



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES “ECAA”

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

CRIOCONSERVACIÓN DE ESPECIES NATIVAS DEL GÉNERO BRUGMANSIA A TRAVÉS DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LA PALINOTECA EN EL HERBARIO PUCE – SI PARA MITIGAR LA EROSIÓN GENÉTICA EN LA PARROQUIA ANGOCHAGUA, CANTON IBARRA.

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

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

Línea 3. Conservación de la biodiversidad

Sublínea 3.1 Estudio, conservación y manejo de la biodiversidad

AUTORA: Karen Paulina Romo Santafé

ASESORA: Mgs. María Fernanda López

IBARRA, NOVIEMBRE - 2018



Ibarra, 08 de noviembre de 2018

Mgs. María Fernanda López Flores
ASESORA

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) 

Mgs. María Fernanda López Flores

C.C.: 1002509600



PÁGINA DE 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) 


Mgs. María Fernanda López Flores

C.C.: 1002509600

(f) 

Mgs. Mónica Patricia Velástegui Moreno

C.C.: 0503323024

(f) 

Mgs. José Valdemar Andrade Cadena

C.C.: 1001927167



ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo Karen Paulina Romo Santafé, 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 utilizaciones 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, 08 de noviembre de 2018

Karen Paulina Romo Santafé

C.C.: 100301065-7



AUTORÍA

Yo, Karen Paulina Romo Santafé, portador de la cédula de ciudadanía N°100301065-7, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.

Karen Paulina Romo Santafé

C.C.: 100301065-7



DECLARACIÓN y AUTORIZACIÓN

Yo: Karen Paulina Romo Santafé, con CC: 100301065-7, autor del trabajo de grado intitulado: Crioconservación de especies nativas del género *Brugmansia* a través de la implementación de la palinoteca en el herbario PUCE – SI para mitigar la erosión genética en la Parroquia Angochagua, Canton Ibarra, previo a la obtención del título profesional de Ingeniero en Ciencias Ambientales y Eco desarrollo, 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, (08, noviembre de 2018)

Karen Paulina Romo Santafé

C.C.: 100301065-7



DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación del Proyecto de Titulación: “Crioconservación de especies nativas del género *Brugmansia* a través de la implementación de la palinoteca en el herbario PUCE – SI para mitigar la erosión genética en la Parroquia Angochagua, Canton Ibarra”, 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.

Ibarra, 08 de noviembre de 2018

Karen Paulina Romo Santafé

C.C.: 100301065-7



DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado primero a Dios por brindarme la seguridad y firmeza para seguir adelante y no dejarme caer, segundo a mis padres que han sido una parte fundamental en el proceso para culminar con mi investigación, sin el esfuerzo y apoyo que ellos me proporcionaron desinteresadamente, no hubiera logrado concluir con mis estudios y nada de esto hubiera sido posible.

A mis hermanos y abuelitos que son una parte muy importante de mí y el principal incentivo de mi vida que hace que nunca me rinda y siga luchando, ellos me proporcionaron el aliento y la alegría de mis días cuando el camino se hacía duro y debía esforzarme más.

A mi asesora que depositó la confianza en mí y supo guiarme a lo largo de este camino y a mis ingenieros que supieron saber llegar a mi persona, compartiendo sus conocimientos para hacer de mí, una futura profesional llena de valores y principios éticos y morales.

Finalmente a mis amigos que estuvieron desde el inicio hasta el fin, motivándome con sus ocurrencias y compañía sincera.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi Dios en primer lugar, porque junto a él todo es posible, gracias por haberme permitido culminar con mi carrera, a mis padres por su preocupación e interés que demostraron a lo largo de mi vida estudiantil, gracias por nunca dudar de mis capacidades y siempre estar orgullosos de mi persona.

A mi hermanito menor David que en su corta edad siempre estuvo pendiente prestándome toda su atención y ayuda en todo lo que requería gracias mi pequeño por confiar tanto en mí, jamás te voy a defraudar y a mi querida abuelita Enriqueta gracias por su buena predisposición, prestarme su ayuda en las cosas que necesitaba, enseñarme que una abuela puede llegar a ser tu amiga con profusa sabiduría y a la vez tu confidente para contarle todos tus secretos. Gracias por estar siempre conmigo.

A mi asesora Mgs. María Fernanda López quien fue pieza fundamental para concluir mi investigación, gracias por brindarme su tiempo y aportarme sus conocimientos durante este trayecto al Dr. Rubén Del Toro y al Mgs. Diego Jauregui le agradezco de todo corazón por demostrarme su apoyo y ayudarme desinteresadamente.

Al GAD parroquial de Angochagua que me dieron apertura en cada una de las comunidades con gran amabilidad, para remitir, información necesaria para concluir con la investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
Objetivo General:	4
Objetivos Específicos:.....	4
Preguntas de investigación	5
4. ESTADO DEL ARTE	5
4.1. Etnobotánica.....	5
4.1.1. Conocimientos ancestrales de etnobotánica	5
4.2. Usos de la especie:	6
4.2.1. Uso terapéutico	6
4.2.2. Uso medicinal	7
4.2.3. Uso cultural.....	7
4.2.4. Usos andinos del floripondio	8
4.3. Censos florísticos	8
4.4. Descripción de la especie:	9
4.5. Descripción taxonómica:.....	9
4.5.1. Guanto / <i>Brugmansia arbórea</i>	9
4.5.2. Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	10
4.5.3. Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	10
4.6. Estudio del polen.....	11
4.7. Morfología del polen:.....	12
4.8. Métodos de análisis polínico	13
4.9. Palinoteca	14

4.10.	La polinización	15
4.11.	Polinizadores y relación ecológica	16
4.11.1.	Tipos de polinizadores	17
4.12.	Crioconservación en polen	18
4.13.	Principio de crioconservación	19
4.14.	Método de crioconservación.....	20
4.14.1.	La vitrificación.....	21
4.14.2.	Encapsulación – deshidratación:.....	21
4.14.3.	La encapsulación – vitrificación	21
4.15.	Grupos focales	22
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5.1.	Materiales:.....	22
5.1.1.	Materiales de Campo	22
5.1.2.	Materiales de laboratorio:	23
5.1.3.	Reactivos:.....	24
5.1.4.	Equipos:	24
5.2.	MÉTODOS	24
5.3.	Fase de campo	25
5.3.1.	Encuesta a los pobladores:.....	25
5.3.2.	Puntos de muestreo:	25
5.3.3.	Georreferenciación de la zona:	26
5.3.4.	Recolección de especímenes.....	27
5.3.5.	Transporte de especímenes recolectados	27
5.3.6.	Recolección de polen	28
5.3.7.	Muestreo de polinizadores	28
5.4.	Fase de laboratorio	28

5.4.1.	Identificación taxonómica de muestras vasculares en el herbario.....	29
5.4.1.1.	Periodo de cuarentena	29
5.4.1.2.	Prensado y secado	29
5.4.1.3.	Identificación y montaje de las muestras vasculares.....	29
5.4.1.4.	Etiquetado, codificación y almacenamiento de muestras de herbario	30
5.4.2.	Procesamiento de muestras de polen	30
5.4.2.1.	Montaje de muestras de polen.....	30
5.4.3.	Identificación de la estructura o morfología del polen.....	31
5.4.4.	Protocolo de crioconservación del polen.....	31
5.4.4.1.	Método de encapsulación y deshidratación.....	32
5.4.4.2.	Método convencional de almacenamiento	33
5.4.5.	Viabilidad de polen.....	33
5.4.6.	Tinción de tubos polínicos	34
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
6.1.	Fase de campo.....	35
6.1.1.	Zona de estudio:	36
6.1.2.	Puntos de muestreo.....	37
6.1.2.1.	Puntos de muestreo en mapa de uso de suelo	38
6.1.2.2.	Puntos de muestreo en mapa de cobertura vegetal.....	39
6.1.2.3.	Puntos de muestreo en mapa de ecosistemas	40
6.1.2.4.	Identificación de especies por comunidad	41
6.1.2.5.	Puntos de muestreo por comunidad	42
6.1.2.6.	Muestreo de plántulas vasculares por especie.....	52
6.1.3.	Conocimientos ancestrales	54
6.2.	Fase de laboratorio.....	61
6.2.1.	Levantamiento florístico.....	62

6.2.1.1.	Descripción taxonómica de las especies Brugmansia.....	62
6.2.1.2.	Muestras de herbario	63
6.2.2.	Morfología de polen	64
6.2.3.	Muestreo de polinizadores.....	71
6.2.4.	Protocolo de crioconservación	74
6.2.4.1.	Viabilidad de polen	74
6.2.5.	Comparación de los métodos de conservación de polen	98
6.3.	Resultados de socialización	105
7.	CONCLUSIONES.....	113
8.	RECOMENDACIONES	115
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
10.	ANEXOS	126

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Levantamiento florístico de la comunidad Angochagua	43
Tabla 2 Levantamiento florístico de la comunidad Cochas.....	44
Tabla 3 Levantamiento florístico de la comunidad Culebrillas	45
Tabla 4 Levantamiento florístico de la comunidad El Chilco	47
Tabla 5 Levantamiento florístico de la comunidad La Rinconada	48
Tabla 6 Levantamiento florístico de la comunidad Magdalena.....	50
Tabla 7 Levantamiento florístico de la comunidad Zuleta	51
Tabla 8 Levantamiento florístico de la especie <i>Brugmansia arbórea</i>	52
Tabla 9 Levantamiento florístico de la especie <i>Brugmansia sanguínea</i>	53
Tabla 10 Levantamiento florístico de la especie <i>Brugmansia aurea</i>	54
Tabla 11 P/E de especies <i>Brugmansia</i>	70
Tabla 12 Polinizadores y relaciones mutualistas del género <i>Brugmansia</i>	71
Tabla 13 Viabilidad segundo mes.....	76
Tabla 14 Viabilidad cuarto mes	79
Tabla 15 Viabilidad sexto mes.....	82
Tabla 16 Viabilidad especie <i>Brugmansia arbórea</i>	86
Tabla 17 Viabilidad <i>Brugmansia sanguínea</i>	89
Tabla 18 Viabilidad <i>Brugmansia aurea</i>	93
Tabla 19 Promedio de las anteras viables a los seis meses.....	98
Tabla 20 Número de anteras viables mediante la prueba de Wilconxon.....	99
Tabla 21 Promedio de las anteras viables de la especie <i>Brugmansia arbórea</i> a los seis meses.....	100
Tabla 22 Número de anteras viables de la especie <i>Brugmansia arbórea</i> mediante la prueba de Wilconxon.....	101
Tabla 23 Promedio de las anteras viables de la especie <i>Brugmansia sanguínea</i> a los seis meses.....	102
Tabla 24 Número de anteras viables de la especie <i>Brugmansia sanguínea</i> mediante la prueba de Wilconxon	103

Tabla 25 Promedio de las anteras viables de la especie <i>Brugmansia aurea</i> a los seis meses	104
Tabla 26 Número de anteras viables de la especie <i>Brugmansia aurea</i> mediante la prueba de Wilconxon.....	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa Base Parroquia Angochagua	36
Figura 2. Mapa base de la zona de estudio	37
Figura 3. Mapa uso de suelo – Parroquia Angochagua	38
Figura 4. Mapa cobertura vegetal – Parroquia Angochagua	39
Figura 5. Mapa puntos de muestreo comunidad Zuleta – Parroquia Angochagua	40
Figura 6. Mapa de identificación de especies por comunidad – Parroquia Angochagua	41
Figura 7. Mapa puntos de muestreo comunidad Angochagua – Parroquia Angochagua	42
Figura 8. Mapa puntos de muestreo comunidad Cochás – Parroquia Angochagua.....	43
Figura 9. Mapa puntos de muestreo comunidad Culebrillas – Parroquia Angochagua.....	44
Figura 10. Mapa puntos de muestreo comunidad El Chilco – Parroquia Angochagua	46
Figura 11. Mapa puntos de muestreo comunidad La Rinconada – Parroquia Angochagua	47
Figura 12. Mapa puntos de muestreo comunidad Magdalena – Parroquia Angochagua	49
Figura 13. Mapa puntos de muestreo comunidad Zuleta – Parroquia Angochagua	50
Figura 14. Conocimientos de la especie	56
Figura 15. Conocimiento de la especie en la comunidad.	56
Figura 16. Uso de la especie	57
Figura 17. Desaparición de la especie	58
Figura 18. Presencia de polinizadores	59
Figura 19. Presencia de incendios forestales	59
Figura 20. Transmisión de conocimientos ancestrales	60
Figura 21. Propagación de la especie.....	60
Figura 22. Conocimiento de la especie	61
Figura 23. Microfotos de granos de polen de <i>Brugmansia arbórea</i> vista polar	65
Figura 24. Microfotos de granos de polen de <i>Brugmansia sanguínea</i> vista polar.....	66
Figura 25. Microfotos de granos de polen de <i>Brugmansia aurea</i> vista polar.....	68
Figura 26. Suma viabilidad de anteras (2° mes)	77
Figura 27. Promedio viabilidad de anteras (2° mes).....	78
Figura 28. Suma viabilidad de anteras (4° mes)	80
Figura 29. Promedio viabilidad de anteras (4° mes).....	81
Figura 30. Suma viabilidad de anteras (6° mes)	83

