales domésticos como vacas y ovejas, el sector pertenece a personas que viven en los alrededores, y por ende estos terrenos están destinados a ser pastizales ya que las personas que viven aledañas a este, se dedican en su mayoría criar ganado para la venta, según esto podemos destacar los siguientes.

Tabla 4

Mastofauna

Orden	Familia	Nombre científico	Nombre común
Rodentia	Muridae	<i>Mus musculus</i>	Ratón común
Rodentia	Sciuridae	<i>Sciurus granatensis</i>	Ardilla
Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Artibeus fraterculus</i>	Murciélago frutero

Nota. Información obtenida bibliográficamente y por medio de diálogos con los moradores.

Tabla 5

Avifauna

Orden	Familia	Nombre científico	Nombre común
Passeriformes	Troglodytidae	<i>Troglodytes aedon</i>	Chochín criollo
Passeriformes	Troglodytidae	<i>Troglodytes solstitialis</i>	Soterrey montañes
Passeriformes	Parulidae	<i>Cardellina canadensis</i>	Reinita collareja
Passeriformes	Emberizidae	<i>Zonotrichia capensis</i>	Chingolo
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Pyrrhomyias cinnamomea</i>	Mosquerito canelo
Passeriformes	Icteridae	<i>Sturnella bellicosa</i>	Pastorero peruano

Nota. Información obtenida bibliográficamente y por medio de diálogos con los moradores.

Tabla 6

Herpetofauna

Orden	Nombre científico	Nombre común
Hylidae	<i>Gastrotheca monticola</i>	Rana arborícola
Tropiuridae	<i>Stenocercus sp.</i>	Lagartija
Strabomantidae	<i>Noblella heyeri</i>	Rana 1

Nota. Información obtenida bibliográficamente y por medio de diálogos con los moradores.

Factor Socio-Económicos y cultural

Para la descripción socio-económico y cultural del Área, se utilizó información secundaria en especial los datos del Censo 2010.

Salud

En la zona de influencia directa no existe un centro de salud, en donde las personas puedan recibir atención médica.

Educación

Actualmente en el sector de El Capulí iniciando la ruta para llegar a la cascada Namanda, existe el colegio “UNIDAD EDUCATIVA PARTICULAR SAN GERARDO” sin embargo cerca a la cascada no existen unidades educativas.

Vivienda

A riveras del río en la parte alta donde más se acerca a la cascada no existen casas en conjunto, únicamente hay una vivienda que en el último año se ha construido muy cercana al río, en cambio, en lo alto de las montañas si existen viviendas, son alrededor de 4 a 5 viviendas las cuales están separadas.

Infraestructura física

Las casas aledañas son hechas de adobe, techo de teja y otras de zinc, en el último año se ha presenciado la llegada de extranjeros al sector, donde han comprado terrenos y han construido sus casas con métodos y técnicas más modernas.

Actividades productivas

En el inicio del camino hacia la cascada se puede observar un criadero avícola, a media que se avanza en el camino nos podemos encontrar con ganado el cual está destinado al comercio, también existen partes destinadas a la agricultura y crianza de porcinos.

Vías de Acceso

La carretera principal no está asfaltada y en su mayoría existen caminos hechos por las propias familias para poder movilizarse a las partes altas donde está distribuido el ganado.

12.3. Fase III: Experimentación

Para ejecutar el tercer objetivo denominado: Realizar la experimentación de reproducción por medio de explantes de *guzmania* sp, a través de la técnica de cultivo in vitro para determinar la viabilidad, se utilizará el método práctico proyectual que inicia con las prácticas de experimentación de cultivo in vitro, continua con la identificación de beneficios y culmina con el informe de los resultados obtenidos.

12.3.1. Obtención de los materiales y peso de los mismos

Para realizar nuestra experimentación se adquirió todos nuestros materiales mencionados a continuación, y posteriormente pesaremos todas las cantidades en una balanza analítica.

Reactivos

- | | | |
|---|---|--|
| • 30 gramos por litro de sacarosa | • Vinagre | • Cajas magentas o Frascos herméticos |
| • 150gr de macro y microelementos (fitohormonas auxinas y citoquininas) | • Cloro | • Jarra milimetrada |
| • 2,2 gramos por litro de Agar o gelatina en polvo | • Alcohol | • Licuadora |
| • Una banana mediana | • Bandas de pH | • Olla |
| • 1gr pastilla de tiamina | • Jabón líquido o detergente | • Balanza analítica |
| • 1gr Piridoxina | | • Toallas desechables |
| • 1gr Ácido Nicotínico o complejo B | Material vegetal, <i>Guzmania</i> sp | • Guates |
| • 250ml de Agua destilada | • Explantes | • Cofia |
| | • Hijuelos | • Mandil |
| | Materiales | • Mascarilla |
| | • 5 recipientes o fuente de plástico | • Caja de aluminio, está la podemos hacer forrando un cartón con papel aluminio, también puede ser una caja cerrada de plástico o vidrio |
| | • Pinzas | • Trapos |
| | • Embudo | • Olla de presión |
| | • Papel aluminio | • Papel film |
| | • Velas | |

Figura 8

Materia prima que se utilizó para producción del medio de cultivo (maduro)



Nota. Imagen obtenida por los autores

Figura 9

Materiales utilizados



Nota. Imagen obtenida por los autores

12.3.2. Preparación del ambiente estéril

Para este paso utilizamos el alcohol, jabón y unas gotas de cloro, luego de lavarnos las manos siguiendo los pasos correctos, procedemos a desinfectar nuestro medio, tanto el mesón como nuestra cámara donde realizaremos nuestro proceso, prenderemos las velas alrededor y colocaremos todos nuestros materiales dentro del ambiente estéril

Figura 10

Lavado de manos y desinfección objetos



Nota. Imagen obtenida por los autores

Figura 11

Esterilización del ambiente



Nota. Imagen obtenida por los autores

12.3.3. Esterilización de envases

Para continuar con este paso todos nuestros materiales estaban previamente desinfectados, luego esterilizamos nuestros embaces, lavándolos muy bien y colocándolos en la olla de presión, posteriormente los colocamos dentro de nuestro ambiente estéril.

