



Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

“ECAA” INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

“Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie”.

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES Y ECODESARROLLO

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

Línea 3. Conservación de la Biodiversidad

Sub Línea Estudio, conservación y manejo de la biodiversidad

AUTOR: Grace Carolina Chamorro García

ASESOR: MCs. Santiago Xavier Mafla Andrade

IBARRA, JUNIO 2019



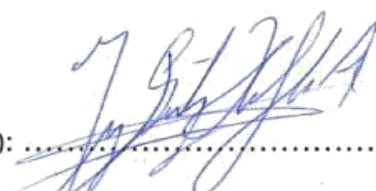
Ibarra, junio de 2019

MCs. Santiago Xavier Mafla Andrade

ASESOR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

(f):


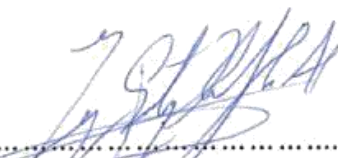
MCs. Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C: 1002658399



APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):

(f): 

MCs. Santiago Mafla (Asesor)

C.C: 1002658399.



(f):

Mgs. Paola Chávez

C.C: 1002744090

(f): 

Mgs. María Fernanda López

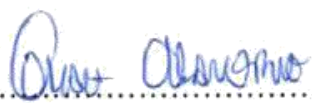
C.C: 1002509600



ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo Grace Carolina Chamorro García, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derechos de disponer de sus derechos o autorizar las utilidades de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, junio de 2019

f): .....

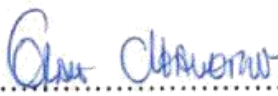
Grace Carolina Chamorro García

C.C.: 100385838-6



AUTORÍA

Yo, Grace Carolina Chamorro García, portador de la cédula de ciudadanía N°100385838-6, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad de la autora, y que se ha respetado las diferentes fuentes de información realizando las citas correspondientes.

f): 

Grace Carolina Chamorro García

C.C.: 100385838-6



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo: Grace Carolina Chamorro García, con CC: 100385838-6, autor del trabajo de grado titulado: "Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortifio (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie", previo a la obtención del título profesional de Ingeniera en Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales "ECAA".

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede- Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, junio de 2019

(f):

Grace Carolina Chamorro García

C.C.: 100385838-6



DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJOS DE TITULACIÓN

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación del Proyecto de Titulación: **“Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiflo (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie”** lo propuesto en el Código de Ética de la Investigación y el Aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 15 de enero de 2018.

Para constancia firma:

(f.): 

Grace Carolina Chamorro García

Estudiante que ejecuta el Trabajo de Titulación

C.C.: 100385838-6

Carrera: Ingeniería en Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo

Ibarra, junio de 2019



DEDICATORIA

Dedicado a mi hijo JOSE JULIAN y a mi hermana SAMY, quienes me inspiran a ser una mejor persona. Los amo mucho y deseo que siempre se sientan orgullosos de mí.

*Solo por hoy trataré de fortalecer mi
Mente. Estudiaré. Aprenderé algo útil.
No seré un apático mental. Leeré algo
Que requiera esfuerzo, pensamiento y
Concentración*



AGRADECIMIENTO

A DIOS por permitirme terminar esta etapa de mi vida.

Agradezco a mi mamá por confiar en mí y darme su apoyo incondicional.

A mi familia, abuelitas, tíos, tías, primos, primas y especialmente a mi hermana por estar siempre conmigo. Gracias a todos por apoyarme en todo momento.

A mis amigas gracias por estar ahí alentándome siempre.

A mi amigo Vic le doy las gracias por siempre enseñarme a ver el lado bueno de las cosas y ser tan sincero y leal.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1	RESUMEN	1
2	ABSTRACT.	2
3	INTRODUCCIÓN.....	3
	Objetivo General:	4
	Objetivos Específicos:.....	4
	Hipótesis	
4	ESTADO DEL ARTE	4
4.1	GENERALIDADES DEL MORTIÑO <i>Vaccinium floribundum</i>	4
4.1.1	Localización Geográfica	4
4.1.2	Descripción botánica.....	5
4.1.3	Descripción morfológica.....	6
4.1.4	Usos e Importancia	7
4.1.5	Problemática	8
4.2	Propagación vegetativa	9
4.2.1	Propagación sexual	9
4.2.2	Propagación asexual.....	10
4.3	Cultivo in vitro	11
4.3.1	Composición del medio de cultivo.....	12
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
5.1	Materiales de recolección	14
5.2	Materiales y Equipos laboratorio	14
5.3	Metodología	16

5.3.1	Protocolo de extracción.....	16
5.3.2	Protocolo de desinfección	17
5.3.3	Protocolo de siembra.....	18
5.4	Diseño Experimental.....	19
5.4.1	Variables Independiente.....	19
5.4.2	Unidades experimentales	20
5.4.3	Variables dependientes	20
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
6.1	Análisis de Varianza Porcentaje de Brotes	22
6.1.1	Prueba Tukey al 5% Tratamientos	22
6.1.2	Prueba Tukey al 5% factor A Medio de Cultivo.....	24
6.1.3	Prueba Tukey al 5% factor B Medio de Propagación	25
6.2	Análisis de Varianza Tiempo de Germinación	26
6.2.1	Prueba Tukey al 5% Tratamientos	26
6.2.2	Prueba Tukey al 5% factor A Medio de Cultivo.....	27
6.3	Socialización	30
7	CONCLUSIONES.....	32
8.	RECOMENDACIONES.....	33
9	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
10	ANEXOS	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Taxonomía del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>)	6
Tabla 2 Propiedades físicas de la semilla del mortiño	10
Tabla 3 Descripción Variables Independientes.....	19
Tabla 4 Descripción de Tratamientos	20
Tabla 5 Análisis de Varianza Porcentaje de brotes	22
Tabla 6 Análisis de Varianza Tiempo de germinación	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación geográfica del mortiño <i>Vaccinium floribundum</i> en el Ecuador.....	5
Figura 2 Planta del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>).	7
Figura 3 Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes Tratamientos	23
Figura 4 Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes Medio de cultivo	24
Figura 5 Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes Medio de propagación	25
Figura 6 Prueba Tukey al 5% Tiempo de germinación Tratamientos	27
Figura 7 Prueba Tukey al 5% Tiempo de germinación Medio de cultivo	28
Figura 8 Gráfico de la relevancia que tiene el tema investigado para la sociedad.....	29
Figura 9 Gráfico sobre si la investigación posee perspectiva para estudios posteriores.....	30
Figura 10 Gráfico acerca del tema investigado genera actualmente o a futuro un beneficio.....	31

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Comunidad Cashaloma ubicación mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>)	37
Anexo 2 Identificación de la planta mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>).....	37
Anexo 3 Lavado de semillas en un tamiz N°60	38
Anexo 4 Extracción de yemas en el microscopio	38
Anexo 5 Desinfección cuarto de cultivo.....	39
Anexo 6 Desinfección cámara de flujo laminar	39
Anexo 7 Desinfección de materiales con rayos UV	40
Anexo 8 Semilla del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>) germinada.....	40
Anexo 9 Plántula desarrollada y semilla no germinada (<i>Vaccinium floribundum</i>)	41
Anexo 10 Plántulas desarrolladas de mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>).....	41
Anexo 11 Composición medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium).....	42
Anexo 12 Composición medio de cultivo MS (Murashige Skoog) al 50% de concentración	43
Anexo 13 Invitaciones Socialización	44
Anexo 14 Asistencia Socialización	48
Anexo 15 Preguntas Socialización	49

1 RESUMEN

El mortiño *Vaccinium floribundum* es una especie endémica de los páramos del Ecuador, es muy reconocida en la preparación de la tradicional colada morada que es un plato típico de nuestro país. Esta planta crece de manera silvestre y con cierta estacionalidad es decir su crecimiento y extracción se lo hace en los meses de agosto a noviembre, por este motivo podría llegar a desaparecer. En el Ecuador no existen plantaciones comerciales del mortiño, por esta razón se propone domesticar a esta especie y así buscar estrategias legales para su explotación segura de la especie y fomentar el cuidado de la flora y fauna de los páramos. Esta investigación tuvo como objetivo la propagación in vitro del mortiño para la conservación de la especie, por medio de dos métodos sexual (semillas) y asexual (yemas), en lo cual se realizó protocolos de extracción, desinfección y cultivo de semillas y yemas. Se utilizó dos medios de cultivos Woody Plant Medium (WPM) y Murashige y Skoog (MS) al 50% de su concentración, ($2,15\text{g.l}^{-1}$), se agregó reguladores de crecimiento Ácido naftalénico acético (ANA) y Benzil amino purina (BAP) (5 mg.l^{-1}). Se consideró 90 días para evaluar el tiempo de conservación y numero de brotes vegetativos. Logrando como mejor resultado el tratamiento T1, la interacción entre semillas y Murashige Skoog (MS) al 50%, con un 56,66% de germinación y en semillas con Woody Plant Medium (WPM) 46,36%.

PALABRAS CLAVE. - *Vaccinium floribundum*, WPM (Woody Plant Medium), MS (Murashige y Skoog), ANA, BAP.

2 ABSTRACT. -

The mortiño *Vaccinium floribundum* is an endemic species of the paramos of Ecuador, it is very recognized in the preparation of the traditional purple drink that is a typical dish of our country. This plant grows in a wild way and with a certain seasonality, that is to say, its growth and extraction is done in the months of August to November, for this reason it could disappear. In Ecuador there are no commercial plantations of the mortiño, for this reason it is proposed to domesticate this species and thus seek legal strategies for its safe exploitation of the species and encourage the care of the flora and fauna of the paramos. The objective of this research was the in vitro propagation of the mortiño for the conservation of the species, by means of two sexual methods (seeds) and asexual (buds), in which protocols of extraction, disinfection and cultivation of seeds and buds were carried out. Two media were used Woody Plant Medium (WPM) and Murashige and Skoog (MS) to 50% of its concentration, (2.15g.l^{-1}), added growth regulators naphthalene acetic acid (ANA) and Benzil amino purine (BAP) (5 mg.l^{-1}). It was considered 90 days to evaluate the conservation time and number of vegetative shoots. Achieving as a best result the T1 treatment, the interaction between seeds and Murashige Skoog (MS) at 50%, with 56.66% germination and in seeds with Woody Plant Medium (WPM) 46.36%.