Figura 31. Promedio viabilidad de anteras (6° mes).....	84
Figura 32. Comparación de anteras viables con las dos técnicas de almacenamiento	85
Figura 33. Suma viabilidad de <i>Brugmansia arbórea</i>	87
Figura 34. Promedio viabilidad <i>Brugmansia arbórea</i>	88
Figura 35. Suma viabilidad de <i>Brugmansia sanguínea</i>	91
Figura 36. Promedio viabilidad de <i>Brugmansia sanguínea</i>	92
Figura 37. Suma viabilidad de <i>Brugmansia aurea</i>	95
Figura 38. Promedio viabilidad de <i>Brugmansia aurea</i>	96
Figura 39. Anteras no viables en Nitrógeno líquido	96
Figura 40. Anteras viables en Nitrógeno líquido	97
Figura 41. Representación gráfica de los promedios por tratamiento con la Prueba Wilconxon.....	99
Figura 42. Representación gráfica de los promedios de la especie <i>Brugmansia arbórea</i> por tratamiento con la Prueba Wilconxon.....	101
Figura 43. Representación gráfica de los promedios de la especie <i>Brugmansia sanguínea</i> por tratamiento con la Prueba Wilconxon	103
Figura 44. Representación gráfica de los promedios de la especie <i>Brugmansia aurea</i> por tratamiento con la Prueba Wilconxon.....	105
Figura 45. Comodidad de la sala y organización del evento de socialización.....	106
Figura 46. Material audiovisual utilizado y organización del evento de socialización.	107
Figura 47. Dominio del tema. Ejecución del evento por parte del expositor	107
Figura 48. Manejo de auditorio. Ejecución del evento por parte del expositor	108
Figura 49. Facilidad de expresión. Ejecución del evento por parte del expositor	109
Figura 50. Relevancia de la investigación. Medición de impacto de la investigación	109
Figura 51. Perspectiva de estudios complementarios. Medición de impacto de la investigación	110
Figura 52. Beneficios de la investigación hacia algún sector. Medición de impacto de la investigación	111
Figura 53. Cumplimiento de objetivos. Medición de impacto de la investigación.....	111

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de identificación de la zona de estudio y toma de puntos de muestreo	126
Anexo 2. Fotografías de levantamiento de información, encuesta saberes ancestrales.....	126
Anexo 3. Fotografías de recolección y transporte de polen.....	126
Anexo 4. Fotografías de recolección de especímenes	127
Anexo 5. Fotografías de colocación de carpotrapas modificadas.....	127
Anexo 6. Fotografías de muestreo de polinizadores e identificación de insectos en la entomoteca.....	127
Anexo 7. Fotografías de prensado e identificación de muestras vasculares	128
Anexo 8. Fotografías de identificación de polen	128
Anexo 9. Fotografías de microscopio de barrido electrónico.....	128
Anexo 10. Fotografía de descongelación de anteras en Baño María.....	129
Anexo 11. Fotografía de cultivo de anteras	129
Anexo 12. Fotografías de encapsulación y deshidratación de anteras.....	129
Anexo 13. Fotografía de encapsulación de anteras.....	129
Anexo 14. Fotografías de cultivos expuestos a luz y oscuridad	129
Anexo 15. Fotografía de almacenamiento de muestras en nitrógeno líquido.....	129
Anexo 16. Fotografía de almacenamiento convencional de muestras en congelador	130
Anexo 17. Fotografía de cultivo de anteras en cámara de flujo laminar	130
Anexo 18. Fotografía de preparación de muestras de anteras viables	130
Anexo 19. Fotografías de monitoreo de anteras con polen viable.....	130
Anexo 20. Fotografía de placas preparadas con polen viable.....	130
Anexo 21. Fotografía de crecimiento de tubo polínico	130
Anexo 22. Fotografía de crecimiento de tubo polínico a las 48 horas de ser cultivado	131
Anexo 23. Fotografía de crecimiento de tubo polínico a las 135 horas de ser cultivado ..	131
Anexo 24. Fotografía de células vegetativas del tubo polínico	131
Anexo 25. Fotografía de granos de polen con el tubo polínico desarrollado por completo	131
Anexo 26. Fotografía de tinción de tubos polínicos	131
Anexo 27. Fotografía de granos de polen con tubo polínico	131

Anexo 28. Fotografía de muestra de polen contaminada.....	132
Anexo 29. Fotografías de la especie <i>Brugmansia arbórea</i> , árbol, flor y polen.....	132
Anexo 30. Fotografías de la especie <i>Brugmansia sanguínea</i> , árbol, flor y polen	132
Anexo 31. Fotografías de la especie <i>Brugmansia aurea</i> , árbol, flor y polen	132
Anexo 32. Fotografías de la Socialización en el GAD de Angochagua.	133
Anexo 33. Fotografía de muestras de polen de las tres especies del género <i>Brugmansia</i> .	133
Anexo 34. Invitación de socialización	134
Anexo 35. Registro de participantes de la socialización.....	135
Anexo 36. Formato clave dicotómica parte 1	136
Anexo 37. Formato clave dicotómica parte 2	137
Anexo 38. Encuesta de socialización de investigación.....	138

1. Resumen y Palabras Clave

El presente estudio tiene como finalidad la preservación de tres especies nativas comúnmente llamados “floripondio” o “guanto” los cuales pertenecen al grupo del género *Brugmansia*, debido a la acción antrópica, estas especies han pasado a un alto grado de vulnerabilidad según la (UICN,2014), por lo que se ha visto la necesidad de tomar alternativas de conservación para mitigar la erosión genética que presenta, para lograr el objetivo principal, se optó por la conservación ex situ en condiciones in vitro, se desarrolló un protocolo de crioconservación; utilizando la técnica de encapsulación y deshidratación en el cual, se almacenó las anteras con polen en nitrógeno líquido y como comparador se eligió el congelador como almacenamiento convencional con el propósito de mantener la viabilidad del polen de las diferentes especies estudiadas. Para cumplir los objetivos planteados, se realizó salidas de campo para georreferenciar el área de estudio y poder efectuar el levantamiento florístico, donde, las comunidades de Angochagua y Zuleta fueron los poblados con mayor número de remantes del género *Brugmansia*, además en campo también se realizó muestreo de polinizadores, encuestas a los pobladores, que permitieron demostrar que los conocimientos de saberes ancestrales no estaban siendo transmitidos de generación en generación, en laboratorio, se desarrolló el protocolo de crioconservación, se identificó la morfología del polen y plantas vasculares, destacándose la especie *Brugmansia sanguínea* por su grado de adaptabilidad y supervivencia para el proceso de crioconservación. La duración de esta investigación se realizó durante seis meses, una de las conclusiones más relevantes fue, que la técnica de almacenamiento con nitrógeno líquido fue la más eficaz por lo que el polen crioconservado que se evaluó tuvo un mayor porcentaje de viabilidad en comparación con el método convencional que es el congelador.

Palabras clave: *Brugmansia*, crioconservación, palinoteca, nitrógeno líquido, polen, anteras

2. Abstract

The present study has the purpose of preserving three native species commonly called "floripondio" or "guanto" which belong to the *Brugmansia* group, due to the anthropic action, these species have passed to a high degree of vulnerability according to the (IUCN , 2014), so that I have seen the need to take conservation alternatives to mitigate the genetic erosion that presents, to achieve the main objective, I chose ex situ conservation under in vitro conditions, a cryopreservation protocol was developed; using the technique of encapsulation and dehydration in which the anthers were stored with pollen in liquid nitrogen and as a comparator the freezer was chosen as conventional storage with the purpose of maintaining the viability of the pollen of the different species studied. To meet the objectives, I did field trips were made to georeference the study area and be able to carry out the floristic survey, where the communities of Angochagua and Zuleta were the villages with the largest number of *Brugmansia* species, also in the field was carried out pollinator sampling, surveys to the inhabitants, which allowed demonstrating that knowledge of ancestral wisdom was not being transmitted from generation to generation, in the laboratory, the cryopreservation protocol was developed, the morphology of pollen and vascular plants was identified, highlighting the species *Brugmansia sanguinea* due to its degree of adaptability and survival for the cryopreservation process. The duration of this investigation was carried out during six months, one of the most relevant conclusions was that the storage technique with liquid nitrogen was the most effective, so the cryopreserved pollen that was evaluated had a higher percentage of viability compared to the conventional method that is the freezer.

Key words: *Brugmansia*, cryopreservation, palinoteca, liquid nitrogen, pollen, anthers

3. Introducción

En el Ecuador existe muy poca información y estudios acerca de la conservación de polen, en las Islas Galápagos con la ayuda del Herbario CDS, se encuentra en creación una palinoteca con fin de estudios de biología reproductiva que involucran a los polinizadores y su interacción planta-animal de varias especies amenazadas (Díaz y Pérez, 2011).

Estos estudios son evidencias claras que existe la preocupación de entidades para combatir la erosión genética y preservar las especies que todavía no se extinguen ya que representan una riqueza para la biodiversa flora.

En la parroquia Angochagua, provincia de Imbabura, han reconocido inventarios florísticos de las familias Asteraceae, Pteridophyta, Rosácea en diversas comunidades, pero hasta la actualidad no han registrado datos, en cuanto al estudio de la especie *Brugmansia*; en relación a la crioconservación de polen, mucho menos la creación de una palinoteca con fines de preservación. (Beltrán y Pozo, 2012)

Estas especies al ser plantas nativas del Ecuador según (UICN) Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, (UICN, 2014). Se encuentran incluidas en la lista roja como extinta en estado silvestre “Extinct in the Wild” (EW), sin embargo años atrás esta planta era muy utilizada por presentar variedad de usos, tanto medicinales, ornamentales y espirituales, por dichas razones se ha denominado una planta especial entre los pobladores de la zona, pese a los antecedentes mencionados anteriormente esta especie florística está siendo removida por los propios pobladores, debido a que hoy en día desconocen los beneficios de esta especie y cada uno tiene diferentes creencias, existe una pérdida de interés en cuanto al cultivo de esta especie porque de poco a poco se ha ido perdiendo las habilidades de curación tradicional en la población indígena. (Sánchez y Zárate, 2005).

Este trabajo se realizó en las instalaciones del herbario y laboratorios de la PUCE-SI, se ve necesario la ejecución de esta investigación, porque en un futuro va a ser una herramienta requerida, para mitigar el problema que conlleva el mal uso y manejo de esta especie florística. Soft (2014) afirma: la crioconservación, da la facilidad de mantener la integridad genética de las plantas crioconservadas, mediante técnicas que detendrán el metabolismo de la especie, así; se puede tener varias copias del mismo genotípico

reduciendo el riesgo de la extinción de la especie. El polen colectado que va a permanecer en el herbario a futuro va a representar una alternativa interesante para realizar la conservación de difícil almacenamiento a largo plazo, mediante los datos base que se ha creado, donde viene a ser proyecciones para estudios que va a continuar seguido del actual (IPGRI, 1996).

Si no se aplica esta alternativa, como método de crioconservación para la familia Brugmansia, es probable que en un corto tiempo llegue a la extinción completa, sin encontrar ejemplares para potenciar sus usos mencionados, además que se vería afectado la biodiversidad que enriquece al Ecuador.

Objetivo General:

Conservar la genética del grupo taxonómico Brugmansia mediante la aplicación de la palinología y crio conservación para la preservación de especies ancestrales del lugar.

Objetivos Específicos:

1. Georreferenciar los puntos de muestreo mediante el sistema de información gráfica para el estudio de la especie.
2. Realizar el levantamiento florístico a través de salidas de campo para la recolección de polen en la parroquia Angochagua
3. Desarrollar la metodología de crio conservación y palinología mediante las técnicas de encapsulación-deshidratación y método natural respectivamente para el mantenimiento y preservación de material vegetal a largo plazo
4. Socializar los resultados por medio de grupos focales en la parroquia Angochagua, cantón Ibarra

Preguntas de investigación

1. ¿El polen de la familia Brugmansia tiene la capacidad de resistir a las condiciones que interviene el método de crio conservación?
2. ¿El método de crio conservación aplicado es viable para la preservación del polen?
3. ¿Se puede realizar un análisis estadístico en la comparación de los dos métodos de almacenamiento de polen?

4. Estado del arte

4.1. Etnobotánica

“La palabra etnobotánica se conoce de los vocablos griegos *ethnos* que significa pueblo o raza y *botané* que significa hierba de allí viene a ser parte la etnobiología (...)” (Blanco Castro, 2015). Cumple un papel muy importante y permite entender e identificar la sabiduría tanto local como tradicional de esta manera puede la localidad formar parte de un proceso de desarrollo sostenible, pero desde otra perspectiva las culturas que nutren de conocimiento a las etnociencias han ido desapareciendo simultáneamente y de una forma rápida, debido al declive del propio hábitat por parte de culturas diferentes que no valoran los conocimientos de comunidades locales e indígenas y como consecuencia tienden a desaparecer. (Rengifo-Salgado et al., 2017).

4.1.1. Conocimientos ancestrales de etnobotánica

Este tipo de conocimiento son denominados como patrimonio colectivo, los cuales vienen a ser parte de un sistema organizado que se encargan de la investigación y descubrimientos mediante experiencias milenarias que realizan a través de la práctica de mirar, probar, aprender, transformar la realidad y asumir (Rengifo-Salgado et al., 2017).

Rengifo-Salgado et al. (2017) mencionan que uno de los aportes que poseen los conocimientos ancestrales hacia la medicina tradicional es el conjunto de conocimientos que engloba las prácticas de saberes médico ancestrales en una determinada población. Este tipo de prácticas año tras año se ha transmitido por tradición ya sea familiar o comunitaria donde tienen ideas acerca de las curaciones y diagnóstico de las enfermedades como también sus propios agentes de salud que se encargan de desempeñarse en las funciones mencionadas anteriormente, este tipo de saberes se ha convertido en el (folklore) que posee cada pueblo.