Figura 12

Desinfección de los embaces



Nota. Imagen obtenida por los autores

Figura 13

Colocación de los embaces dentro de la cámara de asepsia



Nota. Imagen obtenida por los autores

12.3.4. Preparación del medio de cultivo

En la licuadora colocamos todos los ingredientes que mencionamos en el proceso del medio de cultivo. También medimos el PH para que este no afecte el crecimiento de nuestro explante.

Figura 14

Sustancias en la licuadora



Nota. Imagen obtenida por los autores

Figura 15

Banda medidora de Ph



Nota. Imagen obtenida por los autores

12.3.5. Colocación del medio de cultivo en los envases

En este paso con ayuda de un embudo colocamos la mezcla dentro de los recipientes previamente esterilizados luego los cerramos cuidando con el papel aluminio y esperamos a que gelifique.

Figura 16

Envasando el medio de cultivo



Nota. Imagen obtenida por los autores

12.3.6. Preparación del explante

Cuando realizamos este paso tratamos con mucho cuidado nuestros explantes y retiramos muy bien el jabón en cada lavado que se realizó. Luego de esto al explante solo se lo manipulo con las pinzas y así guardar la asepsia de los mismos.

Figura 17

Lavado de explantes



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

12.3.7. Siembra del explante en el medio de cultivo

Este paso lo realizamos todo dentro del área aséptica ayudándonos con las pinzas colocamos todos los explantes dentro del medio de cultivo y los cerramos correctamente con el papel fil. Posteriormente con una cinta les colocamos la fecha, hora y marcamos con letras para diferenciarlos de la “A” a la “J”.

Figura 18

Embaces listos



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Recipiente A: explante de la hoja

Recipiente B: explante de la hoja

Recipiente C: explante de la hoja

Recipiente D: yema axilar

Recipiente E: yema axilar

Recipiente F: yema axilar

Recipiente G: hijuelo

Recipiente H: hijuelo

Recipiente I: hijuelo

Recipiente J: hijuelo

12.3.8. Resultados obtenidos luego de la siembra

Luz y cuarto de cultivo

En nuestra área adecuada para la geminación y formación de callos colocamos los recipientes con hijuelos yemas axilares para que reciban 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, los recipientes que contienen explantes de las hojas los colocamos en cajas negras para que la luz no les afecte en el crecimiento. Fuimos monitoreando semana a semana desde el 19 de junio que realizamos la experimentación, los resultados que hemos obtenido son los siguientes, a continuación, detallaremos los cambios que sucedieron en un lapso de tiempo de 13 semanas.

Primera semana

Los explantes no han tenido ningún cambio, los hijuelos sembrados continúan con sus colores vivos y no presentan partes secas, la temperatura la hemos mantenido en 22 °C, la humedad dentro del frasco es bastante buena junto con los fotoperiodos.

Figura 19

7 días luego de la siembra



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

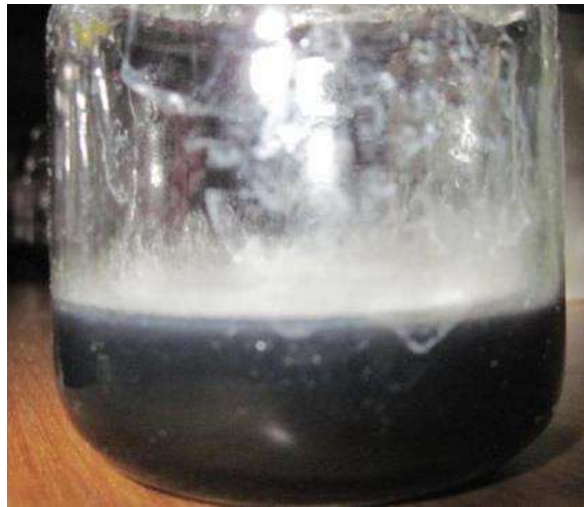
Segunda semana

Aquí existió un proceso de infección, dos recipientes “C” e “I” los cuales obtenían un explante de hoja (C) y un hijuelo (I) estaban infectados por moho lo que quiere decir que al momento de la siembra o desinfección se quedaron partículas que alteraron la asepsia del recipiente, al momento de observar esto procedimos a desechar los recipientes ya que si

permanecían dentro del área de asepsia podrían infectar al resto, la temperatura se ha mantenido en 24 °C al igual que los fotoperiodos.

Figura 20

Recipientes con moho



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Semana tres a la cinco

Dentro de estas semanas no existieron recipientes infectados, sin embargo, los hijuelos “G” “H” “J” y yemas “D” “E” “F” han tenido un ligero cambio, estos dan un tono verdoso y rojizo lo que indica que se están desarrollando con normalidad, la temperatura se ha mantenido en un margen de 22 °C a 24 °C, la humedad dentro de los frascos también es óptima, los explantes de hojas que se encuentran en la obscuridad no presentan ningún cambio.