KEY WORDS. – *Vaccinium floribundum*, WPM (Woody Plant Medium), MS (Murashige y Skoog), ANA, BAP.

3 INTRODUCCION

El mortiño *Vaccinium floribundum* es una especie de la familia Ericaceae, este fruto es originario de los páramos del Ecuador, se encuentra distribuido en la Cordillera de los Andes al norte con la provincia del Carchi y hasta el sur con la provincia de Loja. Esta planta crece de manera silvestre a una altitud que va desde los 1400 a 4350 msnm (Coba et al., 2012).

El mortiño presenta factores limitantes para su propagación y conservación, la falta de un protocolo de propagación con insumos que protejan a la planta de plagas, enfermedades y una investigación más profunda, son las desventajas que no permiten el desarrollo de la especie (Castro y Álvarez, 2013).

La técnica de cultivo in vitro es una alternativa que está siendo utilizada con gran éxito a nivel global para poder propagar, conservar e incluso comercializar especies que se encuentran en estado vulnerable o en peligro de extinción (Salazar, 2012).

Según Trujillo (2008), plantea que para poder lograr una eficiencia en la propagación in vitro de la especie *Vaccinium floribundum* es muy importante tomar en cuenta el medio de cultivo y los diferentes tipos de reguladores de crecimiento a utilizar, para poder lograr un balance en la propagación. También recalca que las plantas de este género reproducidas in vitro tienen un desarrollo vigoroso y superior en el campo a comparación de las plantas propagadas por métodos tradicionales.

Esta investigación tiene como objetivo la conservación de la especie “mortiño” *Vaccinium floribundum* estableciendo protocolos in vitro para la germinación de semillas, brotación de yemas y micro propagación de la especie fomentando a contribuir con el mejoramiento y conservación del cultivo de mortiño en el país.

Objetivo General:

- Determinar los métodos de propagación sexual y asexual del “mortiño” *Vaccinium floribundum* mediante cultivo in vitro con fines de conservación de la especie.

Objetivos Específicos:

1. Establecer protocolos para el cultivo del “mortiño” *Vaccinium floribundum* mediante la propagación in vitro.
2. Analizar el método sexual o asexual más eficiente en el crecimiento de la planta de mortino a través de la propagación in vitro.
3. Definir el medio de cultivo óptimo para la germinación o brotes del mortino mediante la propagación in vitro.
4. Socializar la investigación con las partes involucradas en la conservación del mortino.

Hipótesis

El cultivo in vitro influye en los métodos de propagación sexual y asexual del mortino.

4 ESTADO DEL ARTE

4.1 GENERALIDADES DEL MORTIÑO *Vaccinium floribundum*

4.1.1 Localización Geográfica

El mortino es una especie silvestre endémica de los páramos del Ecuador se ubica desde la provincia del Carchi hasta la provincia de Loja extendiéndose por Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar y Azuay atravesando toda la Cordillera de los Andes. Esta especie crece desde los 1400 msnm en Loja hasta los 4550 msnm la altura más elevada registrada en la provincia de Cotopaxi (Jorgensen y Ulloa, 2009).

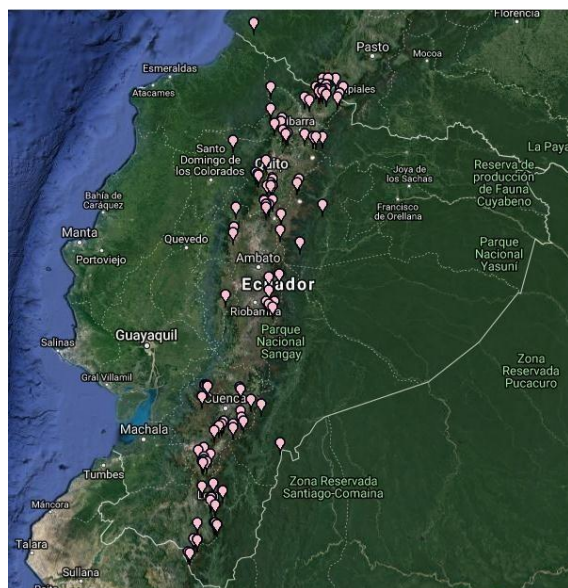


Figura 1. Ubicación geográfica del mortiño *Vaccinium floribundum* en el Ecuador
Fuente. (Trópicos 2009)

4.1.2 Descripción botánica

El mortiño pertenece a la familia Ericaceae, género *Vaccinium* en donde existen entre 450 a 500 especies distribuidas en todo el hemisferio norte. En América se origina un 35% de las especies, 25% en América del Norte y 10% en América del Sur y Central. El mortiño también conocido con el nombre de uva de monte, uva de los Andes y raspadura quemada, en Colombia lo conocen como agraz y en Perú como macha macha, congama y pushgay (Vargas, 2002).

Tabla 1

Taxonomía del mortiño (Vaccinium floribundum)

Nombre Científico	<i>Vaccinium floribundum</i>
Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	<i>Vaccinium</i>

Fuente: Adaptado de Guía para los páramos del sistema nacional de áreas protegidas del Ecuador (Josse y Anhalzer, 1996).

4.1.3 Descripción morfológica

El mortiño es una planta silvestre, arbustiva muy ramificada, su tamaño puede variar desde ser una planta rastrera o llegar a una altura entre los 2 a 3 metros, su tallo es de color verdoso y glabro. La raíz puede alcanzar hasta un metro de forma horizontal. Posee hojas simples, alternas muy pequeñas con el margen aserrado o crenado, nerviación pinnada, de color verde, que poseen tanino, flavona, glucoquitina, arbutina e hidroquinina (Noboa, 2010).

Las flores son tetrámeras en ocasiones pentámeras, de color rosado rojizo de al menos 1cm, crecen solitarias o en racimos, cada uno contiene de 10 a 15 flores. Se presentan dos floraciones al año, de febrero a mayo y de septiembre a diciembre. Su fruto es una baya globosa, de sabor agridulce mide alrededor de 8 mm de diámetro es de color verde en estado inmaduro y negro azulado en su madurez y está cubierto por un polvo blanquecino o cera epicuticular. El fruto presenta dos épocas de fructificación al año en abril a mayo y la cosecha más abundante que es entre septiembre y diciembre (Guevara, 2017).

Las formas de propagación del mortiño son muy desconocidas, ya que es una planta silvestre. Pero existen estudios en donde se han utilizado métodos de propagación in vitro o en invernaderos a través de semillas, estacas y yemas.

El mortiño crece en suelos arenosos con un pH ácido con rango entre 4 y 6 (Valdivieso y Pérez, 2007).



Figura 2. Planta del mortiño (*Vaccinium floribundum*).

Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

4.1.4 Usos e Importancia

Según Rojano (2009), en una investigación realizada sobre la ciencia de los alimentos de la Universidad Nacional de Colombia en Medellín menciona que el mortiño es una fruta con gran valor agregado por sus componentes antioxidantes dado sus altos contenidos en polifenoles (antocianinas). El contenido de antioxidantes en los alimentos retarda y previene la oxidación de moléculas y ayuda a evitar enfermedades cardíacas, neurológicas e incluso contraer cáncer.

La FAO (2011), recalca en su artículo sobre la preservación de la biodiversidad que el mortiño es un fruto con grandes propiedades antioxidantes capaz de prevenir enfermedades cardiovasculares, siendo esta la principal causa de muerte en el mundo.

El mortiño es un fruto de carácter alimenticio y ritual es utilizado ancestralmente en la preparación de la tradicional colada morada plato típico en el día de los difuntos (Rhoades, 2006).

Las investigaciones que se han hecho en base a este fruto proporcionan grandes ventajas químicas a través de la obtención de productos como vinos, dulces, salsa y vinagre balsámico (Rojano, 2009).

El mortiño es de vital importancia por su alta capacidad regeneradora de sitios quemados, se utiliza esta especie en la reforestación de páramos, sirve de protección y alimento de varias especies de fauna silvestre, también aporta a la protección de suelos agrícolas y fuentes de agua (Coba et al., 2012).

4.1.5 Problemática

En la actualidad existe una gran explotación y poca producción de este fruto por lo que podría llegar a desaparecer. En el Ecuador no se conoce plantaciones comerciales de mortiño, este es el motivo para domesticar a esta especie y buscar las estrategias legales para asegurar la explotación segura de la especie y así fomentar el cuidado de la flora y fauna en los páramos (Ayala, 2017).

Esta especie se encuentra amenazada por varios factores como son la deforestación, la fragmentación de ecosistemas, lesiones de los individuos por prácticas inadecuadas en la recolección y sobre cosecha, el mal aprovechamiento de las ramas para floristería, la tumba de árboles y los incendios forestales Valdivieso y Pérez (2007). Por lo que Guevara (2017), considera al mortiño como una especie en peligro de extinción.

Según Coba et al., (2012), en su investigación “Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional”, en décadas anteriores este fruto era de gran importancia en la alimentación ecuatoriana y era muy fácil conseguirlo en los campos de la Sierra, pero en la época actual el consumo ha disminuido y la planta tiende a desaparecer, esto debido a la falta de información acerca de sus beneficios y la dificultad de su propagación, ya que es una planta que crece de forma silvestre y con una cosecha

excesiva que va de septiembre a diciembre. Por estos motivos se considera la reproducción vegetativa in vitro.

El Parque Nacional Cotopaxi abarcaba una zona de adaptación del mortiño que iba desde los 1000 msnm hasta los 4500 msnm, pero debido a la expansión de las áreas agrícolas y pecuarias a obligado a esta especie a ubicarse en zonas más altas que van desde los 3400 a 3500 hasta los 4500 msnm (Coba et al., 2012).

El problema de esta especie es que el desarrollo de propagación es lento, por lo tanto, su hábito de crecimiento es de una sola cosecha al año y según la Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia CORANTIOQUIA, (2009) la abeja *Apis mellifera* es un polinizador clave para esta especie. Actualmente no se conoce cultivos comerciales de la especie, sino pequeñas parcelas en donde el mortiño crece de manera silvestre.