4.2. Usos de la especie:

López y García (1987) afirman:

La humanidad desde la antigüedad ha empleado dicha especie florística, no sólo con fines alimentarios, sino también con propósitos medicinales y en rituales sagrados. En el país vecino Colombia, los indios del valle de Sibundoy la utilizaban para rituales, en épocas precolombinas, decocciones de algunas especies de *Brugmansia* genérica y popularmente conocidas como “floripondios” o “floripondas”. (p.174)

4.2.1. Uso terapéutico

Según Heffern (2000) reporta Richard Heffern en su libro *Secrets of the mind-altering plants of Mexico*, el floripondio se usa de una manera muy similar al toloache. Se aplica externamente como un emplaste caliente para aliviar el dolor de huesos fracturados y otras heridas superficiales. También se usa por sus propiedades narcóticas, colocando flores debajo de la almohada para inducir el sueño.

4.2.2. Uso medicinal

Cristales de escopolamina

El componente alucinógeno más activo de varias plantas solanáceas usadas en la Amazonía occidental es la escopolamina. Aparece, junto con la atropina, en diversas especies de *Brugmansia*, *Methysticodendron* y posiblemente de otras de la misma familia. Plantas que contienen estos alcaloides también se han usado por siglos en otras partes del mundo; los mismos alcaloides se han empleado en la medicina moderna por más de cien años (Schultes y Robert, 1992). En el ámbito medicinal se lo utiliza como analgésico para tratamiento de golpes y en otras ocasiones lo utilizan para prácticas ancestrales curativas como el “mal de ojo” y “mal de aire”.

4.2.3. Uso cultural

En el libro de las Plantas de los Dioses, Hofmann y Shultes indican que las flores de *Brugmansia* a pesar de su belleza, han ocasionado problemas en su entorno. Son destacadas como plantas de los dioses, pero no posee el mismo significado que atribuyen al peyote, la ayahuasca u hongos "que son ofrendas más agradables". Desde el punto de vista cultural, los efectos que posee dicha especie han sido poderosos y a la vez molestos con los pobladores, el mal uso de esta planta ha hecho que personas presenten periodos de violencia e incluso de enfermedad temporal, como también males que repercuten la ingestión. Hacen referencia también a los dioses, los cuales se distinguen por trabajar fuerte en aquello que desean por lo que “las flores representan un regalo perenne que hace mención que no siempre va a ser fácil conseguir un encuentro con los dioses” (Saury, 2001).

Palacios (2010) afirma “el floripondio debido a las características que posee, los usos medicinales, de ritual y simbólico, en muchas comunidades del Ecuador es considerado como planta sagrada y lo asocian como un espíritu viejo, porque lo relacionan de manera protectora ya que posee un poder que permite ahuyentar a las energías negativas”.

Forma parte simbólica para varias comunidades ya que los pueblos indígenas lo consideraban como “espíritu tutelar” que era sinónimo de sabiduría y cosmovisión para cada uno de ellos, gracias a esta especie se podía curar los males del alma y del cuerpo (Palacios, 2010).

4.2.4. Usos andinos del floripondio

García Piñeiro (2010) afirma en su libro en busca de las plantas sagradas que, algunos chamanes peruanos que trabajan con la ayahuasca también lo hacen con el floripondio, aunque lo más común es que se especialicen en una sola planta pues consideran peligroso hacer lo contrario. Además las personas que se especializan en esta planta, es decir los "floripondieros" viven una vida considerablemente más corta que los otros.

4.3.Censos florísticos

De acuerdo Soares et al. (2006) denominan: “El censo florístico como un registro útil que otorga información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de las especies vegetales que se encuentran en una determinada área” (...)

Se denomina también levantamiento florístico por la característica que se adopta en áreas pequeñas o a su vez en áreas donde exista necesidad de identificar individuos arbóreos, es decir; es un inventario forestal al cien por ciento. De esta manera podemos tener información fidedigna, ya que el censo florístico permite levantar información incluso de varios aspectos particulares de una especie, se utiliza con frecuencia cuando el objetivo es realizar un manejo sustentable de un bosque donde algunos de los individuos que existen ahí van a ser explotados, incluso se utiliza el censo florístico en ejemplares aislados que se analizan por ayuntamientos (Soares et al., 2006).

4.4.Descripción de la especie:

“Actualmente en el Ecuador del género *Brugmansia* se conocen 7 especies, de las cuales 3 especies se han registrado en la zona de estudio y son *Brugmansia arbórea*, *Brugmansia aurea*, *Brugmansia sanguínea*” (Ortega, 1974, p.54).

Armijos et al. (2014) indica que las plantas de la familia *Brugmansia* son consideradas sagradas por los pueblos indígenas de América del Sur, especialmente en Perú y Ecuador, donde las reconocen como wandug o floripondios y se encuentran distintas especies como: Flores rojas (*Brugmansia sanguínea*); Flores amarillas (*Brugmansia aurea*); Flores blancas (*Brugmansia arbórea*).

Las especies de *Brugmansia* son originarias de Suramérica y se hallan distribuidas a lo largo de la Cordillera de los Andes. En Ecuador se encuentran en forma natural, a partir de los 2828 metros hasta los 3000 metros de altitud. Tradicionalmente en las comunidades de Angochagua se conocen como borrachero, flor de campana, guanto o floripondio y han sido utilizados por comunidades ancestrales en actos mágicos religiosos. Posee propiedades alcaloides tropánicos estos metabolitos secundarios se puede encontrar en la escopolamina, hiosciamina y atropina, sustancias reconocidas como potentes psicoactivos; esta es una de las grandes razones por lo que la comunidad tiene a rechazar a la especie florística. Los alcaloides tropánicos son la base de varios fármacos en la medicina alopática, por este hecho los árboles vienen a ser la fuente comercial potencial. En otros países es identificado como plantas ornamentales por sus vistosas y coloridas flores (Bedoya et al., 2013).

Armijos et al. (2014) “Afirma las denominaciones autóctonas o nombres comunes que se le da a esta especie son: “borrachero”, “huacacachu”, “huanta”, “chamico”, “campanilla”, “maiconca”, “tonga” y “toa” (...)”

4.5.Descripción taxonómica:

4.5.1. Guanto / *Brugmansia arbórea*

Según la (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2012) considera al guanto como un arbusto siempre verde perenne su tallo se encuentra cubierto de un

fino indumento terciopelado, la altura que puede llegar alcanzar son de 7m, presenta hojas alternas, de forma ovalada, de limbos asimétricos en la base. Las flores, pueden llegar a medir hasta 17 cm, son sub - cónicas, con corola de 3-5 lóbulos más o menos agudos, aromáticas, de blancas a marfil. El cáliz, hendido longitudinalmente y persistente, es casi tan largo como el tubo de la corola. En esta especie se puede identificar fácilmente el fruto el cual es una baya ovoidea u oblonga-elíptica que puede llegar a medir hasta 6 cm por 4,5 cm.

4.5.2. Floripondio amarillo / *Brugmansia aurea*

Castillo (2013) define al floripondio amarillo como arbustos perennes, que pueden llegar alcanzar alturas de 3 a 11 metros. Posee hojas alternas, largas, oblongo-elípticas finamente vellosas de 10 a 40 cm generalmente miden de 10 a 30 cm y de ancho pueden ser de 4 a 18 cm con bordes enteros o someramente dentados, la base del limbo asimétrica, y cubiertas de finas vellosidades. Las flores son pendulares, generalmente amarillas pueden llegar a medir 30 cm de largo, muy aromáticas con forma de trompeta amarillo oro. Se caracteriza por su perfume, que sobre todo se manifiesta desde que empieza el atardecer y dura todo el anochecer, atrae insectos nocturnos y sobre todo, a abejas que son los principales responsables de la polinización.

4.5.3. Floripondio rojo / *Brugmansia sanguínea*

Ávila (2009) define como arbusto siempreverde perenne con una altura de 2-6 m de alto; posee tallos erectos crasos, en la parte de arriba muy ramosos, la presencia de hojas es abundante en la parte terminal de la rama, posee un follaje caduco; las hojas son caracterizadas angulares (ovado-lanceoladas) subpubescentes en sus dos caras, ovario oblongo, cilíndrico, inerme, péndulo. La diferencia principal con *Brugmasia arborea* y otras especies de este género es el color de la flor que en este caso es anaranjado-rojizo. Principios activos: Escopolamina como principal alcaloide; También posee cantidades menores de nor-escopolamina, atropina, meteloidina y otros alcaloides tropánicos (Tobón, 2008).

4.6. Estudio del polen

El estudio de la palinología tiene por objeto estudiar el polen y las esporas, en este caso, se centrará el estudio en el polen de las flores del género *Brugmansia*. Antes se conocía a la Palinología como auxiliar de la geología, pero con el tiempo se fue desarrollando e independizando hasta dedicarse a la aplicación de la descripción de plantas. El estudio del polen es designado como un carácter fijo para cada especie vegetal, posee fácil accesibilidad en cuanto a estudiarlo mediante técnicas de microscopía óptica y electrónica. (Telleria y Sarasola, 2002).

Para realizar un estudio de palinología correctamente, es necesario la creación de una palinoteca, la cual servirá como referencia para los pólenes de plantas de interés de las cuales se van a estudiar, de esta manera se va a facilitar la identificación en la microscopía. La palinoteca se debe iniciar con la clasificación botánica de las especies que hemos decidido estudiar, una vez ya realizada identificación se procede a la microscopía óptica con el polen, para utilizar como referencia durante la identificación del polen corbicular. De acuerdo a Telleria et al. (2002) afirma que se pueden utilizar los métodos desarrollado por Mauricio y Gómez-Ávila.

El proceso se da gracias a la llegada del polen hacia el óvulo, una vez ya fecundado se madura y se convierte en semen fértil, la parte importante en la época de polinización es la célula germinativa ya que solo está viva en esa transición de tiempo. El polen tiene la capacidad de revestimiento resistente e indestructible gracias a un componente llamado exina, que está constituido por esporopolenina, una sustancia de polímeros oxidativos de carotenoides que, en su parte exterior, está ornado por elementos ornamentales y esculturales exclusivos, que facilitan la dispersión según la forma de polinización (Boi, 2012).

4.7. Morfología del polen:

Alché Ramírez (2011) afirma “El grano de polen posee una forma de resistencia y a su vez de gran capacidad dispersión ya que desempeña la función de protector biológico de los núcleos espermáticos constituyendo el material genético el cual intervendrá para la fertilización” p.45).

El polen es dominado como el gameto masculino, normalmente se lo encuentra de color amarillo, cuando llega a la madurez floral o mejor llamada anthesis, empieza a liberar de los órganos masculinos de la flor, los estambres. Existe un lapso de tiempo que se encuentran en el aire y los granos de polen se impregnan a los estigmas. Si hubiere compatibilidad, los granos de polen germinaran mediante la formación de un tubo polínico dirigiéndose a la parte femenina de la flor que posee el nombre de pistilo o gineceo (Gourret y Misset, 1989)

Alché Ramírez (2011) afirma la morfología del polen se compone de una pared celular doble protectora especializada llamada exina, formada por uno de los polímeros biológicos más resistentes que existen, llamado esporopolenina, esta estructura tridimensional se llega desarticular solamente si se expone a ambientes altamente oxidantes o en presencia de actividad bacteriana desarrollada, la función de la exina es la protección de las células generativas y vegetativas que posee además, una función harmomégata que dependen del grado de humedad ambiental para la apertura y cierre para controlar el cambio. Posee una segunda capa interna que se denomina intina, la cual se compone por pectina su función es formar el tubo polínico (Andrade Olalla, 2015).

Alché Ramírez (2011) refiere la gran variedad de tamaños, formas y estructuras del polen entre los diversos taxones recepta cuestiones eminentemente adaptivas, la función que desempeña es mantener con vida y servir de transporte desde la dehiscencia de la antera que empieza a formarse hasta la llegada a un estigma que se comportará como receptor. El polen en condiciones adecuadas posee un porcentaje mínimo de agua, el cual le permite hidratarse y germinar para producir un tubo polínico el cual invadirá los tejidos del estigma para penetrar el estilo y por último depositar los núcleos espermáticos en el

saco espermático, el cual tendrá lugar la doble fertilización que es la caracterización de las plantas superiores al generar cigoto y endospermo.

4.8.Métodos de análisis polínico

De acuerdo a la teoría, para el análisis polínico del polen corbicular existen dos tipos de métodos: el primero se trata de polen acetolizado y el segundo del polen al natural. La función del polen acetolizado radica en la muestra donde el polen corbicular, se someterá a un proceso conocido como acetolisis desarrollado por Erdtman (1969) y ligeramente modificado por Hideux (1972). El cual permite la abolición de todo material excepto la capa externa del polen o exina. (Vossler, 2012)

Telleria et al. (2002) indica que la técnica del polen acetolizado, es una de las más utilizadas por los palinólogos ya que su conservación puede darse por un período indefinidamente además que la forma y el tamaño, se puede visualizar con mayor claridad, pero este método conlleva mayor tiempo y es mucho más complejo que el segundo método (polen al natural).

Existen también estudios aeropalínológicos, los cuales se pueden recolectar material muestreado mediante captadores volumétrico o gravimétrico. Cualquiera de estos dos tipos requieren observar en estado natural al polen por lo cual se recomienda tener una colección de referencia de polen en estado natural, para poder verificar y establecer comparaciones (Belmonte, 2003).

Reyes Nora (2011) explica:

Los captadores de polen de forma gravimétricos se encuentran el de Durhan que consiste en la utilización de portaobjetos, mediante la exposición del aire y con la ayuda de una sustancia inerte que va a servir para impregnar la muestra depositándose en el portaobjetos por gravedad. La de Tauber se lo realiza mediante la utilización de una caja Petri, donde se añade glicerina y se lo expone por un periodo determinado. Después de haber transcurrido el tiempo, se centrifuga y se aplica el primer método del polen acetolizado.