Figura 21

Hijuelos sembrados



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Semana seis a la nueve

En este lapso de tiempo los hijuelos “H” y “G” han crecido ya que sus hojas en el envase G están por llegar a la tapa y en el envase H las hojas se han doblado sobrepasando la tapa, en los explantes de las hojas existe un cambio de coloración, su tono es más amarillento y los filos se secaron lo que indica que puede empezar la formación del callo. La temperatura no ha tenido variaciones bruscas siempre se mantiene de 22 °C a 24 °C. No ha existido mortalidad de ningunos de los explantes y la humedad se conserva relativamente buena.

Figura 22

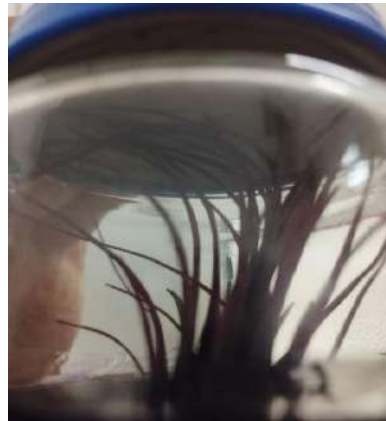
Crecimiento de los hijuelos



Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Semana diez a la trece

No ha existido índice de mortalidad en ninguna de estas semanas, los hijuelos han mantenido su crecimiento, los explantes de las hojas también han mantenido su color no ha tenido gran cambio desde la última observación, el proceso de formación de callos es muy incierto puesto que estos pueden formarse en un lapso de tiempo mayor, nuestros explantes tienen buen aspecto y se pueden seguir desarrollando con el paso del tiempo, las yemas “D” y “F” también han crecido alrededor de un centímetro desde de la siembra.

Figura 23*Hijuelos*

Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Figura 24*Explantes de las hojas*

Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Figura 25*Yemas sembradas*

Nota. Imágenes obtenidas por los autores

Conclusiones y discusión de los beneficios

Al culminar el tiempo establecido para realizar nuestra experimentación podemos deducir que el método de Murashige y Skoog complementado con fitohormonas como las auxinas y citoquininas que estaban dentro de los macro y microelementos son las más aptas para realizar el proceso de cultivo in vitro en la especie de bromelia *guzmania*.

Informe de la práctica

Para cumplir con el tema “evaluación de la reproducción in vitro de la especie *guzmania* (bromeliácea) mediante explantes, como estrategia de conservación de epifitas en la ciudad de Loja durante el año 2023” se realizó la practica anteriormente mencionada y los resultados que se obtuvieron fueron

- *Primera semana:* no se obtuvo ningún cambio en ningún recipiente.
- *Segunda semana:* Aquí existió un proceso de infección, dos recipientes “C” e “I” los cuales obtenían un explante de hoja (C) y un hijuelo (I) estos fueron desechados.
- *Tercera a quinta semana:* Dentro de estas semanas no existieron recipientes infectados, sin embargo, los hijuelos “G” “H” “J” y yemas “D” “E” “F” han tenido un ligero cambio, estos dan un tono verdoso y rojizo lo que indica que se están desarrollando con normalidad.
- *Sexta a la novena semana:* los hijuelos “H” y “G” han crecido un centímetro y medio, en los explantes de las hojas existe un cambio de coloración, su tono es más amarillento y los filos se secaron lo que indica que puede empezar la formación del callo.
- *Decima a la décimo tercera semana:* No ha existido índice de mortalidad en ninguna de estas semanas, los hijuelos han mantenido su crecimiento, los explantes de las hojas también han mantenido su color no ha tenido gran cambio desde la última observación, las yemas “D” y “F” también han crecido alrededor de un centímetro desde de la siembra.

Cabe recalcar que la temperatura dentro de estas semanas se la mantuvo entre 22 °C a 24°C la humedad relativa que se tenía dentro de los frascos estaba entre 90% a 100% los fotoperiodos que se tenían era de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, los frascos que tenían explantes de hoja permanecieron en completa oscuridad en cajas negras.

12.4. Fase IV: Socialización del manual de procedimientos

Para cumplir el cuarto objetivo: Socializar a los estudiantes y docentes de la tecnología superior en desarrollo ambiental los resultados a través de la presentación de un manual de procedimiento mediante cultivo in vitro, se utilizará el método práctico proyectual, que inicia con la elaboración de un manual, prosigue una descripción de los beneficiarios y termina con la defensa del proyecto ante el tribunal de grado designado por las autoridades del ISTS.

12.4.1. Manual de procedimiento mediante cultivo in vitro

A continuación, realizamos un manual donde se explica paso a paso como realizar un proceso de reproducción in vitro, con los hijuelos de una bromelia *guzmania* como también con los explantes que se pueden extraer de la misma, se detallarán algunas de las variables que pueden llegar afectar el medio de cultivo y también se enseñarán varios datos que pueden servir para cultivar una especie de forma casera, para la socialización de este manual se llevó a cabo un cronograma donde especificamos el día y los materiales necesarios que se utilizaron.

Tabla 7

Descripción de la socialización del manual ya con fecha definida.