En base a esta problemática CORANTIOQUIA, (2009), en su proyecto “Conservación y manejo sostenible de los bosques, la flora y la fauna silvestre” se planteó como objetivo rescatar los usos tradicionales de la especie, promoviendo su cultivo e investigar los usos potenciales como una fuente económica viable y al mismo tiempo garantizar la conservación del mortiño (*Vaccinium floribundum*).

4.2 Propagación vegetativa

4.2.1 Propagación sexual

La propagación sexual se lo hace a través de la semilla, es uno de los métodos de reproducción utilizados por la naturaleza y se podría decir el más eficiente, estos individuos tienen alta variabilidad genética, manteniendo las características de resistencia que son transferidas a las plantas para su supervivencia. Existe variabilidad en su descendencia es decir los individuos nuevos son diferentes a la planta madre (Urbina, 2009).

Para poder conseguir un porcentaje de germinación aceptable debemos saber con qué tipo de semilla estamos trabajando, existen semillas ortodoxas (aptas para secado) y las semillas recalcitrantes (no aptas para secado). Otro factor limitante para la semilla es el periodo de

dormancia, es decir de reposo aun cuando cuente con todas las condiciones favorables para su germinación (Correa y Jácome, 2015).

La semilla del mortiño *Vaccinium floribundum* es una semilla recalcitrante ya que no tiene tolerancia con el secado. Esto se comprobó al realizar el proceso de extracción de la semilla: se la secó en la estufa a 37° C por 4 días lo que ocasionó que ninguna de las semillas germinara, corroborando el estudio de (Correa y Jácome, 2015).

En la investigación de Noboa (2010), nos plantea las propiedades físicas de la semilla del mortiño.

Tabla 2

Propiedades físicas de la semilla del mortiño

Parámetros	Valores
Pureza (%)	86,80
Contenido de humedad (%)	8,44
Número de semillas (semillas/Kg)	3 988 035, 89
Valor real (%semillas viables/Kg)	20,33
Energía de germinación (%)	2,61

Fuente: Adaptado de Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido naftalenacético en la propagación vegetativa del mortiño *Vaccinium floribundum* (Noboa, 2010).

Existe una alta cantidad de semillas por kilogramo debido a que la semilla es muy pequeña y por lo tanto difícil de extraer y manipular.

4.2.2 Propagación asexual

La propagación asexual se lo hace a través de yemas, raíces, esquejes y bulbos entre otros métodos. Esto es posible ya que las plantas tienen una capacidad de regeneración muy grande, generando clones de la planta madre es decir una descendencia uniforme, plantas idénticas. Este método trata de asegurar la conservación del genotipo que se propaga, pero también existen factores que deterioran su reproducción como es enfermedades patógenas, mutaciones etc. (González y Rodríguez, 2009).

Según Muñoz, (2004), en su estudio Determinación de métodos de propagación del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), con fines de propagación y producción comercial, propone una propagación vegetativa a través de micro estacas y estaquillado, para lograr una producción de la planta en todo el año, eliminando la estacionalidad, ya que se trabaja mediante un ambiente controlado y de laboratorio, aplicando diferentes elementos para obtener un crecimiento más rápido y uniforme.

En la investigación de Brenes et al., (2014), acerca de Micro propagación de cuatro cultivares de arándano (*Vaccinium spp.*) a partir de segmentos foliares de dos procedencias, recalcan que los arándanos se propagan comercialmente de manera vegetativa, por medio de estacas de tallo leñosas o herbáceas. Esta técnica a fomentado la expansión del cultivo a gran escala, en menor tiempo y libres de enfermedades por agentes patógenos.

En la investigación se utilizó yemas axilares y terminales de tejido verde y joven, en donde se observó que existía un crecimiento reciente en la planta. Trujillo, (2008), en su investigación también trabajó con yemas axilares del mortiño (*Vaccinium floribundum*) y propone se debe tener cuenta, la desinfección de los explantes, el medio de cultivo y las hormonas de crecimiento para lograr óptimos resultados.

4.3 Cultivo in vitro

El termino cultivo in vitro hace referencia a cultivar plantas en condiciones controlables, es decir conservando una correcta asepsia, evitando la contaminación y propagación de hongos o bacterias y por otro lado el control de los factores que afectan el crecimiento de los cultivos, puede ser la luz, temperatura, etc. (Castillo, 2004).

La propagación in vitro tiene muchas ventajas como el aumento acelerado del número de plantas por cada genotipo, disminución del tiempo de propagación, producción permanente de la especie es decir no existe estacionalidad como es el caso del mortiño, posibilidad de multiplicar altas cantidades de plantas en un espacio muy reducido, en tiempos y costos muy factibles, mayor control de asepsia y multiplicar una gran variedad de individuos de donde se tenga muy pocos (Alarcón et al., 2004).

4.3.1 Composición del Medio de cultivo

El medio de cultivo es un factor muy importante para el establecimiento y la multiplicación in vitro de cualquier especie, que va de la mano con las condiciones de cultivo y el tipo de explante que se va a cultivar (Brenes et al., 2014).

Los medios de cultivos vegetales tienen todos los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo normal de la planta. Están principalmente compuestos de:

- **Sales Inorgánicas**

Los macro-nutrientes son esenciales para el desarrollo de la planta, por lo tanto, se requiere más cantidad de estos compuestos como son: Nitrógeno (N), Fósforo (P), Azufre (S), Calcio (Ca), Magnesio (Mg).

Los micro-nutrientes son elementos esenciales, pero se encuentran en bajas dosis, los más importantes son: Hierro (Fe), Cobalto (Co), Zinc (Zn), Molibdeno (Mo) y Boro (B). El uso de altas dosis de estos elementos puede causar toxicidad en los explantes (Recto, 2018).

- **Fuentes de Carbono**

Son fuentes de energía para la planta los más relevantes son: la sacarosa y glucosa, estos proporcionan elementos como el Carbono (C), Hidrógeno (H) y Oxígeno (O). En el crecimiento normal de la planta estos compuestos se dan de manera natural, en el proceso de la fotosíntesis (Puche, 2012).

- **Vitaminas**

Las vitaminas son compuestos orgánicos que ayudan al proceso de división celular y crecimiento de la planta, estas cumplen funciones de catalizadores y metabólicos. Las más utilizadas son: Tiamina, Piridoxina y ácido nicotínico (Recto, 2018).

- **Reguladores de Crecimiento**

Son compuestos químicos que actúan en el crecimiento y desarrollo de la planta, se clasifican en:

Auxinas: hormonas que actúan en el proceso de división celular y diferenciación de raíces. Estos compuestos intervienen en la plasticidad de la pared celular, logrando que la célula se expanda. En la investigación se utilizó ácido naftalenacético (ANA) con la función de promover el inicio de germinación de la semilla y estimular la formación de raíces (Amador et al., 2013).

Citoquininas: hormonas que intervienen en procesos de formación de brotes laterales, síntesis de proteínas, inducen a la formación de tallos y yemas, por otro lado, retarda el proceso de degeneración celular, iniciación del desarrollo de cloroplastos, fotosíntesis y la expansión de cotiledones. El equilibrio de auxinas y citoquininas controla el proceso de organogénesis por lo que se debe manejar las concentraciones adecuadas para la finalidad del trabajo, especie y variedad de la planta. En la investigación se utilizó bencilaninopurina (BAP), con el objetivo de inducir la formación de brotes (Codemarin et al., 2007).

Giberelinas: hormonas que controlan procesos de germinación de semilla, desarrollo de raíces, la elongación del tallo y entrenudos, la floración y crecimiento meristemáticos (Recto, 2018).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. La recolección de los especímenes de la planta del mortiño se lo hizo en la Ciudad de Ibarra, Parroquia La Esperanza, Comunidad Cashaloma, cerca al Cerro Imbabura.

5.1 Materiales de recolección

- Cámara fotográfica
- Papel aluminio
- Agua potable
- Libreta de apuntes

5.2 Materiales y Equipos laboratorio

Material botánico

- Especímenes de la especie mortiño (*Vaccinium floribundum*)

Materiales

- Cajas Petri
- Frascos de vidrio
- Pinzas
- Mechero
- Bisturí
- Tijeras
- Papel absorbente

- Papel aluminio
- Parafilm
- Film plástico
- Guantes
- Mascarilla
- Gorro
- Vasos de precipitación

Equipos

- Autoclave (icanCLAVE)
- Cámara de flujo laminar (Haier)
- Balanza analítica (ADAM)
- Cuarto de sembrado

Reactivos

- Alcohol Potable 96%
- Hipoclorito de sodio 10%- 2.5%
- Cloro comercial 35% Clorox
- Ácido naftalénico acético (ANA)
- Benzil amino purina (BAP)
- Agar LAB
- Sacarosa LAB
- Murashage y Skoog MS
- Woody Plant Medium WPM
- Agua destilada
- Ácido cítrico MERCK

5.3 Metodología

La investigación tuvo tres protocolos:

5.3.1 Protocolo de extracción

Para este proceso se obtuvo las muestras del mortiño en la Ciudad de Ibarra, Parroquia La Esperanza, Comunidad de Cashaloma, a una altitud de 3640 msnm, donde el mortiño crece de manera silvestre. Se recolectó el mortiño mediante el reconocimiento morfológico de la especie, para asegurar que fuese el mortiño (*Vaccinium floribundum*).

a) Extracción de semillas y yemas

En el proceso para extraer las semillas, se separó la pulpa de la cáscara. Posteriormente se colocó la pulpa en un tamiz N° 60 y se lavó con abundante agua potable, lo cual permitió la total separación dejando únicamente las semillas. Luego se dejó secar las semillas a temperatura ambiente.

Según, Varela y Arana (2011), la semilla del fruto de mortiño no necesita ningún tratamiento pre germinativo, debido a que su testa es suave y permeable.

Para la extracción de yemas se debe considerar que la planta presente tejido joven y verde, con presencia de brotes recientes (Trujillo, 2008).