Los captadores volumétricos son los más utilizados, por los técnicos ya que se utiliza un prototipo ideado por Hirst. Esa técnica volumétrica es de Burkard y Lanzoi y también existen captadores individuales, que es un sistema portátil que permite la incorporación de un portaobjeto impregnado en silicona líquida para facilitar la adherencia del polen o esporas, este en el mercado se lo conoce como Burkard Personal Sampler (B.P.S.) (Reyes Nora, 2011)

Para el montaje al natural varios investigadores han seguido distintas metodologías que han descrito distintos autores como Louveaux, Maurizio, y Vorwohl (1978), el método mencionado anteriormente ha sido catalogado como el más sencillo para ejecutar, en cuanto a las desventajas que puede presentar el método es la durabilidad ya que es inferior comparado con el segundo método Telleria et al. (2002).

Los dos métodos explicados anteriormente se utilizan para dos procesos importantes que implican la elaboración de la palinoteca correspondiente y el reconocimiento del polen corbicular. Para la visualización microscópica, con el microscopio óptico basta para identificar el grupo polínico al que pertenece Telleria et al. (2002).

Los impactos tecnológicos y ambientales que tendrán la presente investigación, están enfocados en los recursos genéticos que se deben conservar como el potencial económico de uso; peligro de erosión genética; diversidad genética; distribución ecogeográfica; importancia biológica y cultural; estado actual de conservación; costo; factibilidad y sostenibilidad; legislación, y consideraciones éticas y estéticas (Arias y Medina, 2009).

4.9.Palinoteca

IPE (2016) denomina a la palinoteca como colección de referencia de muestras de polen, que permite facilitar el reconocimiento taxonómico de los diferentes granos de polen y esporas. En el Instituto Pirenaico de Ecología (IPE) posee una palinoteca donde se puede encontrar por cerca de 1.500 preparaciones de palinomorfos actuales ordenados por

familias y géneros, cada día siguen actualizando y creando más preparaciones con el fin de dar continuidad a la palinoteca de flora pirenaica y mediterránea pretendiendo llegar a ser lo más completa posible.

González Sampéris (2012) menciona:

La palinología en los últimos tiempos ha sido utilizada como una herramienta biológica de reconstrucción ambiental de los cambios de vegetación donde va actuar en un área determinada, en un momento específico, ya sea por causas antropogénica o climáticas. Gracias a esta ciencia se puede conocer a la evolución de la vegetación además de inferir cambios climáticos y otro tipo de afecciones.

Se espera que la persistencia de esta especie dentro de su área de distribución natural, se incremente a partir del estudio y aplicación que se va a realizar aplicando los métodos de crio conservación y palinoteca, ya que de esta manera se va a rehabilitar la supervivencia de estas especies y a su vez se guardara programas de crianza, para su distribución e intercambio además de la preservación de genes (Soft, 2014).

4.10. La polinización

Según Andrango (2013) define: “ la polinización como proceso esencial que se da para un buen funcionamiento de los ecosistemas y la producción de alimentos, y a medida que pasa el tiempo este proceso se ha visto enormemente afectado debido a las actividades antrópicas”.

Es un proceso importante que mantiene a las poblaciones naturales de plantas y animales. La importancia que promueve el conservar y mantener al polen vivo con fines de conservación es fundamental para el ecosistema ya que de ahí se podrá realizar la creación de bancos de polen con el fin de tener material genético mejorado y a partir de esto efectuar cruzamientos entre plántulas que se encuentran en peligro por efecto antrópico (Quiroz, 2009).

4.11. Polinizadores y relación ecológica

Bedoya et al. (2013) indica las relaciones ecológicas del género *Brugmansia* que se pueden establecer entre plantas e insectos.

Los insectos que tienden aparecer con más de un estado del ciclo biológico, en los árboles de *Brugmansia*, llegan a reflejar un gran porcentaje de especificidad por el árbol. Este dato podría ser el resultado de una historia evolutiva de las dos partes, de esta forma se podría conllevar a un alto nivel de especificidad la cual debe ser diferenciada con el uso de los insectos mencionados anteriormente por otras plantas o árboles que se encuentra cerca de la localidad de estudio. La relación que establece los árboles del género *Brugmansia* y los insectos que se alimentan de ellos, corresponde a herbivoría; según las poblaciones estudiadas e inventarios realizados, no hay una situación que afronte amenaza que queden expuestos algún riesgo los árboles por acción de estos herbívoros (Bedoya et al., 2013).

Existe una probabilidad que los insectos fitófagos identificados en los árboles de *Brugmansia*, hayan evolucionado de tal manera creando mecanismos de respuesta para neutralizar la toxicidad que presentan los metabolitos secundarios en los árboles (Bedoya et al., 2013).

En el estudio de descripción de relaciones ecológicas de *Brugmansia aurea* con plantas, insectos y hongos, realizado por Bedoya et al. (2013) afirma que la mayoría de especies asociadas se encuentran en el orden Coleoptera, de la familia Chrysomelidae con cuatro especies. Las especies del género *Epitrix* fueron asociados con las plantas de la familia Solanaceae como principal recurso alimenticio, otro caso que tiene similitud es de otro grupo Coleoptera, perteneciente a la familia Cerambycidae, el cual su fuente de recurso alimenticio era proveniente de la familia Apocynacea, este estudio concluyó que el grupo de insectos mencionados anteriormente estaría expuesto a un alto riesgo de extinción al no poder adaptarse a otro tipo de hospederos fácilmente, si fuera el caso que las plantas llegaran a su extinción, con este antecedente es posible que el género *Epitrix* se enfrente acabando con los ejemplares de su especie.

Las especies de *Brugmansia* juegan un papel muy importante como fuente alimentaria para gran cantidad de insectos y artrópodos de forma indirecta, especialmente

arañas. Se conoce también se conoce que son plantas hospederas para ciertos insectos que están catalogados campo plagas en cultivos que se utilizan para la comercialización (Bedoya et al., 2013).

4.11.1. Tipos de polinizadores

Bonilla (2012) afirma “La polinización que ocurre en plantas con flor en todo el mundo, un 67% es llevado a cabo por insectos, constituyéndose como el grupo de polinizadores más importante, tanto para especies de plantas silvestres como cultivadas” p.104) El papel de los insectos polinizadores, y fundamentalmente el de las abejas, ha sido ampliamente demostrado para todo tipo cultivos (Fründ et al., 2013).

Al hablar de polinizadores principalmente se hace referencia a aquellos insectos que se encargan de polinizar los cultivos y, más concretamente, la atención suele centrarse en dos grupos, las abejas de la miel (*Apis mellifera*) y los polinizadores silvestres (abejas y abejorros), dando importancia en ocasiones también a los dípteros (Rader et al., 2013).

“Dentro del grupo de los polinizadores silvestres, los géneros con más importancia son *Bombus* y *Xylocopa* para abejorros, *Trigona* para abejas y *Lasioglossum*, *Megachile*, *Ceratina*, *Halictus*, *Andrena*” (García, 2016, p.59)

Worldwatch, (2003) refiere a las prácticas intensas de agricultura, han dado paso a la disminución del número de polinizadores naturales, mientras haya campos cultivados con grandes extensiones, la necesidad de insectos polinizadores va a ser más alta, con el efecto de que las poblaciones de insectos locales disminuirían provocando a su vez una alteración en el ecosistema, SDA (2010) no, solo en cuanto a la pérdida de especies nativas, sino a la fauna natural que le rodea y depende de ella, (Bradbear, 2005) sin la polinización adecuada, muchos de los factores bióticos, entrarían en declive y la interacción que existe entre ellos se desequilibraría entrando en conflicto con la naturaleza (Balslev et al., 2008).

4.12. Crioconservación en polen

Westendorp y Encina (2013) indican:

La crioconservación es catalogado con uno de los métodos más prometedores que se puede utilizar si se requiere una conservación a largo plazo, ya que posee la ventaja de que no necesita mucho espacio a diferencia de las colecciones in vitro o de campo de los bancos de germoplasma. Su mantenimiento tampoco demanda de un costo elevado haciendo de este método eficiente para una conservación de calidad.

Medina y Martínez (2012) refiere a los estudios de crioconservación en provincias españolas de Alicante y Murcia, donde emplearon la *Thymus moroderi* Pau ex Martínez especie endémica del lugar que se encuentra como casi amenazada en la lista roja 2008 de la Flora Vasculare Española, (Moreno, 2008) se utilizó diferentes protocolos de crioconservación, uno de ellos fue la vitrificación en gota y el otro vitrificación y encapsulación- desecación, como resultado el mejor método que se adaptó a la especie fue la vitrificación en gota que tuvo mayor tasa de sobrevivencia en post-descongelación (Medina, et al., 2010).

El proceso consistente en la preparación, mantenimiento y busca la preservación a largo plazo de un material vegetal, el nitrógeno líquido es el compuesto que permite la preservación y para esto las condiciones de temperatura debe ser ultra bajas $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. (FAO, 2007).

El desarrollo de este proceso de conservación de material vegetal posee varias ventajas en relación a otros sistemas de preservación de recursos filogenéticos: es catalogado un método, sencillo, no tan largo y además no altera la estabilidad genética del material que es lo que se busca además de reducir sustancialmente el esfuerzo y el valor económico que representa el mantenimiento de colecciones de germoplasma vegetal in vivo o in vitro. La crioconservación está enfocada como recurso biotecnológico que tiene la finalidad de conservar el material biológico a largo plazo; de esta manera se va a prevenir la alteración génica que se puede dar en un futuro (Aguilar Rojas, 2005.)

4.13. Principio de crioconservación

(Ospina, 2013) El éxito de la conservación que se pretende ejecutar, va a depender del desarrollo de programas que asocien la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica y los recursos genéticos de las especies florales dentro de un contexto que englobe el uso de las plántulas nuevamente como fuente ancestral, curativa y medicinal y a su vez acople la ordenación genética activa.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Food and Agriculture Organization FAO (1993) afirma:

Con el método de crioconservación y estudios palinológicos que se pretende realizar también aportaremos a la comunidad, la sostenibilidad de las acciones a lo largo del tiempo, mediante el trabajo que implica satisfacer las necesidades que aspira la población, como comunidad a través de la colaboración y participación de las mismas en la ejecución del programa de conservación.

El almacenamiento por largo plazo es el principio por el cual se va a realizar la crioconservación, esta es una práctica útil que va ayudar a mitigar la variación somaclonal en plántulas con propagación vegetativa, su función va a ser mantener los explantes sin alteración alguna bajo estas condiciones, prácticamente por tiempo indefinido. (Florence, 1993)

Esta técnica permite el almacenamiento de células, tejidos u órganos vegetales vivos a temperaturas extremadamente bajas (-80 °C), utilizando nitrógeno líquido, el cual normalmente se encuentra a -196 °C. En algunas ocasiones, se combina el nitrógeno líquido con otros gases inertes (como el helio y el argón) (Wilkinson et al., 2003).

El nitrógeno líquido se utiliza porque detiene todas las actividades metabólicas, inmediatamente al hacer contacto con el explante (Withers, 2003) y, a la vez, permite que los tejidos conserven la viabilidad sin que ocurran alteraciones fisiológicas (Benson et al., 2006).

Pennycooke y Towil (2000) indica “El acondicionamiento criogénico, es lo primero que se debe realizar para seguir con el proceso, aquí se realiza el enfriamiento y la aplicación de

sustancias crioprotectantes, luego el almacenamiento a -80 °C y por último el proceso de recuperación” p.737).

Matsumoto, Mochida, Itamura, y Sakai, (2001) afirma:

La aplicación de sustancias crioconservantes o crioprotectantes actúan como tratamiento que previene el daño por frío en los tejidos. Se realiza la remoción del agua de esta forma se evita la ruptura de las membranas en las células, al desplazar el agua que se encuentra intra e intercelularmente (p.402).

Estas sustancias crioprotectantes contienen concentraciones altas de sacarosa (0,4 M), glicerol (15%), dimetil sulfóxido (DMSO) (15%), etilenglicol y/o polivinil alcohol. (Zhao et al., 2005). Sin embargo, la plasmólisis excesiva y el choque osmótico también pueden tener efectos negativos sobre el tejido, provocando daños después de la descongelación y durante la regeneración (Wilkinson, et al., 2003).

4.14. Método de crioconservación

Según Engelmann y Takagi (2000) afirma identificar dos tipos de técnicas que se plasma en la crioconservación: Rao y Brown (2010) indican una metodología con fundamento en la deshidratación química parcial mediante el congelamiento programado y osmoprotectantes.

La vitrificación, posee técnicas nuevas que radican en el cambio del estado líquido a un estado intermedio que se lo conoce como vítreo, gracias a ello interfiere el crecimiento de cristales de hielo que se forman, ya que estos son los que causan un daño mecánico directo a las membranas mientras están en la etapa de congelación (Towill, 1996).

Engelmann, (2000) acota reconocer nuevas técnicas de crioconservación, las cuales se han identificado siete diferentes procesos; técnica de microgota, desecación, presecimiento -desecación, encapsulación y deshidratación, encapsulación – vitrificación, presecimiento, vitrificación *per se* y vitrificación.

4.14.1. La vitrificación

Consiste en promover la deshidratación celular mediante la solidificación de líquidos, esto hace que la formación de cristales permanezca ausente, mitigando el daño que se podría hacer en los tejidos. La vitrificación se realiza antes del congelamiento mediante una sustancia crioprotectante, se puede utilizar otras sustancias como proteínas anticongelantes, para garantizar la sobrevivencia (Wang et al., 2005).