Fecha y Hora	Tema	Método	Recurso	Resultados esperados
13/09/2023	Manual de procedimiento sobre cultivo in vitro	Código auditivo Código visual	- Material de apoyo -Computadora -Evidencia fotográfica -Alumnos - Presencial	Que la audiencia comprenda como realizar una práctica de cultivo in vitro

Nota. Cronograma hecho por los autores

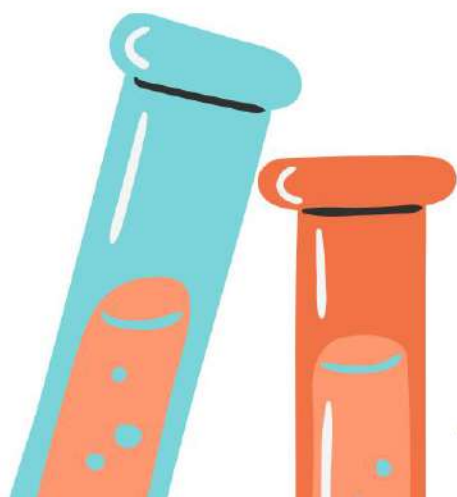


MANUAL SOBRE LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIACEA) JUNIO 2023

Autores

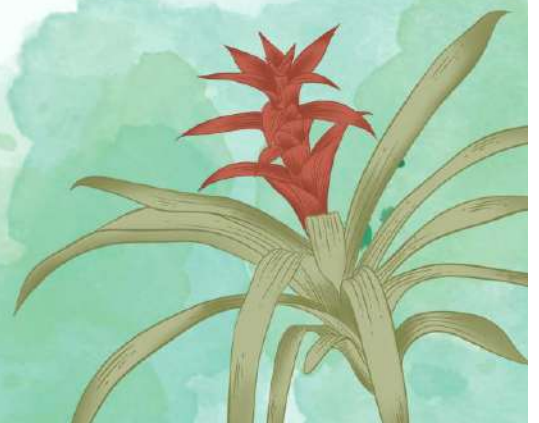
Benavides Edith

Lozada Oscar



Índice

Introducción	página 2
Objetivo	página 3
¿Qué significa in vitro?	página 4
Materiales	página 5
Esterilización de envases	página 6
Preparación del medio de cultivo	página 6
Preparación del explante	página 7
Siembra del explante en el medio de cultivo	página 8
Luz y cuarto de cultivo	página 8
Imágenes del proceso	página 9
Resultados	página 10
Conclusiones	página 11.





Introducción

Cuando hablamos de especies vegetales a veces no nos percatamos de la gran importancia que tienen dentro de nuestra cadena alimenticia, y por eso el hombre, algunas veces, inconscientemente destruye su hábitat y con ello distintas especies que pueden estar en peligro de extinción.

Se conoce que el grupo de las bromelias es uno de los más sensibles a la destrucción y fragmentación de los bosques es por eso que la conservación de plantas epifitas tanto a nivel *in situ* como *ex situ* es muy compleja e importante.

La multiplicación por medio de cultivos *in vitro* han sido sin duda una de las mejores técnicas de conservación *ex situ*, ya que de esta forma se puede mantener el germoplasma de especies amenazadas, no necesitamos de grandes extensiones de terreno a diferencia de las condiciones *in situ*, tampoco necesitamos de personal que este constantemente monitoreando las plantas en campo cuidándolas de plagas o distintos factores que pueden alterar su crecimiento, todos los nutrientes que necesitan están en el medio de cultivo y pueden permanecer la cantidad de años que el investigador considere necesario obviamente haciendo subcultivos.

Objetivo

Demostrar a los estudiantes y docentes de desarrollo ambiental del ISTS una nueva técnica de reproducción y multiplicación in vitro casero mediante la experimentación con un cultivo de bromelia guzmania

¿Qué significa in vitro?

La expresión cultivo in vitro de plantas, significa cultivar dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, patógenos etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular en condiciones de laboratorio sea posible, actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas es mucho mas factible ya que existen artefactos que nos ayudan a controlar la temperatura, horas de luz, como tambien proporcionar los nutrientes que las plantas necesiten por medio del medio de cultivo de este modo se pueden crear condiciones optimas para especies que se encuentren amenazadas. (Castillo A, 2017).



Reactivos

- 30 gramos por litro de sacarosa
- 150gr de macro y microelementos (fitohormonas auxinas y citoquininas)
- 2,2 gramos por litro de Agar o gelatina en polvo
- Una banana mediana
- 1gr pastilla de tiamina
- 1gr Piridoxina
- 1gr Ácido Nicotínico o complejo B
- 250ml de Agua destilada
- Vinagre
- Cloro
- Alcohol
- Bandas de pH
- Jabón líquido o detergente

Material vegetal, *Guzmania* sp

- Explantes
- Hijuelos

Materiales

- 5 recipientes o fuente de plástico
- Pinzas
- Embudo
- Papel aluminio
- Velas
- Cajas magentas o Frascos herméticos
- Jarra milimetrada
- Licuadora
- Olla
- Balanza analítica
- Toallas desechables
- Guates
- Cofia
- Mandil
- Mascarilla
- Caja de aluminio, está la podemos hacer forrando un cartón con papel aluminio, también puede ser una caja cerrada de plástico o vidrio
- Trapos
- Olla de presión
- Papel film



PROCESO

Esterilización de envases

Para esto se necesita cajas magentas, pero también se puede utilizar frascos que tengan tapa, nosotros reutilizamos envases de compota, para poder usarlos necesitamos esterilizarlos correctamente.

1. Debemos lavar con abundante agua y jabón los frascos para sacar etiquetas y todos los residuos realizamos el mismo proceso de desinfección con las cajas magentas.

2. Una vez enjuagados los vamos a poner tapados, dentro de la olla de presión, esta debe estar con un trapo limpio en la parte inferior junto con agua hasta el nivel del trapo, encima irían los frascos y cerraremos hasta que la olla pite, apagaremos y esperamos a que enfríe.

Preparación del medio de cultivo

1. Colocaremos nuestra caja de aluminio o cámara de siembra esterilizada con alcohol y encendemos las velas al rededor, todos los procesos a continuación los realizaremos dentro de nuestro ambiente estéril.