En el protocolo de Valdivieso y Pérez, (2007), proponen para la recolección en campo se debe cortar el tallo del mortiño de aproximadamente 10 cm, tomando en cuenta yemas axilares y terminales. Se lo hizo con mucho cuidado para evitar lesiones o daños en la planta. En el laboratorio se envolvió los tallos en papel aluminio y se almacenó en la refrigeradora para evitar su oxidación hasta ser cultivadas. En base al estudio planteado por Guevara

(2017), la refrigeración es una técnica adecuada para minimizar el deterioro de la planta, por factores como oxidación, deshidratación y el desarrollo de mohos en la planta.

En el laboratorio con la ayuda del estéreo microscopio se procedió a extraer las yemas con un bisturí, con mucho cuidado para evitar dañar el tejido. Como plantea Dueñas (2017), en su investigación, los cortes deben realizarse en una solución de ácido cítrico de 100mg.l^{-1} , para impedir su oxidación. Se separó las yemas axilares de las yemas terminales.

5.3.2 Protocolo de desinfección

a) Desinfección de cuarto de cultivo, cámara de flujo laminar y materiales

Para este protocolo, se basó en el estudio de Muñoz (2004), en donde propone desinfectar el cuarto de cultivo y la cámara de flujo laminar con cloro comercial al 35%, posteriormente hipoclorito de sodio al 10% y por último alcohol al 95%.

Los materiales a utilizar se los esterilizó a una temperatura de 121°C por 40 min en la autoclave y después se los dejó por 15 min con rayos UV en la cámara de flujo de laminar.

b) Desinfección de semillas y yemas

Este proceso se llevó acabo en la cámara de flujo laminar. Para que este protocolo sea eficaz se utilizó mascarilla, guantes, mandil, gorro y zapatos quirúrgicos mientras se realiza la desinfección de los explantes, además se debe trabajar con dos mecheros de alcohol encendidos para evitar cualquier tipo de contaminación.

Las semillas y yemas fueron lavadas con abundante agua potable, después fueron introducidas en alcohol al 70% por 5 minutos, luego se lavó con agua estéril por 3 veces, se prosiguió a sumergirlas en hipoclorito de sodio al 2,5% y finalmente se hizo 3 lavados con abundante agua estéril (Trujillo, 2008).

5.3.3 Protocolo de siembra

a) Preparación del medio de cultivo

En la investigación se preparó con dos medios de cultivos Woody Plant Medium (WPM) y MS 50% (Murashige Skoog).

El medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium) se preparó en base a la investigación que realizó Arahana, Torres, y Trujillo, (2010), titulada Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*). Para la preparación del medio cultivo se utilizó agar (8g.l^{-1}), sacarosa (20g.l^{-1}), los componentes de WPM, hormonas reguladoras de crecimiento ANA y BAP (5mg.l^{-1}).

El medio de cultivo MS 50% se tomó como referencia en Arahana, Torres, y Trujillo, (2010), se utilizó agar (8g.l^{-1}), sacarosa (20g.l^{-1}), reguladores de crecimiento ANA y BAP (5mg.l^{-1}).

b) Siembra in vitro

Según Guevara (2017), para la siembra de semillas y yemas propone sembrar en cajas Petri. Se colocó 20 semillas por cada caja Petri y en el caso de la yema 1 explante. Los pH de los medios de cultivo deben ser ácidos entre 4,8 – 5,8, ya que esta especie requiere suelos ácidos bien drenados, que principalmente no retengan agua.

Después de sembrar se envolvió las muestras con Parafilm para evitar la contaminación, y se etiquetó para que no exista confusiones.

Una vez terminado la siembra se colocó las muestras en el stand del cuarto de cultivo, previamente esterilizado cubierto con plástico, para evitar todo tipo de contaminación del ambiente, a una temperatura de 17°C con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad (Arahana, Torres y Trujillo, 2010).

La luz es un factor importante en la germinación de la semilla, ya que el fitocromo presente en el eje embrionario de la semilla necesita de luz para inducir la germinación. Otro factor

muy importante es la temperatura ya que tiene la capacidad de influir en la actividad de las enzimas que controlan la tasa de reacciones bioquímicas que se producen dentro de la semilla después de su rehidratación (Dueñas, 2017).

5.4 Diseño Experimental

En esta investigación se aplicó un Diseño Experimental Completamente al Azar, con una interacción AxB: factor A (medio de propagación) y factor B (medio de cultivo), obteniendo cuatro tratamientos, se realizó tres repeticiones. Resultando 12 unidades experimentales.

5.4.1 Variables Independiente

En la investigación se emplearon dos factores de estudio:

Tabla 3

Descripción Factores

Factor	Descripción
Factor A: Medio de Propagación	S: Semillas
	Y: Yemas
Factor B: Medio de Cultivo	MS 50%: Murashige Skoog
	WPM: Woody Plant Medium

Fuente: La Autora

Como se detalla en la Tabla 4, se realizó una interacción de los factores AxB, se estudió cuatro tratamientos los cuales fueron:

Tabla 4

Descripción de Tratamientos

Tratamientos	Descripción
T1: Tratamiento 1	Semilla con medio de cultivo Murashige Skoog (MS) 50%
T2: Tratamiento 2	Semilla con medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM)
T3: Tratamiento 3	Yemas con medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM)
T4: Tratamiento 4	Yemas con medio de cultivo Murashige Skoog (MS) 50%

Fuente: La Autora

5.4.2 Unidades experimentales

La investigación consta de doce unidades experimentales: tres unidades con semillas y MS 50%, tres con semillas y WPM, tres con yemas y MS 50% y tres con yemas y WPM.

5.4.3 Variables dependientes

En la investigación se midió dos variables dependientes: número de brotes y tiempo de brotación, de esta manera se pudo analizar que tratamiento tuvo mejor resultados. A continuación, se detallan las variables.

1. Número de brotes

Los brotes son el nacimiento de una planta ya sea por su semilla, yema, raíz u hojas (Urbina, 2009). La variable número de brotes se contabilizó al haber transcurrido los 80 días después de la siembra in vitro, se contó los brotes en cada una de las unidades experimentales

2. Tiempo de germinación

La variable tiempo de germinación se contabilizó desde el momento en el que se sembró hasta el instante que las semillas o yemas empezaron a germinar.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La investigación se llevó acabo en el laboratorio de biotecnología de la Pontificia Universidad Católica sede Ibarra, en donde se realizó varios ensayos de cultivo in vitro del mortño (*Vaccinium floribundum*), estudiando cuatro tratamientos: T1, T2, T3 y T4.

PORCENTAJE DE BROTES RESULTANTES

6.1 Análisis de Varianza Porcentaje de Brotes

La Tabla 5 indica el análisis estadístico del porcentaje total de brotes obtenidos en los tratamientos T1, T2, T3 y T4, además señala que existen diferencias significativas (*) entre estos, por lo tanto, se aplicó una prueba Tukey al 5% para poder determinar que tratamiento es el mejor. El porcentaje de coeficiente de variación es de 6,45%, esto significa que la toma de datos fue precisa, ya que estuvo bajo condiciones controladas. En laboratorio es aceptable un rango entre 0 a 10%.

Tabla 5

Análisis de Varianza Porcentaje de brotes

		ADEVA			F TAB		SIGNIFICANCIA
FC	GL	SC	CM	Fcal	0.05	0.01	
Total	11	7799.00					
Tratamientos	3	7765.67	2588.56	996.39	4.07	7.59	*
Factor A Medio de Cultivo	1	133.33	133.33	51.32	5.32	11.26	*
Factor B Medio de propagación	1	7499.00	7499.00	2886.53	5.32	11.26	*
Interacción AxB	1	133.33	133.33	51.32	5.32	11.26	*
Erro exp.	8	20.78	2.60				

Fuente: La Autora

6.1.1 Prueba Tukey al 5% tratamientos

Tras la realización de la prueba Tukey al 5% para los cuatro tratamientos (Figura 3) se determinó la presencia de 3 rangos diferentes: a, b y c. T1: Semilla con medio de cultivo Murashige Skoog MS 50% (a), T2: Semilla con medio de cultivo Woody Plant Medium WPM (b); los cuales al encontrarse en un rango distinto señala que existe diferencia entre sí, en el caso de T3: Yemas con medio de cultivo Woody Plant Medium WPM (c) y T4: Yemas con medio de cultivo Murashige Skoog MS 50% (c) se ubican en el mismo rango, por lo que no existe diferencia entre estos dos tratamientos.

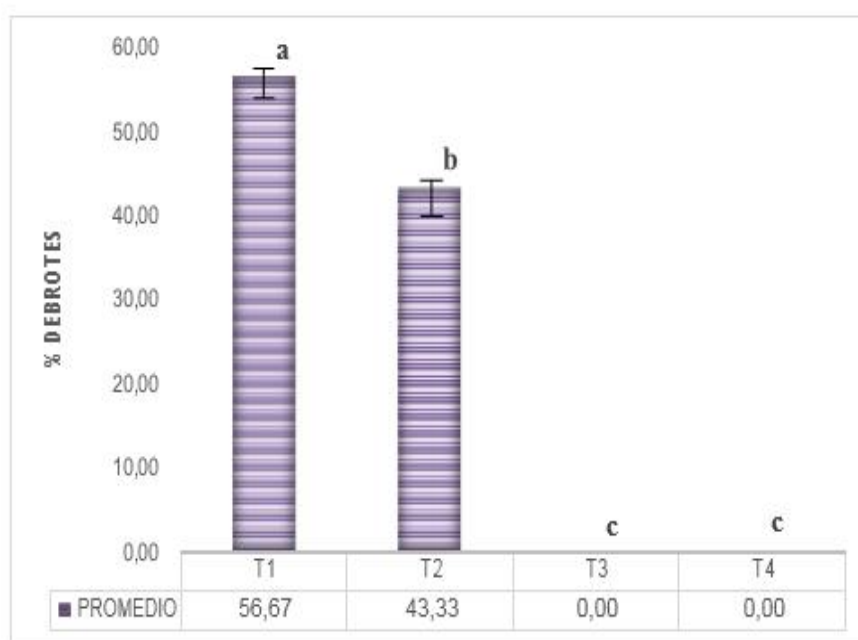


Figura 3. Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes en tratamientos. Elaborado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora).

Tras la realización del análisis estadístico se identificó (Figura 3), que el tratamiento T1 presentó un 56,66% y T2 con un 43,33% de germinación. Por otro lado, T3 y T4 tuvieron un 0% de germinación.