4.14.2. Encapsulación – deshidratación:

Se utiliza en ápices de tallo y tejidos embriogénicos. Una solución alta de sacarosa (0,5-0,75 M) es el principio para precultivar los explantes y luego son encapsulados después se realiza la deshidratación en la cámara de flujo laminar, se congela con NL y se mantiene a -80 °C por el período de almacenamiento (Sánchez-Chiang et al., 2010).

4.14.3. La encapsulación – vitrificación

Es similar al proceso anterior en cuanto a la utilización de alginato de calcio para la encapsulación. Se diferencia de la anterior técnica porque aquí no utiliza la sacarosa como precultivo de los explantes, sino hace uso de una solución crioprotectante (Sánchez-Chiang et al., 2010).

Existen estudios que revelan que la crioconservación en nitrógeno líquido, se ha aplicado en varias especies para la conservación de meristemas, polen, embriones cigóticos, ápices y embriones somáticos además de suspensiones celulares (Huarte y Rigato, 2004).

Hay mecanismos que permiten determinar la respuesta de los sistemas biológicos a la solidificación del agua líquida y disminución de las temperaturas, por esta razón, hay la necesidad de inquirir los aspectos básicos que forman parte en el proceso de congelación del agua como fase decisiva para el desarrollo de una metodología que permita la crioconservación (García-Águila et al., 2007).

4.15. Grupos focales

Sutton y Varela (2012) indica que es una técnica que posee una modalidad de tipo entrevista grupal que tiene por objetivo que el investigador seleccione un determinado grupo de individuos para socializar una temática mediante la discusión desde la experiencia personal. Esta técnica es muy útil para explorar los conocimientos mediante la retroalimentación tanto del investigador hacia la comunidad elegida y viceversa, los participantes están abiertos a la discusión activa, opinión y generación de necesidades para emplear posibles soluciones mediante estrategias entre todo el auditorio.

Los grupos focales se centran en el estudio de actitudes y experiencias para responder las preguntas de la investigación que se puede generar durante la socialización (Greenbaun, 2001).

5. Materiales y Métodos

En la presente investigación se va a realizar una serie de metodologías donde se utilizará los laboratorios y herbario de la PUCE-SI para poder cumplir con cada uno de los objetivos planteados. Además, existen salidas de campo, para la recolección de especímenes que se van a estudiar por esta razón se ha dividido el estudio en dos fases, fase de campo y fase de laboratorio.

5.1. Materiales:

En este apartado se va a detallar los materiales que fueron utilizados durante toda la investigación, los cuales fueron necesarios para lograr cada una de las fases planteadas.

5.1.1. Materiales de Campo

- GPS
- Tijeras para podar

- Lupa
- Bolsas plásticas o de papel
- Libreta de campo
- Esfero o lápiz
- Cooler
- Papel periódico
- Guantes
- Botellas plásticas
- Piola
- Escencias de eucalipto, canela, pino
- Cuchillo
- Hisopos
- Algodón
- Fichas de campo
- Etiquetas
- Computadora portátil
- Cámara fotográfica
- Hojas de papel bond
- Calculadora

5.1.2. Materiales de laboratorio:

- Tubos eppendorf
- portaobjetos
- cubreobjetos
- aguja de disección
- tanque de nitrógeno líquido
- mechero bunsen
- cajas Petri

5.1.3. Reactivos:

- Alginato de calcio
- cloruro de calcio
- sacarosa
- nitrato de calcio
- sulfato de magnesio
- nitrato de potasio
- ácido bórico
- agar
- alcohol etílico de 96°
- fucsina básica
- glicerogelatina
- nitrógeno líquido

5.1.4. Equipos:

- Cámara de flujo laminar
- Microscopio óptico
- Microscopio electrónico de barrido
- Baño María
- Deshidratadora TK N°12101800952
- Tanque de nitrógeno líquido
- Prensa botánica
- Estereoscopio

5.2.MÉTODOS

En el presente estudio se ha dividido la metodología en dos partes, para lograr el desarrollo adecuado. Fase de campo se ha denominado la primera parte, el cual sus principales actividades consistieron en identificar la zona de estudio, realizar el muestreo de polinizadores, coleccionar los especímenes a estudiar, para transportar seguidamente a las

instalaciones de la universidad (PUCE-SI) donde se inició la segunda fase de laboratorio para realizar los estudios correspondientes que se detallará a continuación.

5.3.Fase de campo

Esta fase está compuesta de cinco actividades las cuales han sido necesarias para cumplir con los objetivos planteados, para la ejecución de la primera actividad fue necesario realizar varios recorridos por la zona de estudio, para caracterizar la zona y poder realizar la georreferenciación adecuada y establecer los puntos de muestreo.

5.3.1. Encuesta a los pobladores:

Se inició con la visita al GAD parroquial de Angochagua para solicitar la información pertinente y contar con la ayuda del mismo. Mediante un oficio se pidió datos de población del último censo para establecer el número de la muestra y se procedió a realizar un muestreo no probabilístico intencional o deliberado.

La fórmula que se estableció para realizar la muestra fue:

$$No = \frac{z^2 x pq}{e^2}$$
$$N' = \frac{No}{1 + \left(\frac{No - 1}{N}\right)}$$

5.3.2. Puntos de muestreo:

Se realizó un muestreo de campo no probabilístico, mediante un recorrido para localizar los puntos, el tipo de muestreo realizado fue basado en los sujetos disponibles o mejor llamado muestra por conveniencia, con el fin de buscar la presencia de floripondios en la parroquia “Angochagua”.

La zona de estudio se dividió por comunidades, las cuales son:

- Angochagua
- Cochas
- Culebrillas
- Magdalena
- El Chilco
- La Rinconada
- Zuleta

Para poder realizar la georreferenciación del lugar y realizar los mapas correspondientes al tema, se recabó información importante en la zona para caracterizar los siguientes aspectos:

- Condiciones del terreno que engloba la zona de estudio, como: altura, tipo de suelo, erosión.
- Impactos ambientales generados
- Toma de coordenadas mediante Sistema de Posicionamiento Global (GPS) con el sistema de coordenadas geográficas World Geodetic System 84 (WGS84)

5.3.3. Georreferenciación de la zona:

Una vez seleccionado y establecido la ubicación de las unidades de muestreo, a través de la carta topográfica de cobertura vegetal, ecosistemas y parroquias de Imbabura actualizadas al 2017, otorgado por el GAD de Ibarra Departamento de Medio Ambiente. Se contó también con imágenes de satélite de cada una de las comunidades otorgadas por Departamento de Gestión Ambiental del Municipio de Ibarra actualizada al 2017, se introdujeron las coordenadas tomadas mediante el software ArcGis que presentó las herramientas Sistema de Información Geográfica (SIG), necesarias para la elaboración de los mapas requeridos.

Con los archivos (tipo .shp) de la base de datos mencionados anteriormente se realizó los siguientes mapas:

- Mapa general de ubicación
- Mapa de puntos de muestreo general
- Mapa de puntos de muestreo por comunidad
- Mapa de cobertura vegetal
- Mapa de ecosistemas

5.3.4. Recolección de especímenes

De acuerdo al Herbario Forestal de Colombia HFCOL (2012) se inició con la recolección de especímenes, a este proceso también se lo llama colecta o herborización. Lo primero que se realizó fue acudir al sitio de estudio que en este lugar es la parroquia Angochagua. La metodología para la recolección de especímenes fue al azar por lo que se tomó las muestras de los lugares donde aún se registraban remantes ya que, por la erosión de este tipo de árboles, la presencia de *Brugmansia* en la zona es escasa.

Se inspeccionó toda el área de estudio procurando cubrir visualmente todos los poblados de la zona de Angochagua y a continuación se procedió a dividir la parroquia en comunidades en el recorrido para facilitar la identificación y examinar detalladamente las plantas, con los instrumentos necesarios para campo, tras identificar los remanentes de árboles por cada comunidad se continuó con la herborización y embalaje de especímenes recolectados en campo (ICA, 2010).

La muestra botánica recolectada fue la porción terminal de una rama de aproximadamente 30- 35 cm de longitud. Con las tijeras de podar se realizó un ligero corte y se colectó la rama con varias hojas donde se encuentre la flor y si hay, el fruto.

5.3.5. Transporte de especímenes recolectados

Se tomó todas las especies recolectadas y se colocó dentro de una bolsa de papel, etiquetando cada una de las especies al momento de llevar al herbario de la PUCE-SI. No se cerró completamente la funda para evitar la deshidratación de la plántula por el aumento

de temperatura, todas las muestras colectadas se guardó en un cooler y se transportó (HFCOL, 2012).

Al culminar este proceso, se continuó el proceso en las instalaciones de la Universidad donde se realizó el periodo de cuarentena, prensado, montaje y etiquetado en el herbario de la PUCE-SI (ICA, 2010).

5.3.6. Recolección de polen

Para la recolección de muestras de polen de las especies del género *Brugmansia*, se siguió la siguiente metodología:

Valderrama (1996) indica una vez ya recolectados las muestras de floripondio en campo, se hizo un corte transversal de las anteras con el bisturí, para extraer las tecas y poder conservar el polen que se encuentran en las plántulas, se colocó las tecas recolectadas en tubos eppendorf 2ml, se procedió a llenar ficha de campo del área que se recolecto y se realizó el etiquetado respectivo y transportar al herbario de la PUCE-SI.

5.3.7. Muestreo de polinizadores

Para el muestreo de polinizadores se siguió la metodología planteada por Luna (2005), se realizó la colecta indirecta por medio de las carpotrampas modificadas, la técnica consistió en instalar botellas plásticas transparentes entre 1 y 2 metros del suelo sujetadas con piola al árbol, previamente se realizó un corte en los lados de la botella para la entrada de los insectos, se introdujo el algodón con la esencia en la botella y se dejó en los árboles por dos semanas, el monitoreo se realizó tres veces por semana.

5.4.Fase de laboratorio

En el presente apartado se detallará las metodologías correspondientes para identificar, montar y crioconservar el polen con el fin de mantener la viabilidad de las especies estudiadas en la presente investigación.

5.4.1. Identificación taxonómica de muestras vasculares en el herbario

Se realizó la identificación taxonómica en las instalaciones del herbario de la PUCE-SI, mediante el protocolo establecido por el mismo, siguiendo una serie de procesos que se detallará a continuación.

5.4.1.1. Periodo de cuarentena

Para realizar el periodo de cuarentena se siguió el protocolo establecido en herbario PUCE-SI, el cual consistió en colocar los especímenes colectados en el congelador o cuarto frío durante 48 horas, a -2°C con el objetivo de eliminar hongos, virus, bacterias que no toleran temperaturas frías.

5.4.1.2. Prensado y secado

Se retiró todas las muestras colectadas de las bolsas, se colocó en papel periódico cada una de ellas, se marcó con un código para evitar confusiones y se añadió un poco de alcohol para eliminar hongos y de esta manera evitar la pérdida de la muestra (HFCOL, 2012), se fue prensando cada una de las muestras con ayuda de una prensa botánica marca Termokool, papel absorbente, y cartón prensado para que absorba toda la humedad, luego de realizar todo este procedimiento las muestras se acomodaron en la prensa acompañada de etiquetas donde se anotó los datos correspondientes al nombre de la planta, lugar de recolección, para la posterior interpretación de información (BOOT, 1964). Se colocó la prensa en la deshidratadora TK N°12101800952 por cuatro horas con la finalidad de tener las muestras completamente secas.

5.4.1.3. Identificación y montaje de las muestras vasculares

Para el montaje e identificación se extrajo las muestras de la deshidratadora que ya debe estar totalmente seco, se empezó con la identificación de cada una de las especies analizando meticulosamente las características morfológicas que presenta cada una de ella,

con ayuda de la bibliografía consultada, posteriormente se realizó el montaje en láminas cartulinas plegables de color blanco de 75 a 90g con lamina antiácida 39 x 43 y por último se procedió a realizar el etiquetado respectivo.

5.4.1.4. Etiquetado, codificación y almacenamiento de muestras de herbario

Se elaboró las etiquetas con hojas de papel bond de 75 gramos con esencia de eucalipto para que no proliferen los hongos, de igual forma se elaboró los respectivos sobres con hojas de papel bond de 90 gramos y se procedió a imprimir con la medida establecida de 9x 12 donde indica el nombre del herbario de la PUCE-SI, los datos del lugar de recolección, nombre común y específico, nombre del colector, fecha de recolección y una ligera descripción de la planta, altura, altitud donde se recolectó. Finalmente se procede al almacenamiento que se va a realizar en el herbario para el uso de los estudiantes y público que lo requiera.

Todo el procedimiento del prensado, montaje y etiquetado, se realizó siguiendo los protocolos del herbario de la PUCE-SI, donde se cuenta con la tecnología y espacio para realizar el procedimiento adecuado.

5.4.2. Procesamiento de muestras de polen

Para el procesamiento de muestras de polen (Guerrero, 2016) se remitió las muestras transportadas al congelador para mantener la calidad del material introducidas en los tubos de eppendorf, se preparó el material para el montaje, y crioconservación mediante la separación por especie y reconocimiento de muestras.

5.4.2.1. Montaje de muestras de polen

Para el montaje de las muestras para la realización de la palinoteca, se eligió aplicar la metodología por método natural (Boi, 2012) Este método fue desarrollado por Mauricio y Gómez- Ávila. La técnica consistió en colocar la muestra sobre un portaobjetos y

disolverlo con alcohol etílico de 96° disgregando el material con ayuda de una aguja de disección. Se procedió a secar y luego se agregó una gota de fucsina básica la cual tiñó de forma diferencial la exina de los granos de polen. Se secó y posteriormente se colocó encima un trocito de glicerogelatina que se derritió sobre una placa calefactora.