2. Todos los compuestos en polvo se pesan en una balanza analítica.

3. Posteriormente vamos a colocar los 250ml de agua destilada en la licuadora, se agrega la sacarosa esperamos a que se disuelva bien y agregamos la pastilla de tiamina, 1gr Piridoxina, 1gr Ácido Nicotínico o complejo B, junto con el banano y licuamos.

4. Una vez que ya tenemos todos los elementos del medio de cultivo lo que vamos hacer es pasar el líquido a una jarra milimetrada y aforamos a 500ml

5. Luego ajustamos el pH a 6 para que al sufrir la hidrólisis después de la esterilización provocada por el calor el medio quede aproximadamente de 5,6.

6. Una vez que ya está completado el medio de cultivo sólo nos falta agregar la gelatina sin sabor o el agar, para que la gelatina se integre bien al medio de cultivo le aplicamos calor para luego dosificarlo en los recipientes que vamos a ocupar.

7. Sacamos los frascos de nuestra olla de presión y destapamos siempre pasando las tapas al abrir y cerrar por la vela, ponemos aproximadamente 40 mililitros del medio de cultivo en cada recipiente cerramos y sellamos con papel film, para finalizar colocamos los frascos en la refrigeradora y esperamos aproximadamente de 20 a 30 minutos para que solidifique.

Preparación del explante

1. Se utilizará dos partes de la planta, explantes de las hojas y/o la roseta, yemas axilares de la inflorescencia que están tiene.

2. Dentro de nuestra caja de aluminio o cámara colocamos 5 recipientes y dentro de ellos agua destilada, en el primero agregamos un chorro de vinagre, en el segundo detergente y dos gotas de cloro, en el tercer, cuarto y quinto frasco dejamos solo el agua destilada para proceder hacer los lavados.



3. Desde este momento vamos a tocar el explante solo con la pinza, lo colocamos por 10 minutos en el primer frasco, transcurrido el tiempo lo pasaremos al frasco número dos y repetimos el proceso, una vez pasado el tiempo procedemos a pasar al tercer frasco moviendo con la pinza el explante para que pueda lavarse durante un minuto y así sucesivamente con los siguientes frascos para que este tenga 3 lavados consecutivos y quitar todos los químicos que pueda tener.

4. Una vez limpio el explante lo colocaremos en un recipiente vacío dentro del ambiente estéril.

Siembra del explante en el medio de cultivo

1. Dentro de una caja de aluminio, procederemos a sembrar un trozo de explante por frasco, antes de tocarlo pasamos la pinza por la flama de la vela, cuando la hoja es grande primero se la corta en medias de 2x2 aproximadamente, siempre teniendo en cuenta que la vena principal pase por el corte, cuando el frasco es grande se ponen más explantes, pero en nuestro caso pondremos uno en cada uno.

2. Cerramos los frascos siempre pasando por la flama de la vela los cerramos y sellamos con papel film.

Luz y cuarto de cultivo

En nuestra área adecuada para la geminación y formación de callos se colocara los recipientes con hijuelos yemas axilares para que reciban 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, los recipientes que contienen explantes de las hojas se los colocara en cajas negras para que la luz no les afecte en el crecimiento. Iremos monitoreando semana a semana desde el 19 de junio que se realizara la experimentación, los resultados que obtendremos se detallaran después de las 13 semanas de incubación.

Imágenes del proceso



Se tiene que identificar todos los frascos con una letra o número, también colocamos la fecha y hora que se realizó la experimentación, para llevar un correcto seguimiento de todo el proceso que se dará en el transcurso de las semanas.

Resultados

Primera semana: no obtuvimos ningún cambio en ningún recipiente.

Segunda semana: Aquí existió un proceso de infección, dos recipientes "C" e "I" los cuales obtenían un explante de hoja (C) y un hijuelo (I) estos fueron desechados.

Tercera a quinta semana: Dentro de estas semanas no existieron recipientes infectados, sin embargo, los hijuelos "G" "H" "J" y yemas "D" "E" "F" han tenido un ligero cambio, estos dan un tono verdoso lo que indica que se están desarrollando con normalidad.

Sexta a la novena semana: los hijuelos "H" y "G" han crecido un centímetro y medio, en los explantes de las hojas existe un cambio de coloración, su tono es más amarillento y los fillos se secaron lo que indica que puede empezar la formación del callo.

Décima a la décimo tercera semana: No ha existido índice de mortalidad en ninguna de estas semanas, los hijuelos han mantenido su crecimiento, los explantes de las hojas también han mantenido su color no ha tenido gran cambio desde la última observación, las yemas "D" y "F" también han crecido alrededor de un centímetro desde de la siembra.

Cabe recalcar que la temperatura dentro de estas semanas se mantuvo entre 22 °C a 24°C la humedad dentro de los frascos estaba entre 90% a 100% los fotoperiodos que se tenían era de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, los frascos que tenían explantes de hoja permanecieron en completa oscuridad en cajas negras.

Conclusiones

Al culminar el tiempo establecido para realizar nuestra experimentación podemos deducir que el método de Murashige y Skoog complementado con fitohormonas como las auxinas y citoquininas que estaban dentro de los macro y microelementos son las más aptas para realizar el proceso de cultivo in vitro en la especie de bromelia guzmania.