Por lo tanto, coincidimos con la investigación realizada por Dueñas (2017), en la cual obtuvo un 61% en medio MS y un 51% en WPM. En comparación con el estudio de Arahana, Torres,

y Trujillo (2010), en donde lograron un 60,7% de germinación en medio de cultivo WPM.

Mediante la identificación de la significancia entre los factores evaluados; factor medio de cultivo y factor medio de propagación, se procedió a realizar la prueba Tukey al 5% con la finalidad de determinar el mejor nivel para la obtención de brotes.

6.1.2 Prueba Tukey al 5% Factor A Medio de Cultivo

El análisis de la prueba Tukey al 5% (Figura 4) Factor A medios de cultivo Woody Plant Medium WPM y Murashige Skoog MS 50%; aplicados en la propagación sexual y asexual, determinó que los mismo presentan diferencias significativas entre sí.

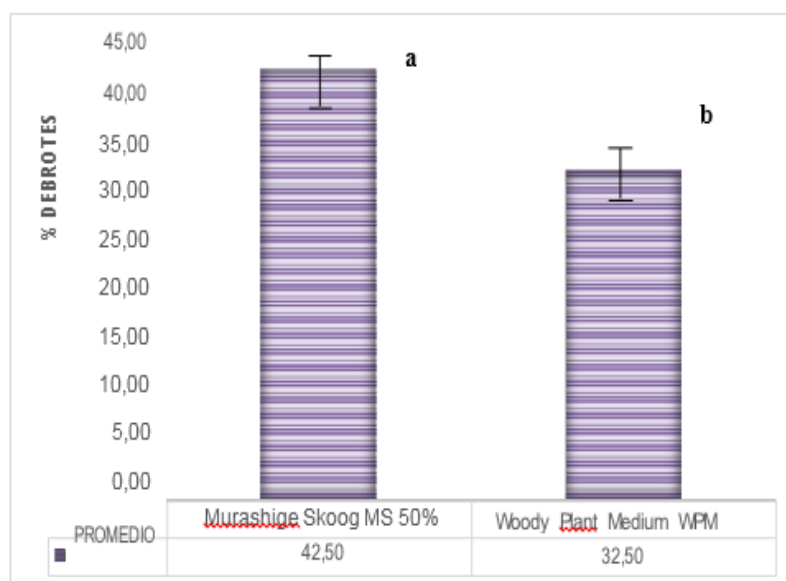


Figura 4. Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes Factor medio de cultivo. Elaborado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Como resultado en la Figura 4, existen 2 rangos distintos a y b. Medio de cultivo Murashige Skoog MS 50% (a) con un 42,50% y Woody Plant Medium WPM (b) con 32,50%. Según Guevara (2017), existió más germinación en el MS 50% debido a que este medio de cultivo, presenta mayor cantidad de sales en su composición.

6.1.3 Prueba Tukey al 5% Factor B Medio de Propagación

El análisis de la prueba Tukey al 5% (Figura 5) del Factor B medios de propagación sexual (semilla) y asexual (yema), determinó que los mismos presentan diferencias significativas entre sí.

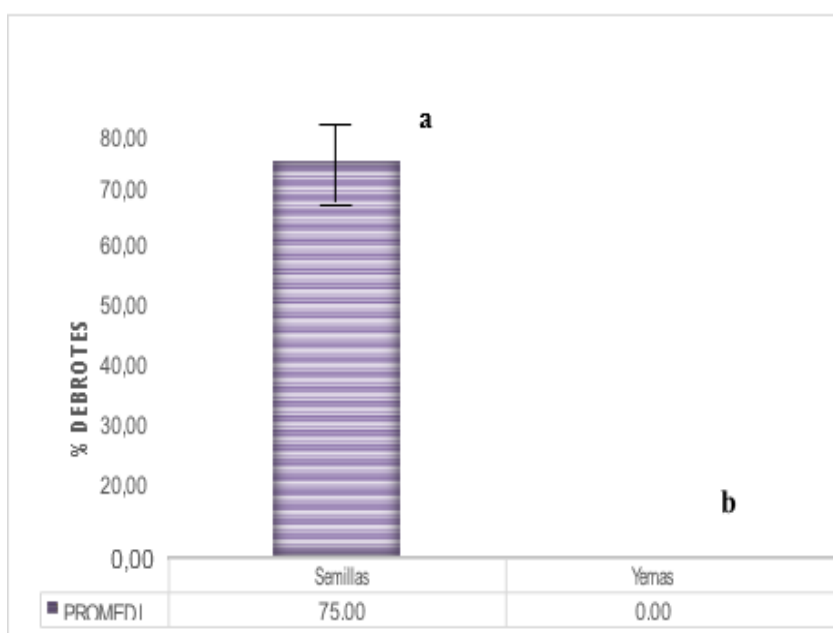


Figura 5. Prueba Tukey al 5% Porcentaje de brotes Factor medio de propagación. Elaborado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora).

Como resultado en la Figura 5, existen 2 rangos diferentes a y b. Germinación en el método sexual (semilla) (a) con un 75%, en comparación del método asexual (yema) (b) que tuvo un 0% de germinación, ya que se oxidaban o contaminaban con facilidad, según Arahana, Torres y Trujillo, (2010), se debe a que los explantes extraídos provienen de una planta silvestre de ambiente natural, esto explica por qué no germinaron en un medio in vitro.

La propagación por yemas presentó un 100% de contaminación y oxidación, concordamos con el estudio “Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L)” propuesta por Hine y Abdelnour (2013), en donde cultivaron por medio de estacas, logrando como resultado un 98% de contaminación por hongos.

TIEMPO DE GERMINACIÓN

6.2 Análisis de Varianza Tiempo de Germinación

La Tabla 6 indica el análisis estadístico del tiempo de germinación resultantes tras la evaluación en 7, 8 y 9 semanas, en los tratamientos, señalando que existen diferencias significativas (*). El porcentaje de coeficiente de variación es de 9,16%, esto significa que la toma de datos fue precisa, ya que estuvo bajo condiciones controladas. En laboratorio es aceptable un rango entre 0 a 10%.

Tabla 6

Análisis de Varianza Tiempo de germinación

ADEVA					F TAB		SIGNIFICANCIA
FC	GL	SC	CM	Fcal	0.05	0.01	
Total	17	1950.00					
Tratamientos	5	1766.67	353.33	23.13	3.11	5.06	*
Factor A Medio de Cultivo	1	88.89	88.89	5.82	4.75	9.33	*
Factor B Medio Propagación	2	1425.00	712.50	46.64	3.89	6.93	*
Interacción AxB	1	252.78	252.78	16.55	4.75	9.33	*
Erro exp.	12	183.33	15.28				

Fuente: La autora

6.2.1 Prueba Tukey al 5% Tratamientos

Tras la realización de la prueba Tukey al 5% en el tiempo de germinación evaluado en las semanas 7,8,9 (Figura 6), se determinó la presencia de 6 rangos diferentes: a, b, c, d, e y f. T1-8 octava semana (a), T2-8 octava semana (b), T2-9 novena semana (d) y T1-9 novena semana (e) los cuales al encontrarse en un rango distinto señala que existe diferencia entre sí, en el caso de T2-7 séptima semana (c) y T1-7 séptima semana (c) se ubican en el mismo grupo, por lo que no existe diferencia entre los dos tratamientos. Por otro lado, el rango (f) pertenece a T3 y T4 en las semanas 7,8 y 9.

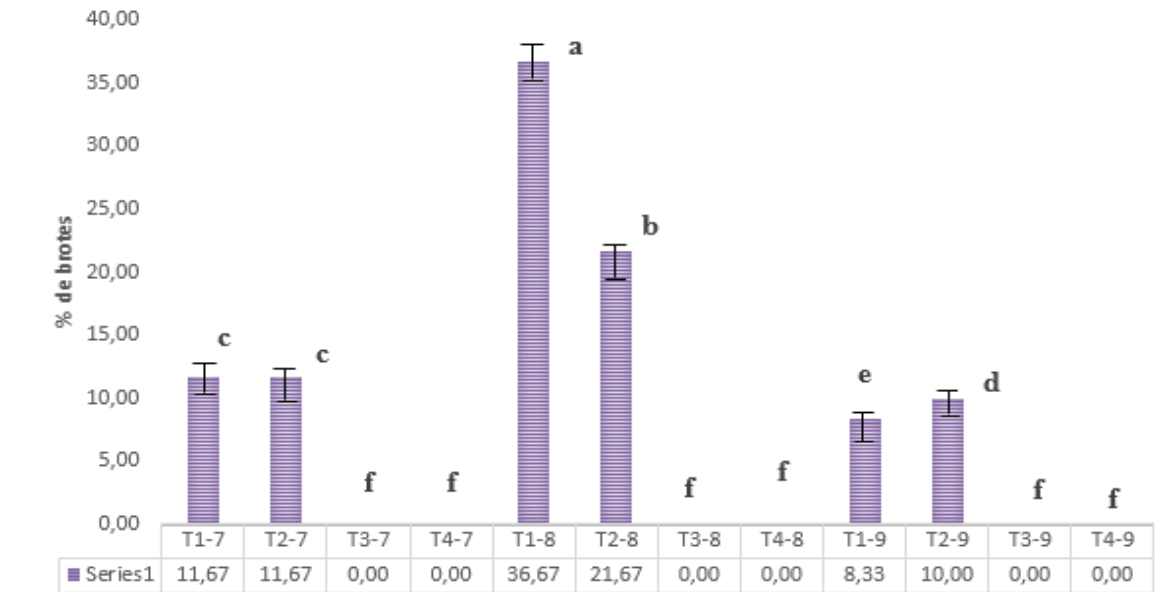


Figura.6. Prueba Tukey al 5% tiempo de germinación tratamientos. Elaborado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora).

Tras el análisis estadístico se determinó (Figura 6), que las semillas empezaron a germinar desde la séptima semana con un 11,67% para T1-7 y T2-7. Por otro lado, se observó aumento del porcentaje de brotes en la octava semana en el T1-8, con un 36,67% y T2-8 con 21,67%. En la novena semana disminuye el porcentaje de brotes a un 8,33% en T1-9 y en T2-9 10,00 %. En los tratamientos T3 y T4 en las semanas 7,8 y 9, existe un 0% de germinación.