La muestra se cubrió con un cubreobjetos, se presionó levemente para evitar formación de burbujas y se dejó secar 24 horas boca abajo, por último, se limpió el portaobjetos y se selló la preparación con laca de uñas.

5.4.3. Identificación de la estructura o morfología del polen

Para identificar la morfología del polen, se hizo uso de un microscopio electrónico de barrido (SEM), alto vacío, TESCAN MIRA3 FEG del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales de la ESPE, las muestras fueron sometidas a un periodo de deshidratación durante una semana, se depositó en un portamuestras para microscopia electrónica, las muestras fueron adheridas mediante una cinta conductora además de colocar una capa de oro para que sirva de conductor y fueron introducidas al microscopio mencionado anteriormente, finalmente se observaron con un voltaje de 5kV a diferentes magnificaciones.

5.4.4. Protocolo de crioconservación del polen

Para la crioconservación de polen, se aplicó una serie de metodologías mediante el método de encapsulación y deshidratación, este método se basa en la encapsulación del polen para protegerlo y después precultivarlo en un medio de cultivo enriquecido con agentes osmóticos lo cual va a permitir observar la viabilidad del polen (Wang et al., 2005) Además se utilizó como comparador la técnica tradicional de almacenamiento en el congelador.

De cada especie florística se recolectó nueve flores por cada género para el tanque de nitrógeno líquido y nueve flores por cada género estudiado para el congelador, para los

seis meses que se realizó el estudio, se extrajeron las anteras de los estambres, dando como resultado cinco anteras por flor, para el respectivo análisis de las dos técnicas empleadas.

5.4.4.1. Método de encapsulación y deshidratación

A continuación, se detallara cada una de las fases que se realizó para lograr el método planteado.

- **Encapsulación de anteras**

La metodología descrita posteriormente es por Fabre y Dereuddre, inicialmente se preparó una solución de alginato de sodio ($C_6H_7O_6Na$) al 2% y Cloruro de Calcio ($CaCl_2$) al 1%, con la ayuda de un gotero estéril se tomó una cantidad de alginato de sodio y se dejó caer gotas de la solución en las anteras que se encuentran en un vaso precipitado conjuntamente emergido en cloruro de calcio (Ara et al., 2000). Para hacer posible la polimerización del alginato y formación de las cápsulas con las anteras se dejó permanecer las anteras durante veinte minutos y se eliminó la solución de cloruro de calcio.

- **Precultivo y decantación**

Se precultivó con un medio de cultivo líquido compuesto por sacarosa 0.5M por 24 horas, para la desecación se realizó la decantación del medio líquido conformado por el precultivo y se transportó las cápsulas a cajas Petri con papel de filtro estéril para eliminar el exceso de humedad contenido (Gonzáles y Engelman, 2013).

- **Almacenamiento**

Las cápsulas, se introdujeron cuidadosamente con ayuda de pinzas a los tubos eppendorf de 2ml y se colocó en las canastillas del tanque de nitrógeno líquido de 20kg respectivamente de acuerdo a la especie. Finalmente se realizó la inmersión en nitrógeno líquido y se dejó almacenada a $-196^{\circ}C$, por seis meses (Ara et. al, 2000).

- **Descongelación**

Tras dejar las muestras el tiempo establecido, se realizó la descongelación rápida a través de baño María a 40°C con un tiempo transcurrido de uno a dos minutos (Ara, et. al, 2000).

5.4.4.2. Método convencional de almacenamiento

Para el almacenamiento de polen en el congelador se realizó en dos pasos muy simples los cuales se detallará a continuación:

- **Encapsulación de anteras**

Se inició con la encapsulación de igual forma que en el almacenamiento con nitrógeno líquido. Se aplicó la metodología descrita posteriormente es por Fabre y Dereuddre.

- **Almacenamiento**

Las anteras encapsuladas se colocaron cuidadosamente con ayuda de pinzas a los tubos eppendorf de 2ml con un total de 27 tubos por las tres especies, se introdujo en el congelador a una temperatura de -18°C, por seis meses.

- **Descongelación**

Tras dejar las muestras el tiempo establecido, se realizó la descongelación rápida a través de baño María a 40°C con un tiempo transcurrido de uno a dos minutos (Ara, et. al, 2000).

5.4.5. Viabilidad de polen

Araméndiz Tatis, Cardona Ayala, y Lugo Torres (2012) menciona “Para establecer la viabilidad de las muestras crioconservadas con polen en condiciones in vitro se preparó el medio de cultivo planteado por Reddy y Kakani (2007) compuesto por 100g de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁), 500 mg de nitrato de calcio [Ca (NO₃)₂. 4H₂O], 120 mg de sulfato de magnesio (MgSO₄), 100mg de nitrato de potasio (KNO₃) y 120 mg de ácido bórico (H₃BO₃) disueltos en 1000mL de agua destilada. A continuación, se agregó 10g de agar y el pH se ajustó a 6.0” p.6644).

La presente metodología se realizó cada dos meses, con el fin de monitorear y evaluar la viabilidad por un periodo de seis meses que duró el almacenamiento. Por cada caja Petri se evaluó cinco anteras sembradas y así respectivamente se realizó por cada técnica y especie.

5.4.6. Tinción de tubos polínicos

Passarell (2006) afirma:

Para examinar el crecimiento de los tubos polínicos desarrollados a través del medio polínico se realizó la tinción del mismo mediante el método desarrollado por D' Souza, se fijó las anteras en una mezcla de EtOH ácido láctico 2:1 durante veinte minutos, se lavó con agua destilada y se procedió a teñir durante cinco a diez minutos con una solución de colorante llamado Azul de Anilina compuesto de (100mg de Azul de Anilina, 10 ml de lactofenol; ácido láctico, glicerol, fenol, agua 1:1:1:1). A continuación, se destiñó en una solución acuosa de ácido acético al 40% durante un tiempo de diez a veinte minutos más o menos, depende cuanto tiempo se demore el aclaramiento. Finalmente se hizo el montaje en ácido láctico al 100% y se observó en el microscopio los tubos polínicos teñidos de azul. (p.92)

5.5. Socialización

Para cumplir con el último objetivo, tras finalizar con la investigación se aplicó la técnica de los grupos focales, la metodología que se va a utilizar es la siguiente; se definió los objetivos para desarrollar el guion de desarrollo del grupo focal mediante la realización de los grupos de trabajo que intervendrán en el grupo focal, se preparó las preguntas que se va a realizar a la comunidad, enfocándose en las necesidades y finalmente se socializó el proyecto, respondiendo a las inquietudes y dudas que se generaron de esta forma se concluye interpretando la información obtenida (Sutton y Varela, 2012).

6. Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos tras realizar el presente estudio se dividió en dos fases como se había mencionado anteriormente, plasmando lo más sobresaliente de la investigación.

6.1. Fase de campo

En el presente apartado se plasmará los resultados correspondientes a la georreferenciación realizada en la zona, a través de la ubicación de los puntos muestreados en toda la parroquia, los cuales se detalló minuciosamente a continuación conjuntamente con los resultados de los conocimientos ancestrales.

6.1.1. Zona de estudio:

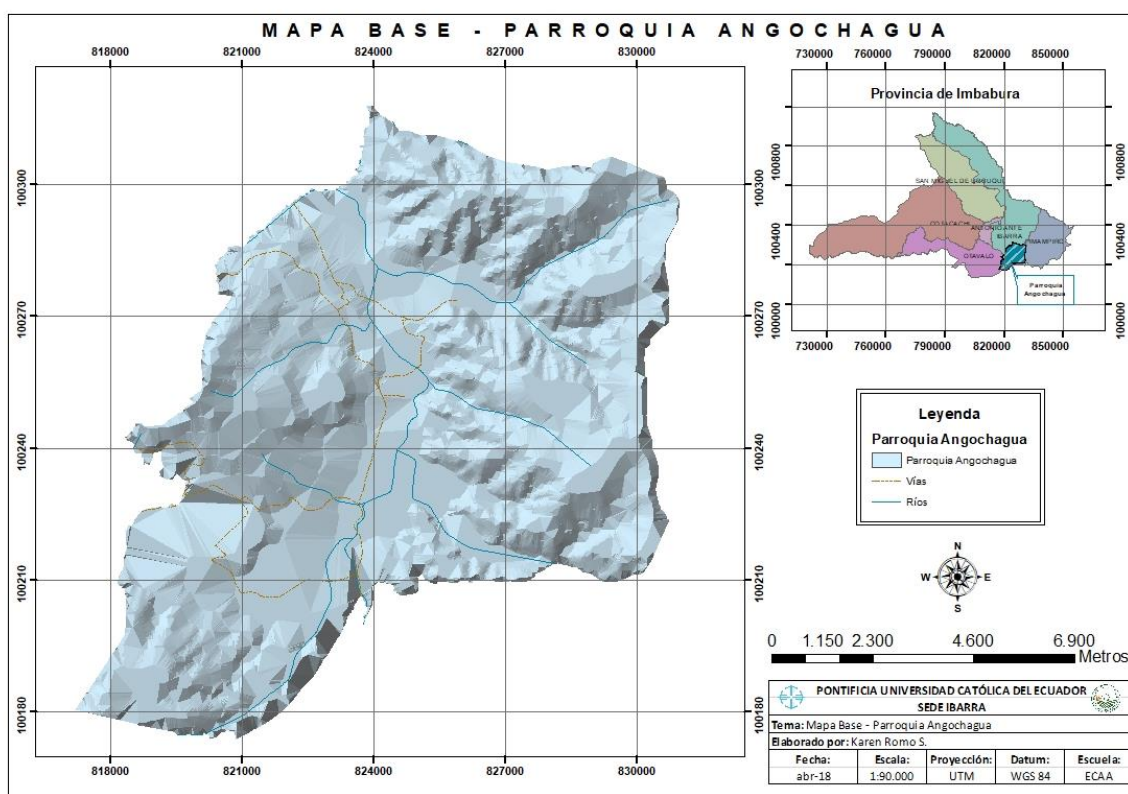


Figura 1. Mapa Base Parroquia Angochagua por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

Angochagua, es una parroquia rural que se encuentra situada al sur-este de la provincia de Imbabura y pertenece al cantón Ibarra. (ver figura 1) Sus límites son: Al norte se encuentra La Esperanza e Ibarra, ubicado en el cantón Ibarra, provincia de Imbabura, al sur la parroquia de Olmedo ubicado en el cantón Cayambe, provincia de Pichincha, al este se encuentra la parroquia de San Pablo del Lago y Gonzáles Suárez, perteneciente al cantón Otavalo, provincia de Imbabura y al oeste se encuentra la parroquia Mariano Acosta, ubicado en el cantón Pimampiro, provincia de Imbabura y cuenta con una altitud que oscila entre los 2800msnm y los 3800msnm (GAD Parroquial Rural De Angochagua, 2015)

6.1.2. Puntos de muestreo

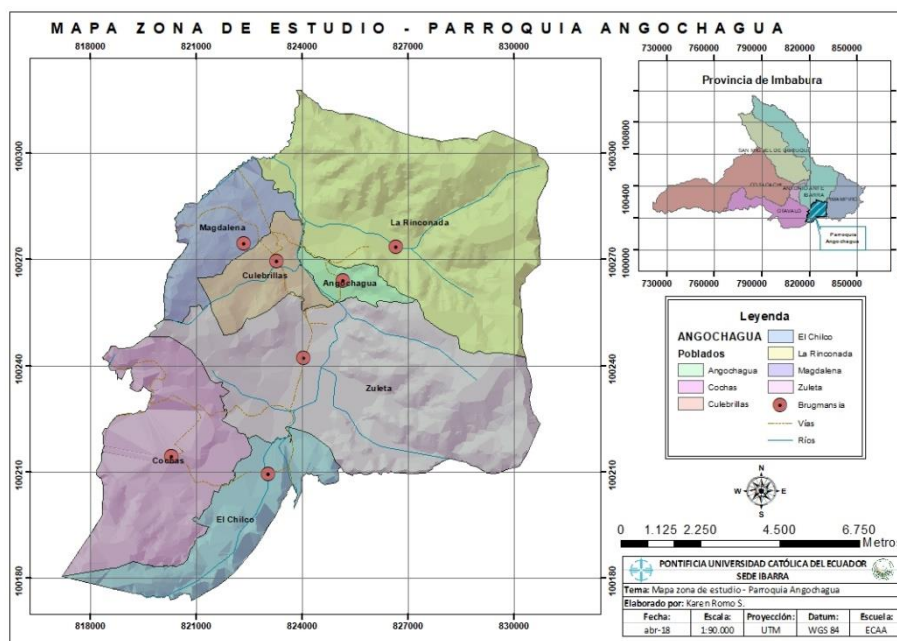


Figura 2. Mapa base de la zona de estudio por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

La parroquia de Angochagua está conformada por varias comunidades las cuales son Magdalena, Rinconada, Angochagua, Chilco, Culebrillas, Zuleta y Cochas (ver figura 2) entre las más grandes fue creada mediante decreto el 28 de mayo del 1861, está ubicada en el suroriente de la provincia de Imbabura y al sur del Cantón de Ibarra cuya superficie es de 12.392 ha (123 km²), la base cartográfica del cantón. Su cabecera parroquial es Angochagua. Su población es de 3263 habitantes, tiene una tasa de crecimiento poblacional: -1,59 % Proyección del censo 2010 (GAD Parroquial De Angochagua, 2017).