Bibliografías

Paz, A. J. (23 de enero del 2023). Ecuador: minería ilegal ha arrasado con más de 25 hectáreas de bosque en el Parque Nacional Podocarpus. Mongabay Latam. <https://es.mongabay.com/2023/01/mineria-ilegal-menaza-al-parque-nacional-podocarpus-en-ecuador/>

Ríos, G. (2004). ECOLOGÍA DE LAS PLANTAS EPÍFITAS. [Archivo PDF]. Sánchez, D; <https://www.redalyc.org/pdf/629/62913142001.pdf>

Gaudencio S, Manzo G, Reymundo H., Alfredo J. Castellanos S, (2015). Propagación in vitro de orquídeas y otras ornamentales [Archivo PDF]. <https://www.redalyc.org/pdf/2%20631/263139243061.pdf>

(2017) Establecimiento in vitro de la bromelia Castañeda D, *Neoregelia carolinae* (Beer)L.B.Sm [Archivo PDF] <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/streams/9a654802-60d1-4f7b-9897-efc4d5c46d35/content>



Realizado por:

Edith Benaides

Loja, 06 de noviembre del 2023

12.4.2. Socialización a los estudiantes de la tecnología superior en desarrollo ambiental los resultados a través de la presentación de un manual de procedimiento de cultivo in vitro.

Para proseguir con nuestra última fase, demostraremos de manera virtual a los estudiantes nuestro manual de procedimiento para realizar una práctica de cultivo in vitro, se realizara de manera online ya que todos los estudiantes están de vacaciones y pueden conectarse por zoom.

Figura 26.

Explicación por zoom a los estudiantes



Nota. Captura obtenida al momento de la explicación

13. Conclusiones

- La conservación ex situ es muy importante y una pieza clave para reproducir especies que se encuentren amenazadas como también afirmamos en un 100% por respuesta de nuestros encuestado que este proceso si se puede realizar dentro de un ambiente casero.
- Por medio de la aplicación de GPS e investigación bibliográfica pudimos levantar las coordenadas del sector y también distintos factores como la temperatura las cuales son de 15°C lo cual nos sirvió para adecuar las condiciones de nuestra área de incubación, ya que esta siempre se la coloca mayor para aumentar la transpiración y por ende la humedad, ya que el sector tiene un rango de precipitaciones isoyetas de 1000-1250 con estos datos podemos concluir que la especie estudiada necesitara una temperatura mayor a los 15°C ya que debemos subirla al menos 10 °C para que la humedad relativa dentro del frasco aumente y este sude más ayudando a la transpiración y desarrollo de la planta.
- Mediante la experimentación confirmamos que la reproducción de la bromelia *guzmania* sp es viable, ya que los frascos “G” “H” y “J” los cuales contenían hijuelos crecieron y se mantuvieron en buenas condiciones las yemas “D” “E” y “F” también tuvieron un cambio, con los explantes de las hojas no se formaron callos en si ya que el periodo de tiempo para su formación es mayor todo esto fue mediante el método de Murashige y Skoog complementado con fitohormonas como las auxinas y citoquininas que estaban dentro de los macro y microelementos las cuales son las más aptas para realizar este procedimiento, todos estos nutrientes están en el medio de cultivo que se realizó al inicio junto con el agar.
- Mediante la socialización se presentó nuestro manual de procedimientos en base a técnicas de reproducción vegetal in vitro, esto permitió el 100% de interés por parte de los estudiantes de la tecnología de desarrollo ambiental, ya que el tema era nuevo para cada uno de ellos al saber que era una técnica de reproducción con grandes beneficios y aporte natural para la conservación ex situ.

14. Recomendaciones

- Mediante las entrevistas a expertos se despejaron todas las dudas que se tienen referente al tema ya que no es muy conocido, por eso se recomienda siempre investigar en fuentes confiables y preguntar a personas especializadas en la materia.

- Con la tecnología que existe hoy en día se logró escoger en aplicaciones que nos ayuden a la hora de realizar un levantamiento de coordenadas por eso se recomienda utilizar la que mejor se adapte al investigador y con ello entre las mejores reseñas.
- Se recomienda seguir paso a paso el proceso tanto de desinfección como de siembra para que no exista ningún factor que altere el medio de cultivo, también se recomienda estudiar la especie que se vaya a reproducir para saber cuáles son sus necesidades y se pueda adaptar a la especie que se desee reproducir.
- Se recomienda que el material didáctico para la presentación sea llamativo también dar pautas y pasos claves para que el proyecto tenga éxito desde casa.

15. Referencias

- Acosta, M. B. (20 de enero del 2021). *DIFERENCIA entre PLANTAS VASCULARES y NO VASCULARES* -Ecología Verde. <https://www.ecologiaverde.com/diferencia-entre-plantas-vasculares-y-no-vasculares-3179.html#anchor0>
- Castellanos S, Gaudencio S, Manzo G, Reymundo H., Alfredo J. (2015). *Propagación in vitro de orquídeas y otras ornamentales* [Archivo PDF]. <https://www.redalyc.org/pdf/2%20631/263139243061.pdf>
- Gonzales M, Luna C, Medina R. (02 de febrero del 2016). *Reproducción Asexual o Multiplicación vegetativa*. <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/multiplicacionvegetativa.htm>
- Hancock L. (2009). *Especie cuya supervivencia está en riesgo por la acción de los seres humanos*. [Archivo PDF]. <https://www.worldwildlife.org/descubre-wwf/historias/la-degradacion-de-los-bosques-por-que-afecta-a-las-personas-y-lavidasilvestre#:~:text=La%20deforestaci%C3%B3n%20se%20refiere%20a,de%20palm a%20y%20el%20caucho>
- Jhon Dree. (2019) *¿Qué es la Propagación Vegetativa?* Gimtrac. <https://www.gimtrac.com.mx/node/1354>
- Joly A. (2022). *Bromelia / del origen al cuidado*. <https://www.roobos.nl/es/inspiracion/blog/384romelia#:~:text=Los%20antiguos%20inas%20C%20aztecas%20y,belgas%20en%20el%20siglo%20XVIII>
- Krömer T. (2005). *Epífitas vasculares como bio-indicadoras de la calidad forestal: impacto antrópico sobre su diversidad y composición*. uv.mx [Archivo PDF]. https://www.uv.mx/personal/tkromer/files/2020/04/Kr%C3%B6mer-etal.2014_Bioindicadores-Cap-29.pdf
- Labrin S. (2023). *Plantas en peligro de extinción*. Icarito. <https://www.icarito.cl/2009/12/21-5700-%209-plantas-en-peligro-de-extincion.shtml/>