6.2.2 Prueba Tukey al 5% Factor A Medio de Cultivo

Al identificar que existe una diferencia significativa relacionada a la aplicación de los medios de cultivo WPM y MS 50%, se realizó el análisis de la prueba Tukey al 5% (Figura 7) de dicho factor.

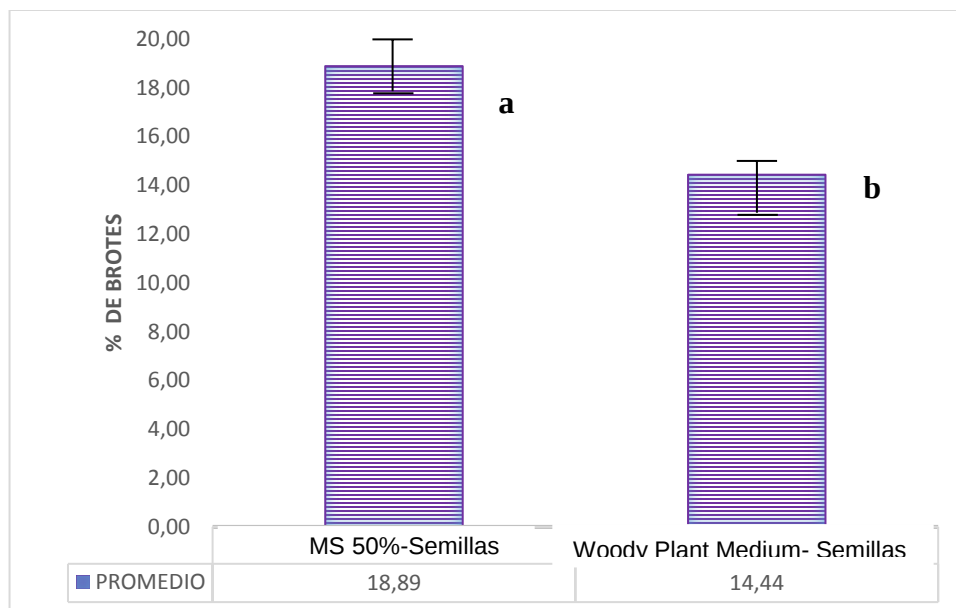


Figura 7 Prueba Tukey al 5% tiempo de germinación factor medio de cultivo. Elaborado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora).

Como resultado en la Figura 7, existe 2 rangos distintos a y b. El medio de cultivo MS 50% de 18,89% y en WPM del 14.44%. Según Guevara (2017), existió más germinación en el MS 50% debido a que este medio de cultivo, presenta mayor cantidad de sales en su composición.

El tiempo que se consideró para evaluar las variables fue de 12 semanas, 90 días, debido a que en la investigación de Noboa (2010), plantea que las semillas del mortiño (*Vaccinium floribundum*) tienen una energía de germinación muy baja, de apenas 2,6%.

Como objetivo principal de la investigación se planteó establecer un protocolo para el cultivo in vitro de la especie (*Vaccinium floribundum*), según Brenes et al., (2014), en su investigación de “Micro propagación de cuatro cultivares de arándanos (*Vaccinium spp.*)”, recalca que no se puede generalizar los protocolos para cultivar ya que son específicos en cada especie.

6.3 Socialización

La socialización fue realizada en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, donde se invitó a personal de UNORCAC, Sumak Mikuy y Ministerio del Ambiente y docentes de la PUCESI, en la cual se dio a conocer los resultados preliminares de la investigación.

Se entregó una encuesta a cada uno de los participantes para saber su criterio acerca de la investigación realizada; por lo cual se obtuvo los siguientes resultados que se detallan a continuación.

Medición de impacto de la investigación

Pregunta 6. ¿Considera usted que el tema investigativo posee relevancia para algún actor y/o sector de la sociedad?

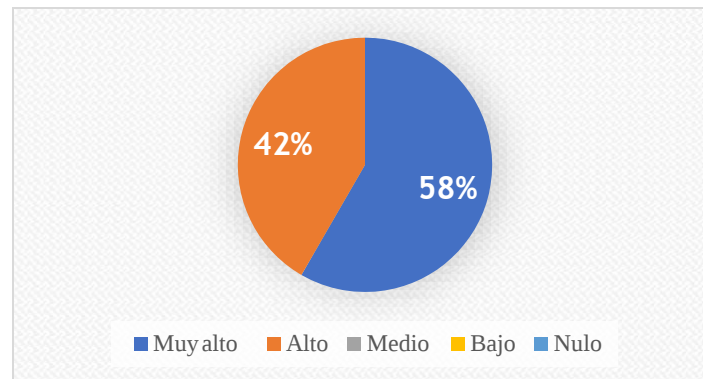


Figura 8. Gráfico de la relevancia que tiene el tema investigado para la sociedad.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora).

Al consultar a los encuestados la relevancia del proyecto de investigación para algún actor y/o sector de la sociedad, el 58% nos dicen que posee una relevancia muy alta, el 42% manifestó que la relevancia de la investigación es alta; además ninguno dijo que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

Pregunta 7. ¿Considera usted que ésta investigación posee perspectiva para estudios complementarios posteriores?

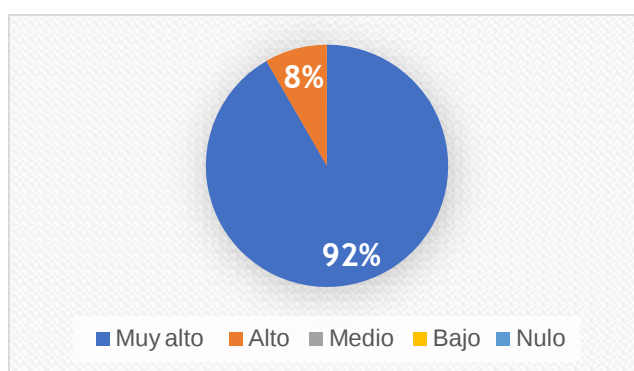


Figura 9. Gráfico sobre si la investigación posee perspectiva para estudios posteriores.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora).

Al preguntar a los encuestados de las perspectivas que posee esta investigación para estudios complementarios posteriores, el 92% de ellos indicó que tiene un nivel muy alto, para el 8% tiene un nivel alto; en cambio ninguno dio a conocer que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

Pregunta 8. ¿Considera usted que el tema investigado genera actualmente o a futuro un beneficio concreto para alguna organización empresa pública o privada, comunidad o institución?

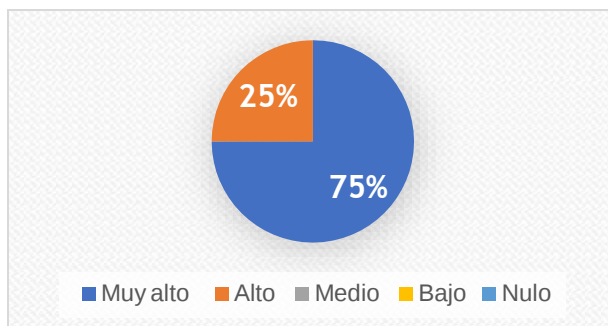


Figura 10. Gráfico acerca si el tema investigado genera actualmente o a futura un beneficio.

Elaborado por: Chamorro, García. 2019 (La Autora).

Esta pregunta manifiesta que el 75% de los participantes dicen que el tema investigado genera un nivel muy alto, debido a que actualmente o a futuro traerá un beneficio concreto para alguna organización empresa pública o privada, comunidad o institución, en cambio el 25% da a conocer que tiene un nivel alto; pero ningún encuestado manifestó que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

7 CONCLUSIONES

- Se estandarizó el protocolo para el cultivo in vitro en el método sexual, a través de semillas con tres procesos: extracción, desinfección y siembra in vitro. Lográndose una germinación del 75%.
- Una vez finalizada la investigación se pudo determinar según el análisis estadístico que el tratamiento T1 (Semillas con Murashige Skoog MS %50), tuvo un porcentaje de germinación del 56.67%, produciendo más cantidad de plántulas en la octava semana, con un 36.67%, siendo el mejor tratamiento para propagación in vitro.
- Se puede concluir que el medio de cultivo óptimo para la propagación in vitro es Murashige y Skoog MS 50%, por la cantidad de sales que tiene en su composición, en comparación con el medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium).
- Se determinó que, en el caso de la propagación asexual in vitro a través de yemas, se obtuvo un 0% de propagación, debido a la alta contaminación y oxidación de los explantes. Esto se debe a que las yemas provienen de un ambiente natural, en donde la planta del mortiño crece de forma silvestre.

8 RECOMENDACIONES

- Se recomienda seguir los protocolos establecidos en la presente investigación: extracción, desinfección y siembra de semillas para lograr una óptima propagación in vitro.
- Continuar con investigaciones sobre la adaptación de las plántulas producidas in vitro, en el campo.
- Estandarizar un protocolo para la propagación in vitro en yemas del mortiño.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, M., García, J., y Rojas, S. (2004). Propagación asexual de plantas. Bogotá, Colombia: Promedios.
- Arahana, V., Torres, M., y Trujillo, D. (2010). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). AVANCES, Recuperado de <http://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/27>
- Amador, A., Karina, D., Josefina, L., Cornejo, S., Bivián, C., y Egla, Y. (2013). Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). Polibotánica, 109-131.
- Ayala, K. (2017). Caracterización morfológica del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en la Sierra norte del Ecuador. (Tesis de grado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Brenes, A., Castillo, R., y Gómez, L. (2014). Micro propagación de cuatro cultivares de arándano (*Vaccinium spp.*) a partir de segmentos foliares de dos procedencias. Agronomía Costarricense. Recuperado de <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/19541>
- Castillo, A. (2004). FAO. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Uruguay. Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=UY2006005431>
- Castro, D., y Álvarez, J. (2013). Micro propagación clonal de tres genotipos mortiño, (*Vaccinium meridionale* sw), por proliferación de yemas axilares. Actualidades Biológicas, 145-160. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-35842013000200002&script=sci_abstract&tlng=es
- Coba, P., Coronel, D., Verdugo, K., Paredes, M., Yugsi, E., y Guachi, L. (2012). Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. LA GRANJA Revista de Ciencias de la vida. Recuperado de <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/371>
- Codemarin, C., Montealegre, J., Chico, R., y Vargas, C. (2007). Efecto del ácido indolbutírico (iba) y 6-bencilaminopurina(bap) en el desarrollo in vitro de yemas axilares de *deencyclia micratos* (rchb.f.) hoehne (Orchidaceae). Lankesteriana International Journal on Orchidology, 247-254.