La parroquia de Angochagua, según Cercado (2014) se consolida como una, de las más antiguas quizá de toda la provincia. No se encontrado información acerca de su historia. Algunos datos que se ha logrado establecer, por medio de los comuneros que habitan allí es, que fue formada por los hermanos indígenas llamados Pedro, José y Miguel Angochagua. Ellos fueron los fundadores, pero este fue el único dato que se puede recuperar como historia ya que no existen descendientes porque se extinguieron hace 250 años.

La parroquia Angochagua, es caracterizada por su riqueza cultural, debido a que, en la zona, la mayoría de sus habitantes son indígenas de la provincia, la cultura, las

creencias, artesanías, y sobretodo su gastronomía son la que destacan además de sus vistosos lugares paisajísticos con los que cuentan, esto ha hecho a la comunidad un lugar atractivo para la visita de turistas nacionales y extranjeros (Ayala Pineda, 2012).

6.1.2.1. Puntos de muestreo en mapa de uso de suelo

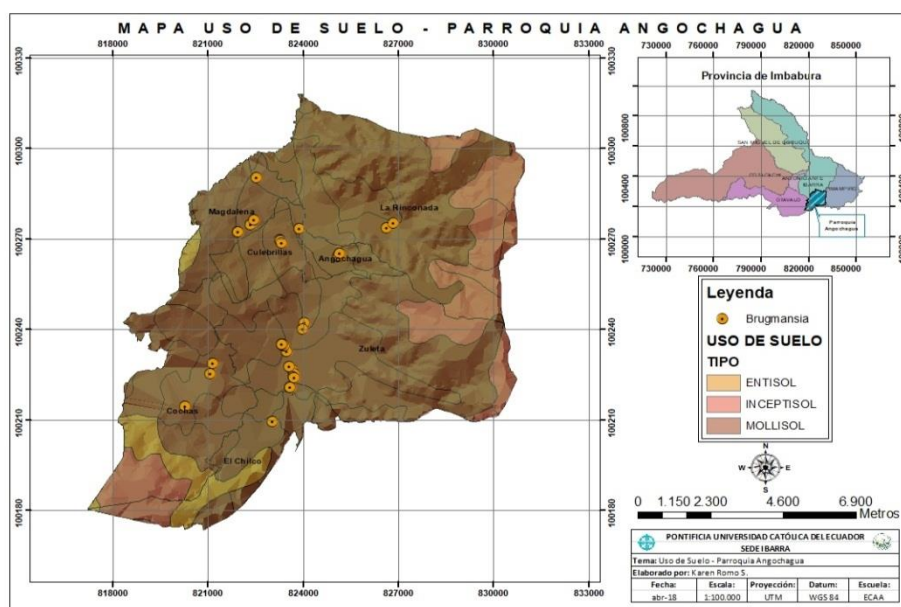


Figura 3. Mapa uso de suelo – Parroquia Angochagua. por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

De acuerdo al (GAD Parroquial Rural De Angochagua, 2015) el suelo perteneciente a la parroquia de Angochagua posee formaciones de proyecciones volcánicas, estos son provistos de alto porcentaje de materia orgánica, donde se puede encontrar potasio, carbono y calcio en gran cantidad. (ver figura 3) Se caracterizan por ser suelos blandos que alcanza una profundidad de un metro, coloración negra con alta retención de humedad y textura fina, de acuerdo a estas características estos suelos se denominan limo-arenosos, areno-limosos sin presencia de cangahua.

De acuerdo a la taxonomía de suelos, el orden Molisol contempla el 80,4% que conforma la mayor parte del territorio de Angochagua, estos se define por ser de superficiales a moderadamente profundos, contienen restos de material volcánicos y sedimentarios, la topografía oscila ente ligeramente inclinada a extremadamente empinada.

6.1.2.2. Puntos de muestreo en mapa de cobertura vegetal

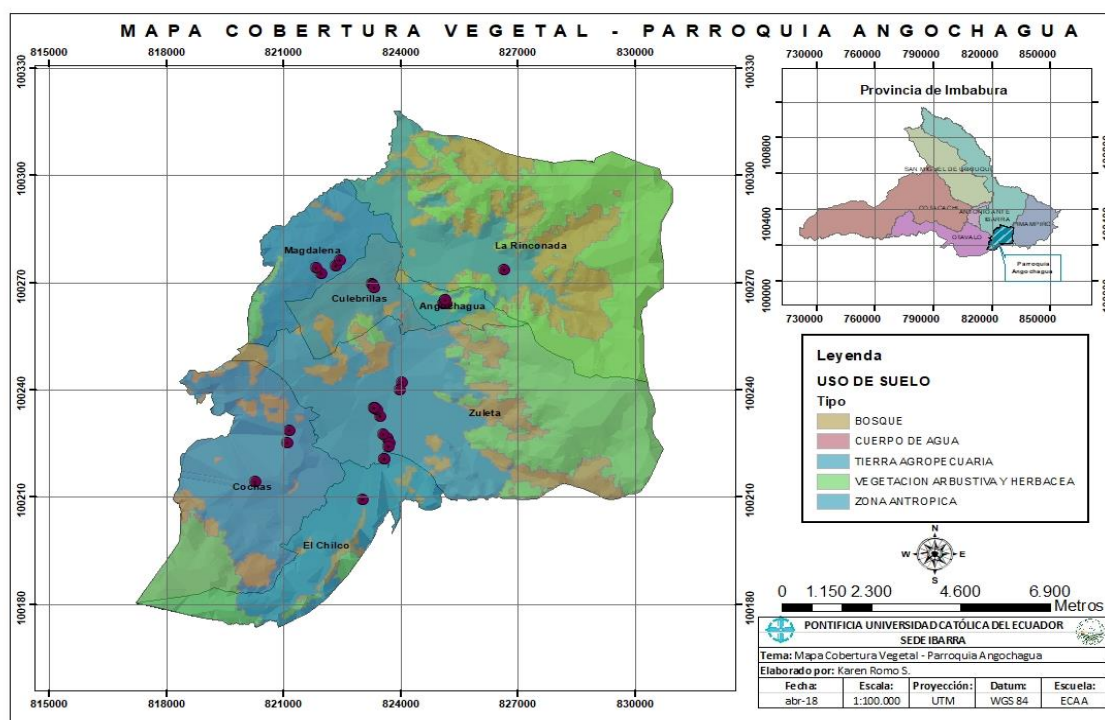


Figura 4. Mapa cobertura vegetal – Parroquia Angochagua por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En el presente mapa (ver figura 4) se puede evidenciar la cobertura vegetal donde están asentados los remantes de Brugmansia un sesenta por ciento se encuentra en tierras agropecuarias es decir en poblados que se dedican al sembrío de cultivos y a su vez en sus terrenos tienen plantado árboles de Brugmansia, un cuarenta por ciento está rodeado en la zona antrópica el cual indica que pueden estar plantados en chacras familiares, caminos o vías cerca de los poblados, en el bosque y donde hay presencia abundante de vegetación arbustiva y herbácea exuberante no hay puntos de muestreo que indiquen la presencia de la especie.

6.1.2.3. Puntos de muestreo en mapa de ecosistemas

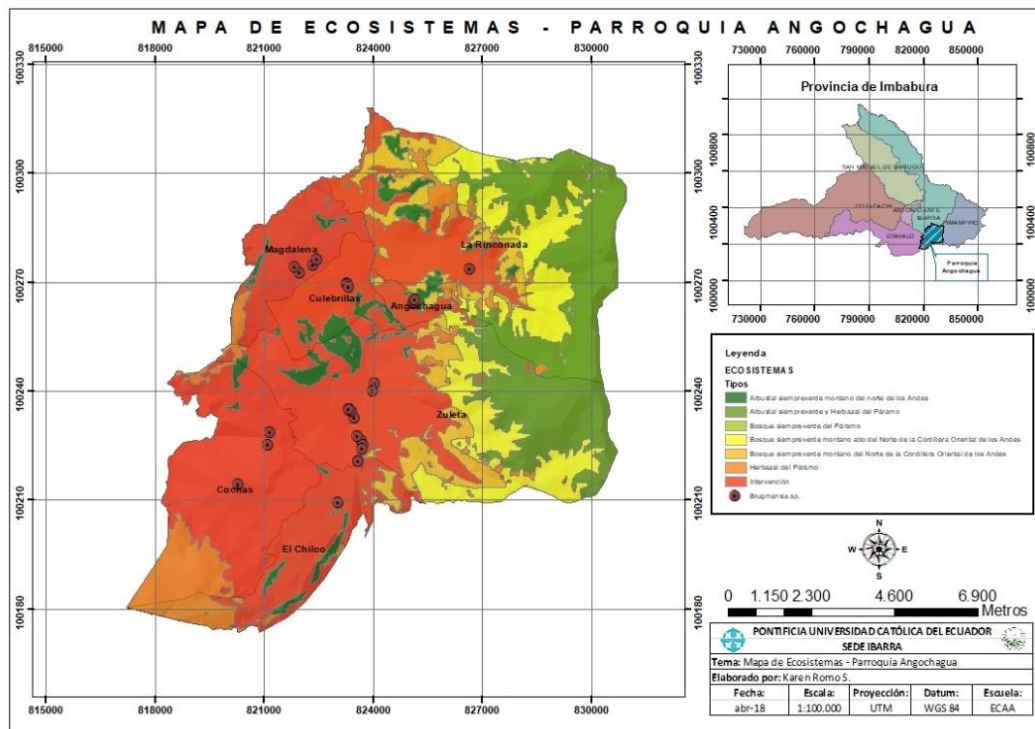


Figura 5. Mapa puntos de muestreo comunidad Zuleta – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En el presente mapa, (ver figura 5) se puede visualizar en qué tipo de ecosistemas se encuentran los remanentes de Brugmansia, como cita (UICN) los árboles mencionados anteriormente se encuentran extintos silvestremente, esto se puede ratificar ya que los puntos muestreados se encuentran en las áreas intervenidas por el ser humano mientras que en los arbustos siempre verde montano y herbazal del páramo no se ha podido registrar la presencia de ellos.

6.1.2.4. Identificación de especies por comunidad

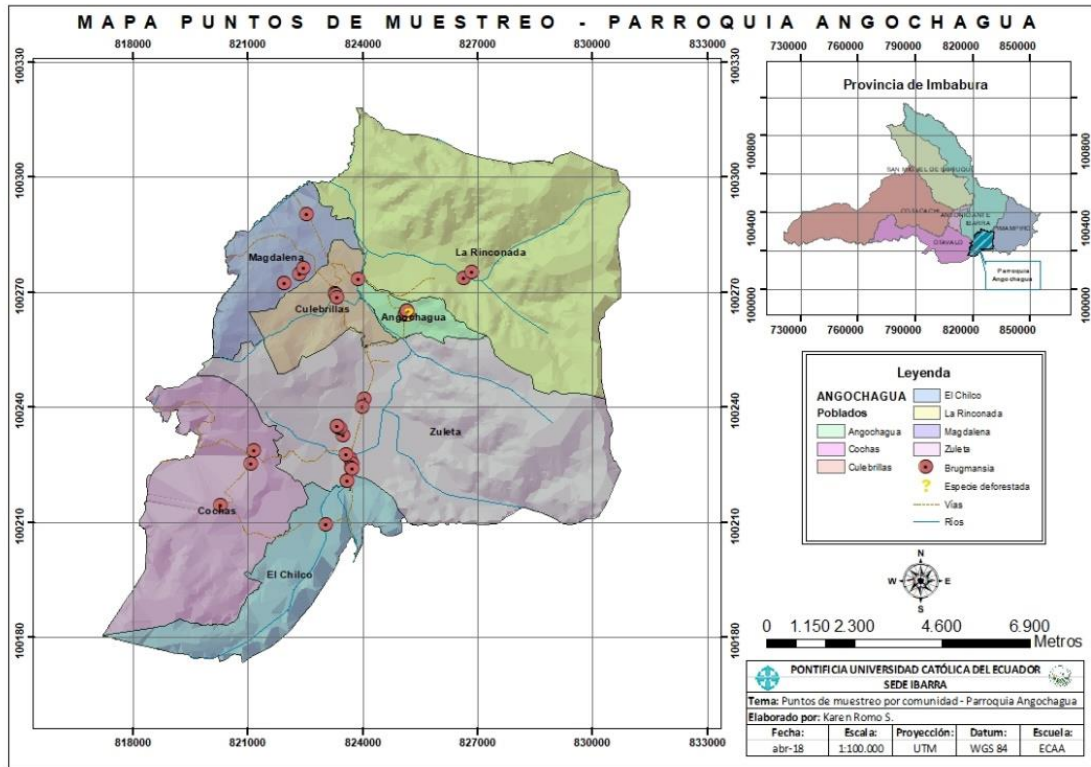


Figura 6. Mapa de identificación de especies por comunidad – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En el presente mapa (ver figura 6) se puede observar el registro de los puntos muestreados en toda la parroquia Angochagua el cual se registraron treinta y cinco puntos que hacen referencia al número de árboles que se encontró en la zona, repartidos en las distintas comunidades, esta cifra de remanentes es alarmante por lo que nace la iniciativa de crio conservar esta especie para mitigar la desaparición que se está dando actualmente de esta especie, con el fin de que próximas generaciones puedan hacer uso de esta especie y potenciar todos sus beneficios que posee de una forma adecuada y con un manejo sostenible.

6.1.2.5. Puntos de muestreo por comunidad

A continuación, se observará en detalle los remanentes que se reparten en cada una de las comunidades.