- León-Yáñez, S., R. Valencia, N. Pitmam, L. Endara, C. Ulloa Ulloa y H. Navarrete (Eds). (10 de abril del 2019). *Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador*. bioweb. <https://bioweb.bio/floraweb/librorojo>
- Rincón, C. (n.d.). *Orquídeas: Un mundo más allá de plantas ornamentales*. Clubes de Ciencia México. <https://clubesdeciencia.mx/2021/11/09/orquideas-mas-alla-de-plantas-ornamentales/#:~:text=Hablar%20de%20orqu%C3%ADdeas%20va%20m%C3%A1s,especies%20en%20todos%20los%20continentes>
- Sánchez, D; Ríos, G. (2004). *ECOLOGÍA DE LAS PLANTAS EPÍFITAS*. [Archivo PDF]. <https://www.redalyc.org/pdf/629/62913142001.pdf>
- UNAM. (2017). *Reproducción asexual*. <https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/%20alumno/biologia1/unidad2/reproduccionSexualAsexual/reproduccionAsexual>
- Yedra D. (2009). *Plan de Acción, Para el Incremento de la Eficiencia del Sistema de Tratamiento de los Residuales Generados en la Industria Arboriente S.A.* repositorio [Archivo PDF]. <https://repositorio.uea.edu.ec/bitstream/123456789/101/1/T.AMB.B.UEA.%203014#:~:text=Las%20industrias%20madereras%20a%20nivel,de%20las%20materias%20primas%20usadas>
- Paz, A. J. (23 de enero del 2023). *Ecuador: minería ilegal ha arrasado con más de 25 hectáreas de bosque en el Parque Nacional Podocarpus*. Mongabay Latam. <https://es.mongabay.com/2023/01/mineria-ilegal-amenaza-al-parque-nacional-podocarpus-en-ecuador/>

16. Anexos

16.1. Anexos I



VICERRECTORADO ACADÉMICO

Loja, 31 de Julio del 2023
Of. N° 994 -VDIN-ISTS-2023

Sr.(ta). LOZADA CELI OSCAR ANTHONY
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE TECNOLOGÍA SUPERIOR EN DESARROLLO AMBIENTAL

Ciudad

De mi consideración:

Por medio de la presente me dirijo a ustedes para comunicarles que una vez revisado el anteproyecto de investigación de fin de carrera de su autoría titulado "EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023", el mismo cumple con los lineamientos establecidos por la institución; por lo que se autoriza su realización y puesta en marcha, para lo cual se nombra como director de su proyecto de fin de carrera (el/la) CERTIFICACIÓN CRISTHIAN FABIAN PRIETO MERINO.

Particular que le hago conocer para los fines pertinentes.

Atentamente,

Ing. Germán Patricio Villamarín Coronel Mgs.
VICERRECTOR DE DESARROLLO E INNOVACION DEL ISTS



VICERRECTORADO ACADÉMICO

Loja, 31 de Julio del 2023
Of. N° 995 -VDIN-ISTS-2023

Sr.(ita). BENAVIDES CUENCA EDITH ANGELICA
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE TECNOLOGÍA SUPERIOR EN DESARROLLO AMBIENTAL

Ciudad

De mi consideración:

Por medio de la presente me dirijo a ustedes para comunicarles que una vez revisado el anteproyecto de investigación de fin de carrera de su autoría titulado **"EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023"**, el mismo cumple con los lineamientos establecidos por la institución; por lo que se autoriza su realización y puesta en marcha, para lo cual se nombra como director de su proyecto de fin de carrera (el/la) **CERTIFICACIÓN CRISTHIAN FABIAN PRIETO MERINO**.

Particular que le hago conocer para los fines pertinentes.

Atentamente,



Ing. Germán Patricio Villamarín Coronel Mgs.

VICERRECTOR DE DESARROLLO E INNOVACION DEL ISTS



16.2. Anexo II: Autorización para la ejecución

Yo, Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino con documento de identidad 1103000889, coordinador de la carrera de DESARROLLO AMBIENTAL del Instituto Superior Tecnológico Sudamericano de la ciudad de Loja a petición verbal del interesado.

AUTORIZO

A Edith Angelica Benavides Cuenca con cédula de identidad Nro. 1105819237 y a Oscar Anthony Lozada Celi con cédula de identidad Nro. 1150035010, estudiantes del sexto ciclo de la carrera de DESARROLLO AMBIENTAL del “Instituto Superior Tecnológico Sudamericano”; para que realicen su proyecto de investigación de fin de carrera titulado: “EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE *GUZMANIA* (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023” para lo cual nos comprometemos en entregar a los estudiantes la información necesaria hasta que culmine dicho proceso.