- CORANTOQUIA. (noviembre de 2009). Conozcamos y usemos el mortiño. Medellín. Recuperado de <http://docplayer.es/14994155-Conozcamos-y-usemos-el-mortino-3raaedicion-medellin-2009.html>
- Correa, J., y Jácome, J. (octubre de 2015). Propagación in vitro *Vaccinium sp.* (Tesis de grado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.
- Dueñas, F. (2017). Establecimiento in vitro del frutal andino mortiño (*Vaccinium floribundum*) para la aplicación de agrotecnologías de multiplicación acelerada (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- FAO. (03 de marzo de 2011). FAO. Ecuador considera que el deber de los gobiernos es preservar la biodiversidad. Obtenido de FAO: <http://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/en/c/489819/>
- González, M., y Rodríguez, A. (06 de julio de 2009). La Sistemática y Propagación de las plantas. Recuperado de <http://sistematicaypropagacion.blogspot.com/2009/07/propagacion-sexual-y-asexual-de-las.html>
- Guevara, M. (2017). Efecto del estado de madurez, temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad fisicoquímica del fruto de pushgay (*Vaccinium floribundum h.b.k.*). (Tesis de grado). Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú.
- Hine, G., y Abdelnour, E. (2013). Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*). Tecnología en Marcha. Recuperado de http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1584
- Trópicos. (27 de Julio de 2009). Tropicos. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador Recuperado de <http://www.tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=12300488&projectid=2&langid=66>
- Josse, C., y Anhalzer, J. (1996). Guía para los páramos del sistema nacional de áreas protegidas del Ecuador. Instituto Ecuatoriano Forestal de Áreas Naturales y Vida Silvestre.
- Muñoz, V. (diciembre de 2004). Determinación de métodos para producción del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), con fines de propagación y producción comercial. (Tesis de grado) Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
- Noboa, V. (abril de 2010). Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido naftalenacético en la propagación vegetativa del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*). (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Puche, F. (19 de febrero de 2012). Biotecnología ITCA. Obtenido de Componentes del Medio de Cultivo.

- Recto, L. (2018). Micropropagación de plántulas de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) bajo condiciones in vitro. (Tesis de grado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Rhoades, R. (2006). Desarrollo con identidad: comunidad, cultura, y sustentabilidad en los Andes. Cotacachi: Abya Yala.
- Rojano, B. (09 de marzo de 2009). El mortiño, una de las frutas con mayor potencial antioxidante. Universidad Nacional de Colombia - Medellín. Recuperado de <https://www.mineducación.gov.co/cvn/1665/article-184637.html>.
- Salazar, S. (2012). Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo in vitro de plántulas de *Cattleya mendelii* Dombrain (Orchidaceae). Acta Agronómica, 69-78.
- Trópicos. (18 de octubre de 2018). Trópicos. Obtenido de Trópicos : <http://www.tropicos.org/MapsGoogle.aspx?mapid=16793230#>
- Trujillo, D. (mayo de 2008). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*). (Tesis de grado). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
- Urbina, V. (2009). La propagación de las plantas y la conservación y difusión de las variedades frutales. Recuperado de <http://ocw.udl.cat/enginyeria-i-arquitectura/fructicultura/continguts-1/l-7/monografia-no-7-cap.-1.-la-propagacion-de-las-plantas>
- Valdivieso, C., y Pérez, S. (26 de enero de 2007). Colección y caracterización morfológica in situ del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunt*) en la Sierra norte de Ecuador. (Tesis de grado). Escuela Politécnica del Ejército. Quito, Ecuador.
- Varela, S., y Arana, V. (03 de marzo de 2011). INTA Grupo de Ecología Forestal. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_latencia.pdf
- Vargas, M. (2002). Ecología y biodiversidad del Ecuador. Quito.

10 ANEXOS

Anexo 1 Comunidad Cashaloma ubicación mortiño (*Vaccinium floribundum*)



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 2 Identificación de la planta mortiño (*Vaccinium floribundum*)



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 3 Lavado de semillas en un tamiz N°60



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 4 Extracción de yemas en el microscopio



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 5 Desinfección cuarto de cultivo



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 6 Desinfección cámara de flujo laminar



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 7 Desinfección de materiales con rayos UV



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 8 Semilla del mortiño (*Vaccinium floribundum*) germinada



Tomado por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 9 Plántula desarrollada y semilla no germinada (*Vaccinium floribundum*)



Tomada por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 10 Plántulas desarrolladas de mortiño (*Vaccinium floribundum*)



Tomadas por: Chamorro, G. 2018 (La Autora)

Anexo 11 Composición medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium)

Macronutrientes	
(mg/l)	
Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	684
KNO ₃	190
NH ₄ NO ₃	400
KH ₂ PO ₄	170
MgSO ₄ *7H ₂ O	370
Micronutrientes	
(mg/l)	
H ₃ BO ₃	6.2
CoCl ₂ *6H ₂ O	0.025
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.25
MnSO ₄ *4H ₂ O	22.3
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ *2 H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8.6
FeSO ₄ *7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.2
Elementos Orgánicos	
(mg/l)	
Ácido ticotínico	0.5
Tiamina	0.1
Piridoxina	0.5
Myo -inositol	100
Glicina	2

Fuente. Tabla obtenida de Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) (Arahana, Torres, y Trujillo, 2010).

Anexo 12 Composición medio de cultivo MS (Murashige Skoog) al 50% de concentración

Macronutrientes	
(mg/l)	
CaCl ₂ H ₂ O	220
KNO ₃	950
NH ₄ NO ₃	825
KH ₂ PO ₄	85
MgSO ₄ *7H ₂ O	185
Micronutrientes	
(mg/l)	
H ₃ BO ₃	3.1
CoSO ₄ *6H ₂ O	0.013
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.13
MnSO ₄ *4H ₂ O	7.8
KI	0.42
Na ₂ MoO ₄ *2 H ₂ O	0.13
ZnSO ₄ *7H ₂ O	4.3
FeSO ₄ *7H ₂ O	13.9
Na ₂ EDTA	18.65
Elementos Orgánicos	
(mg/l)	
Ácido ticotínico	0.25
Tiamina	0.05
Piridoxina	0.25
Myo -inositol	50

Fuente. Tabla obtenida de Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) (Arahana, Torres, y Trujillo, 2010)

Anexo 13 Invitación Socialización

Pontificia Universidad
Católica del Ecuador
SEDE IBARRA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES



Ibarra, 22 de enero de 2019
Oficio No. 027 DIR-ECAA

Biólogo
Alfredo López
SUBSECRETARIO DE PATRIMONIO CULTURAL

Quienes hacemos la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales queremos expresarle un atento y cordial saludo y nuestro deseo de éxito en las funciones a usted encomendadas.

Por medio del presente pongo a su conocimiento que la Srta. Grace Carolina Chamorro García, estudiante de la Carrera de Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo de la PUCESI, está realizando su trabajo de titulación denominado **"Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie"**, bajo la dirección del Mgs. Santiago Matla docente de la ECAA. Hago extensiva la más cordial invitación a que participe en la socialización de los resultados obtenidos en la investigación, evento que se realizará el día lunes 28 de enero de 2019 a las 12H00 en la sala de capacitación de docentes de la ECAA aula 4.3.5 edificio Nro. 4, en el que la estudiante dará cumplimiento al uno de los objetivos de su trabajo.

Esperando contar con su presencia, misma que dará mayor realce al evento, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,



Ph.D. Yadira Ordóñez
DIRECTORA DE LA ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
/c/

Dr. Jorge Santiago Buitrago y Asociados
Ingeniería Civil, S.A. de C.V.
Código de barras
Tel: 051 995 595 000 (051) 995 595 000
www.jorgebuitrago.com



Ibarra, 22 de enero de 2019
Oficio No. 032 DIR-ECAA

Ingeniero
Miguel Arias
RESPONSABLE DE BIOECONOMÍA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE

Quiénes hacemos la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales queremos expresarle un atento y cordial saludo y nuestro deseo de éxito en las funciones a usted encomendadas.

Por medio del presente pongo a su conocimiento que la Srta. Grace Carolina Chamorro García, estudiante de la Carrera de Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo de la PUCEI, está realizando su trabajo de titulación denominado **"Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie"**, bajo la dirección del Mgs. Santiago Maffa docente de la ECAA. Hago extensiva la más cordial invitación a que participe en la socialización de los resultados obtenidos en la investigación, evento que se realizará el día lunes 28 de enero de 2019 a las 12H00 en la sala de capacitación de docentes de la ECAA aula 4.3.5 edificio Nro. 4; en el que la estudiante dará cumplimiento al uno de los objetivos de su trabajo.

Esperando contar con su presencia, misma que dará mayor realce al evento, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,




Ph.D. Yadira Ordóñez
DIRECTORA DE LA ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
Vc:

Ibarra, 22 de enero de 2019
Oficio No. 027 DIR-ECAA

Ingeniera,
Verónica Acosta
GERENTE SUMAK MIKUY

Quienes hacemos la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales queremos expresarle un atento y cordial saludo y nuestro deseo de éxito en las funciones a usted encomendadas.

Por medio del presente pongo a su conocimiento que la Srta. Grace Carolina Chamorro Garcia, estudiante de la Carrera de Ciencias Ambientales y Codesarrollo de la PUCE, está realizando su trabajo de titulación denominado "**Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortño (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie**", bajo la dirección del Mgs. Santiago Mafla docente de la ECAA. Hayo extensiva la más cordial invitación a que participe en la socialización de los resultados obtenidos en la investigación, evento que se realizará el día lunes 28 de enero de 2019 a las 12H00 en la sala de capacitación de docentes de la ECAA aula 4.3.5 edificio Nro. 4, en el que la estudiante dará cumplimiento al uno de los objetivos de su trabajo.