Loja, 04 octubre del 2023

Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino

C.I. 1103000889

16.3. Anexo III: Certificado de Implementación



Loja, octubre del 2023

Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino

TUTOR DEL SEMINARIO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DE FIN DE CARRERA- DESARROLLO AMBIENTAL, a petición verbal por parte del interesado.

CERTIFICO

Que la Srta. Edith Angelica Benavides Cuenca con cédula 1105819237 y Sr Oscar Anthony Lozada Celi con cédula 1150035010 han venido trabajando en el Proyecto de fin de carrera titulado “EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE GUZMANIA (BROMELIÁCEA) MEDIANTE EXPLANTES, COMO ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN DE EPIFITAS EN LA CIUDAD DE LOJA DURANTE EL AÑO 2023”; el mismo que se encuentra a la presente fecha en un 100% culminado según los requerimientos funcionales planteados. Lo certifico en honor a la verdad para los fines pertinentes y a solicitud del interesado.

Ing. Cristhian Fabián Prieto Merino

TUTOR DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DE FIN DE CARRERA

Abril-Septiembre 2023

16.4. Anexo IV: Presupuesto

16.5. Presupuesto para el primer objetivo

Tabla 8.

Presupuesto para el cumplimiento de la primera fase del proyecto

PRESUPUESTO PARA EL CUMPLIMIENTO DE LA PRIMERA FASE				
Actividad	Material	Cantidad	Valor unitario \$	Valor total
	Movilización	2	3.00	6.00
Fase preliminar	Internet	1	25.00	25.00
	Imprevisto		15.00	15.00
Total				46.00\$

Nota. Presupuesto elaborado para la primera fase del proyecto

16.6. Presupuesto para el segundo objetivo

Tabla 9.

Presupuesto para el cumplimiento de la segunda fase del proyecto

PRESUPUESTO PARA EL CUMPLIMIENTO DE LA SEGUNDA FASE				
Actividad	Material	Cantidad	Valor unitario \$	Valor total
	Adquisición de la bromelia	1	17.00	17.00
Aplicación del Cuestionario	Materiales	17	10.00	10.00
	Reactivos	10	10.00	10.00
	Movilización	2	5.00	10.00
	Imprevisto		15.00	15.00
Total				62.00\$

Nota. Presupuesto elaborado para la segunda fase del proyecto

16.7. Presupuesto para el tercer objetivo

Tabla 10.*Presupuesto para el cumplimiento de la tercera y cuarta fase del proyecto*

PRESUPUESTO PARA EL CUMPLIMIENTO DE LA TERCERA FASE				
Actividad	Material	Cantidad	Valor unitario \$	Valor total
Modelo de cultivo in vitro a la bromelia epifita	Adquisición de todos los materiales	1	62.00	62.00
	Improvisto		15.00	15.00
Total				77.00 \$

Nota. Presupuesto elaborado para la tercera fase del proyecto***Presupuesto total*****Tabla 11.***Presupuesto final*

PRESUPUESTO TOTAL	
Primera fase	46.00 \$
Segunda fase	62.00 \$
Tercera fase	77.00 \$
Total	185.00 \$

Nota. Presupuesto total del proyecto

16.8. Anexo V: certificado de aprobación de abstract.



CERTF. N°. 010-JP-ISTS-2023

Loja, 28 de Octubre de 2023

El suscrito, Lic. Juan Pablo Quezada Rosales., **DOCENTE DEL ÁREA DE INGLÉS - CIS DEL INSTITUTO SUPERIOR TECNOLÓGICO "SUDAMERICANO"**, a petición de la parte interesada y en forma legal,

CERTIFICA:

Que el apartado **ABSTRACT** del Proyecto de Investigación de Fin de Carrera de los señores **EDITH ANGELICA BENAVIDES CUENCA & OSCAR ANTHONY LOZADA CELI** estudiantes en proceso de titulación periodo Abril – Noviembre 2023 de la carrera de **DESARROLLO AMBIENTAL** ; está correctamente traducido, luego de haber ejecutado las correcciones emitidas por mi persona; por cuanto se autoriza la impresión y presentación dentro del empastado final previo a la disertación del proyecto.

Particular que comunico en honor a la verdad para los fines académicos pertinentes.

English is a piece of cake.



JUAN PABLO
QUEZADA
ROSALES

Checked by:
Juan Pablo Quezada R.
E.F.L. Teacher

Lic. Juan Pablo Quezada Rosales
DOCENTE DEL ÁREA DE INGLÉS ISTS - CIS

16.10. Anexo VI: evidencias fotográficas

16.10.1. Laboratorios y cultivos de la UTPL (entrevista)



16.10.2. Laboratorios y cultivos de la UNL (entrevista)

COMPOSICIÓN QUÍMICA BÁSICA DEL MEDIO DE CULTIVO DE MURASHIGE & SKOOG (MS-1962)		
COMPONENTE	FÓRMULA	mg/L
1. NITRATOS		
Nitrato de Amonio	NH_4NO_3	1650
Nitrato de Potasio	NO_3K	1900
2. SULFATOS		
Sulfato de Magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
Sulfato de Manganeso	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
Sulfato de Zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8,6
Sulfato de Cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
3. HALÓGENOS		
Cloruro de Calcio	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Yoduro de Potasio	KI	0,83
Cloruro de Cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
4. PO_4, BO_3, MoO_4		
Fosfato di Básico de Potasio	KH_2PO_4	170
Ácido Bórico	H_3BO_3	6,2
Molibdato de Sodio	$\text{Na}_2\text{Mo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
5. EDTA, Na, Fe		
Sulfato Ferroso	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,81
Ácido Etilendiaminotetracético	Na_2EDTA	37,31