Esperando contar con su presencia, misma que dará mayor realce al evento, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,


Ph.D. Yalira Ordóñez

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
Vc



Ibarra, 22 de enero de 2019
Oficio No. 029 DIR-ECAA

Técnico
Alfonso Morales
PRESIDENTE DE LA UNORCAC

Quienes hacemos la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales queremos expresarle un atento y cordial saludo y nuestro deseo de éxito en las funciones a usted encomendadas.

Por medio del presente pongo a su conocimiento que la Srta. Grace Carolina Chamorro García, estudiante de la Carrera de Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo de la PUCESI, está realizando su trabajo de titulación denominado "**Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (*Vaccinium floribundum*) con fines de conservación de la especie**", bajo la dirección del Mgs. Santiago Maffa docente de la ECAA. Hago extensiva la más cordial invitación a que participe en la socialización de los resultados obtenidos en la investigación, evento que se realizará el día lunes 28 de enero de 2019 a las 12:00 en la sala de capacitación de docentes de la ECAA aula 4.3.5 edificio Nro. 4, en el que la estudiante dará cumplimiento al uno de los objetivos de su trabajo.

Esperando contar con su presencia, mismo que dará mayor realce al evento, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,



Ph.D. Yadira Ordóñez

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

W:



Anexo 14 Asistencia Socialización



LISTA DE ASISTENCIA A SOCIALIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN

NOMBRE DEL EXPOSITOR: Grace Chamara

CARRERA: Ing. Ambiental

FECHA: 28 Mayo 2019

NOMBRE ASISTENTE	NÚMERO DE CEDULA	INSTITUCIÓN A LA QUE REPRESENTA	FIRMA
Victor Juarez	1001495543	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Daniel Britón S	1003182679	PUCE-S	<i>[Signature]</i>
Santiago Morillo	1001052399	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Melany Arellano	1004628093	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Cesar Ariza	0401681564	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Marcela Hinojosa	100287828-6	Perosi	<i>[Signature]</i>
Shirley Zamora	100450388-2	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Andrea Estrada	100296064-8	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Monica Herrera	100174377-1	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Paola Chacón	100274409-0	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Geithyan Amango Ruiz	100263395-3	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
Marcos Saiz	100102081-2	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>
García Zúñiga	040187266-9	PUCE-SI	<i>[Signature]</i>

Pregunta 1. ¿Considera usted que la sala donde se desarrolló este evento brindó las comodidades necesarias?

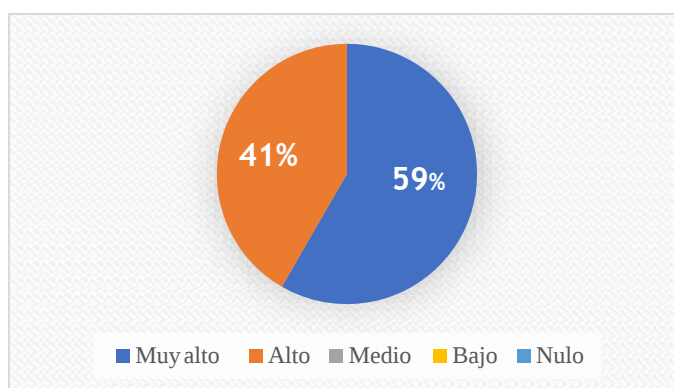


Gráfico del sitio donde se desarrolló el evento.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora)

Según los participantes en la encuesta nos dan a conocer (Figura 9) que el 59% indican que el lugar donde se llevó acabo la socialización tiene un nivel muy alto y 41% nivel alto, es decir que el evento brindó las comodidades óptimas. Por otro lado, ninguna persona calificó con un nivel medio, bajo o nulo el lugar donde se expuso la investigación.

Pregunta 2. ¿Considera usted que el material audiovisual utilizado en la presentación fue adecuado?

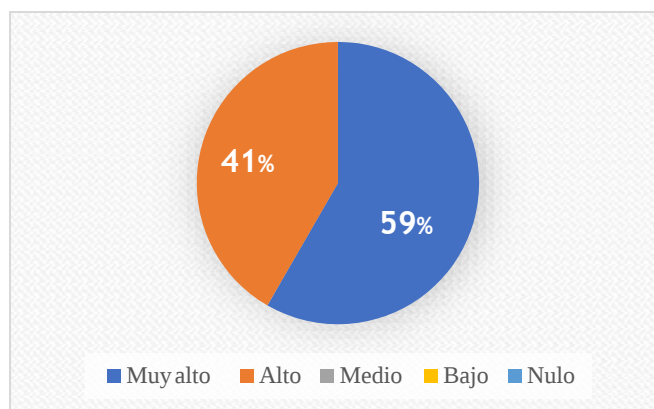


Gráfico del material audiovisual utilizado en la exposición.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora)

Según los participantes en la encuesta nos dan a conocer (Figura 10) que el 59% dicen que el material audiovisual tiene un nivel muy alto para exponer el tema de investigación, es decir que el evento brindó las comodidades óptimas y un 41% nivel alto. Por otro lado, ninguna persona calificó con un nivel medio, bajo o nulo el material audiovisual.

Ejecución del evento por parte del expositor

Pregunta 3. ¿Considera usted que el expositor mostró dominio del tema?

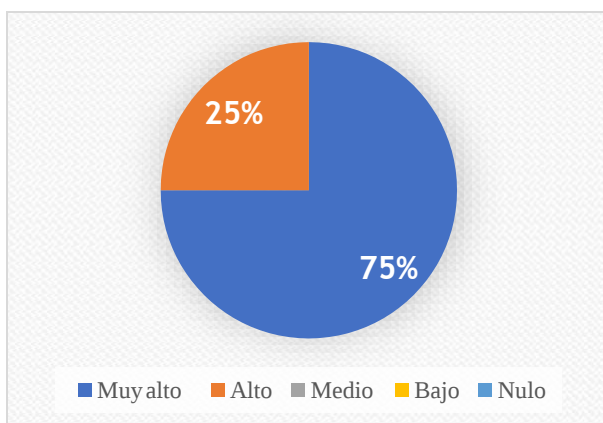


Gráfico del dominio del tema por parte del expositor.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora)

Las personas encuestadas manifiestan que el expositor tuvo un dominio muy alto al exponer el tema de investigación, lo que representa el 75% y 25% dominio alto; dando a conocer que ninguna de las personas encuestadas dijo que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

Pregunta 4. ¿Estima usted que el manejo del auditorio por parte del expositor fue adecuado?

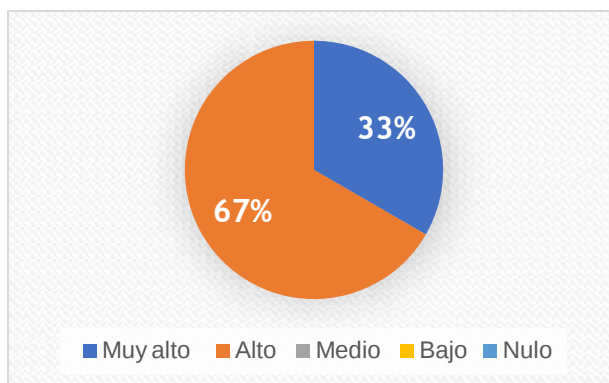


Gráfico del manejo del auditorio por parte del expositor.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora)

En esta pregunta el 33% de los encuestados dicen que el manejo del auditorio por parte del expositor fue muy alto, mientras que el 67% manifiestan que tuvo un manejo alto, nadie de los participantes dio a conocer que el manejo del auditorio por parte del expositor fue medio, bajo o nulo.

Pregunta 5. ¿Considera usted que el expositor demostró facilidad de expresión?

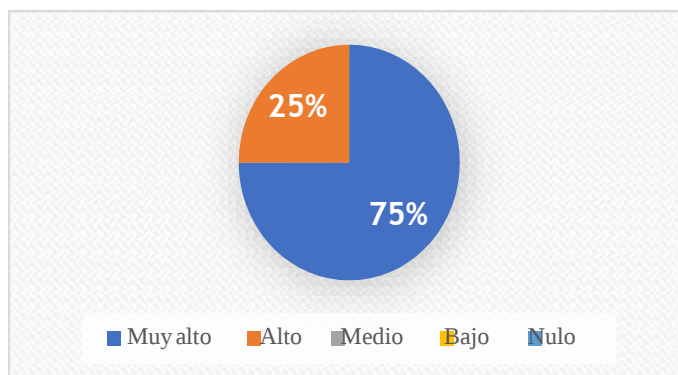


Gráfico de la facilidad de expresión que tuvo el expositor durante la exposición.

Elaborado por: Chamorro, G. 2019 (La Autora).

Al analizar el criterio de los encuestados acerca de la facilidad de expresión que tuvo el expositor, el 75% dicen que tuvo un nivel muy alto de facilidad de expresión; en cambio el 25% manifiestan que existió un nivel alto; en cambio ninguno manifestó que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

Pregunta 9. ¿En función de los objetivos planteados expuestos en la investigación, considera usted que éstos se cumplieron?

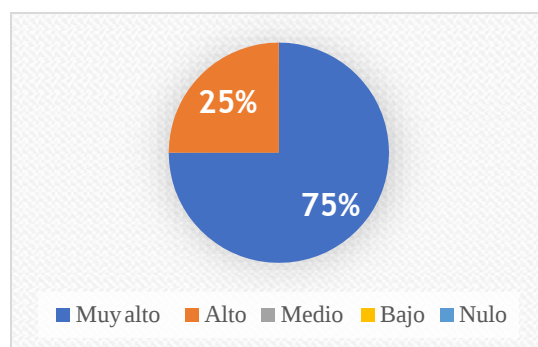


Gráfico sobre si los objetivos de la investigación fueron cumplidos.

Elaborado por: Chamorro, G.2019 (La Autora).

Según los objetivos expuestos en la investigación, el 75% de los participantes dicen que el cumplimiento de estos fue muy alto y el 25% considera que tuvo un nivel alto; mientras ninguno dijo que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