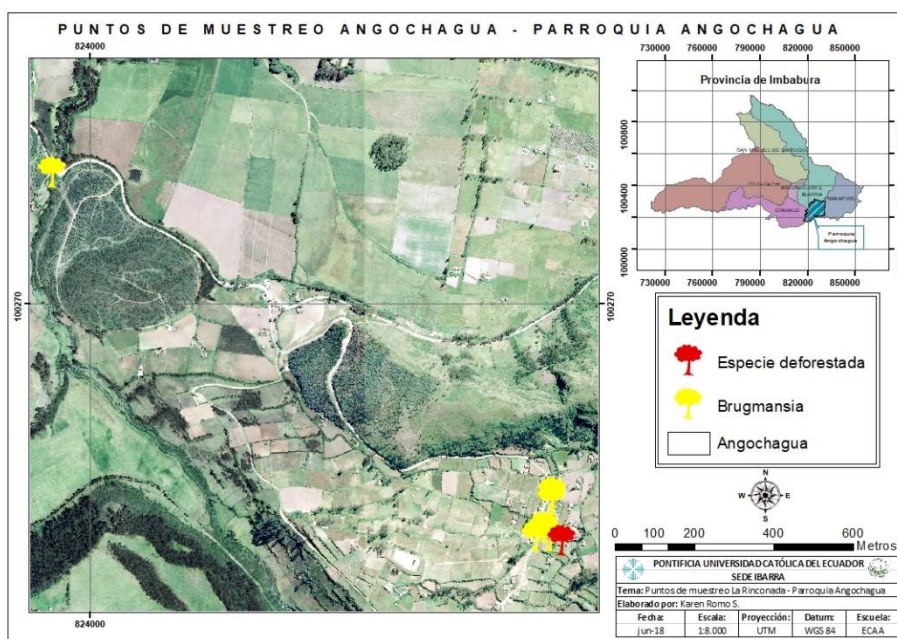


Figura 7. Mapa puntos de muestreo comunidad Angochagua – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de Angochagua se ha registrado siete puntos (ver Figura 7) que indican la presencia de la especie *Brugmansia* el cual por cada punto, a su alrededor está rodeado de uno a dos árboles de la misma especie, en este caso en la comunidad solo existe la presencia de *Brugmansia sanguínea* (ver Tabla 1).

El recorrido para la localización de los puntos se realizó durante varios meses registrando la cantidad de individuos mencionados anteriormente, pero debido a las diferentes creencias de los pobladores hacia los árboles de *Brugmansia*, en el último recorrido realizado se encontró que se ha deforestado un individuo del cual ya estaba registrado, se lo puede observar en el mapa de color rojo (ver figura 7). La información que se pudo recopilar, del porque se había deforestado este individuo, los pobladores manifestaron que este tipo de árbol crece como maleza y debido a sus características causa daños a los hijos de las personas que habitan cerca del mismo.

Tabla 1

Levantamiento florístico de la comunidad Angochagua

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
Angochagua	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	1	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	6	Camino o vías cercanos y poblados
	Guanto/ <i>Brugmansia arborea</i>	0	N/A
TOTAL		7	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

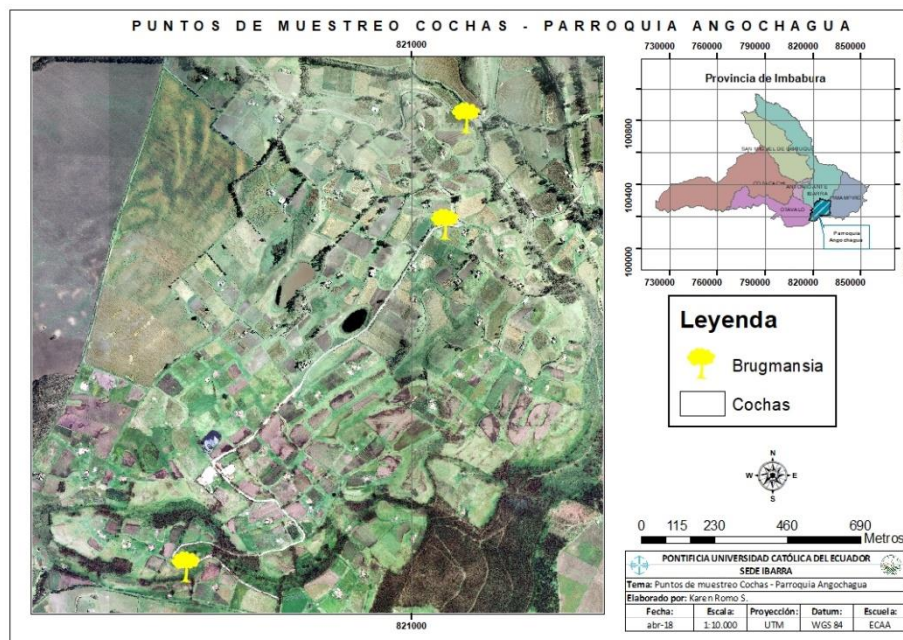


Figura 8. Mapa puntos de muestreo comunidad Cochas – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de Cochas se ha registrado un total de tres individuos como se puede observar en el mapa (ver figura 8) el recorrido para realizar la georreferenciación se realizó durante varios meses el cual hasta el último recorrido que se realizó en el último mes permanecen los remanentes de Brugmansia.

Existen dos especies presentes en la comunidad (ver tabla 2) *Brugmansia arbórea* y *sanguínea* el cual se las puede observar tanto en chacras familiares caminos como en los caminos o vías pobladas que están cerca de la comunidad (ver tabla 2).

Tabla 2

Levantamiento florístico de la comunidad Cochás

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
Cochás	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	0	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	2	Caminos o vías cercanos y poblados
	Guanto/ <i>Brugmansia arbórea</i>	1	Chacras familiares
TOTAL		3	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

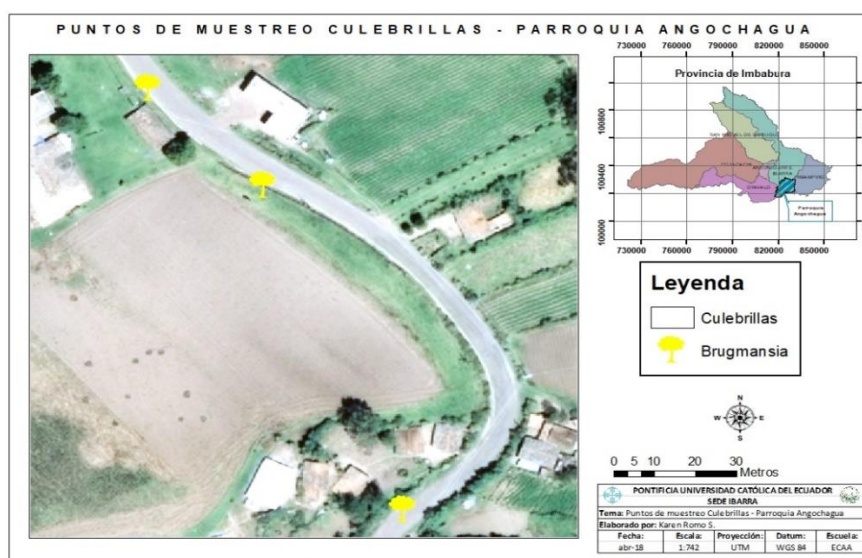


Figura 9. Mapa puntos de muestreo comunidad Culebrillas – Parroquia Angochagua por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

La georreferenciación se realizó durante varios meses, en la comunidad de culebrillas se registró tres remanentes de *Brugmansia* como se puede observar en el mapa (ver figura 9) hasta el último recorrido realizado en el último mes los individuos registrados permanecen aún ya que se los encontró en chacras familiares (ver tabla 3) los cuales se podría afirmar que corren menor riesgo de deforestación porque los pobladores que habitan allí, conocen de la especie y han sido los que plantaron el mismo, para diferentes usos según convenga.

En la comunidad de Culebrillas se registró una sola especie de *Brugmansia* el cual es *Brugmansia arbórea*, como se puede observar en la tabla.

Tabla 3

Levantamiento florístico de la comunidad Culebrillas

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
Culebrillas	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	0	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	0	N/A
	Guanto/ <i>Brugmansia arbórea</i>	3	Chacras familiares
TOTAL		3	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

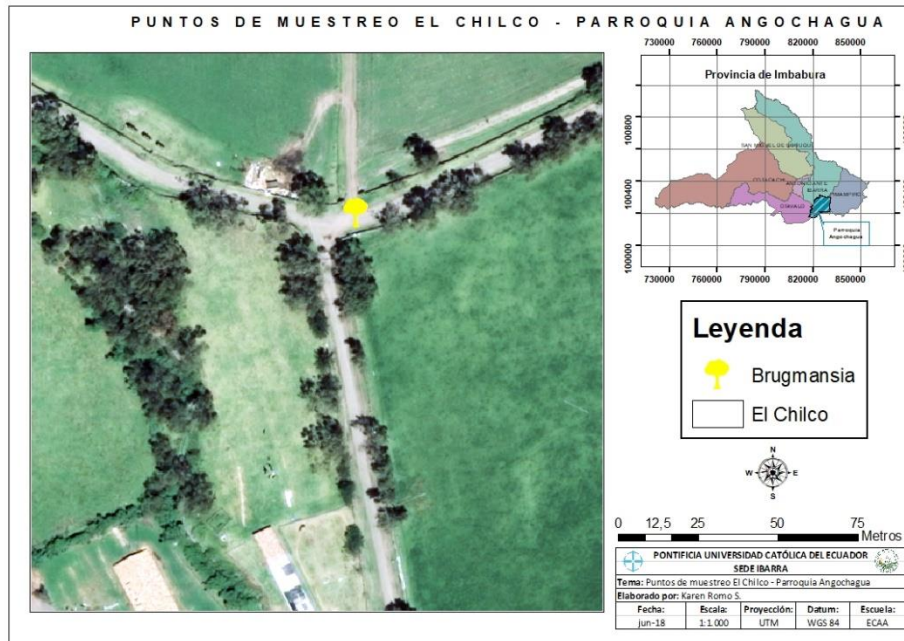


Figura 10. Mapa puntos de muestreo comunidad El Chilco – Parroquia Angochagua. Por Romo K.P, 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de El Chilco se realizó la georreferenciación durante varios meses dando como resultado un solo individuo en la zona de estudio como se puede observar en el mapa (ver figura 10) *Brugmansia sanguínea* es la especie a la cual pertenece (ver tabla 4) y hasta la fecha después de dos meses que se realizó el último recorrido por la comunidad de El Chilco sigue presente el individuo, el lugar de observación fue cerca de caminos o vías cercanos que conducen a la comunidad.

Este dato es uno de los más preocupantes ya que sino se realiza una sensibilización con la comunidad, en un futuro no existirán individuos que representen al género, dando como resultado una extinción total en la comunidad mencionada.

Tabla 4

Levantamiento florístico de la comunidad El Chilco

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
El Chilco	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	0	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	1	Caminos o vías cercanos y poblados
	Guanto/ <i>Brugmansia arborea</i>	0	N/A
TOTAL		1	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

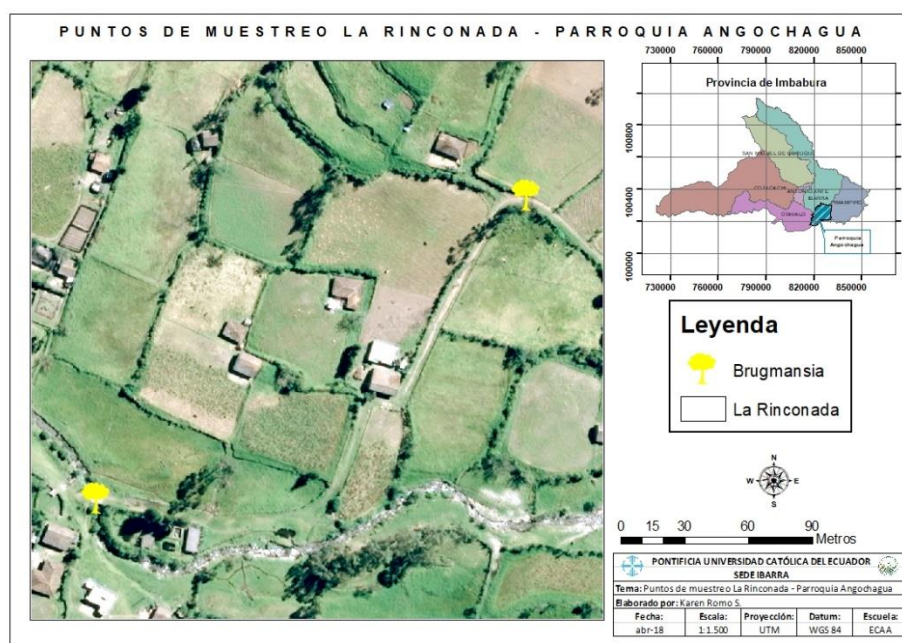


Figura 11. Mapa puntos de muestreo comunidad La Rinconada – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de La Rinconada, se encontró dos remanente de Brugmansia como se puede observar en el mapa, (ver figura 11) el recorrido para la georrreferenciación

se realizó durante varios meses y hasta el último recorrido realizado, los dos individuos registrados aun permanecen en los sitios localizados.

Se identificó dos tipos de especies en la zona una llamada *Brugmansia sanguínea* y otra llamada *Brugmansia arbórea* (ver tabla 5) el lugar donde fueron observadas para la primera especie fue en chacras familiares, los pobladores de la zona supieron manifestar que poseen la planta en sus jardines ya que les dan diferentes usos medicinales, mientras que la segunda especie se la observó en el camino que conecta a la comunidad.

Tabla 5

Levantamiento florístico de la comunidad La Rinconada

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
La Rinconada	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	0	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	1	Chacras familiares
	Guanto/ <i>Brugmansia arborea</i>	1	Caminos o vías cercanos y poblados
TOTAL		2	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

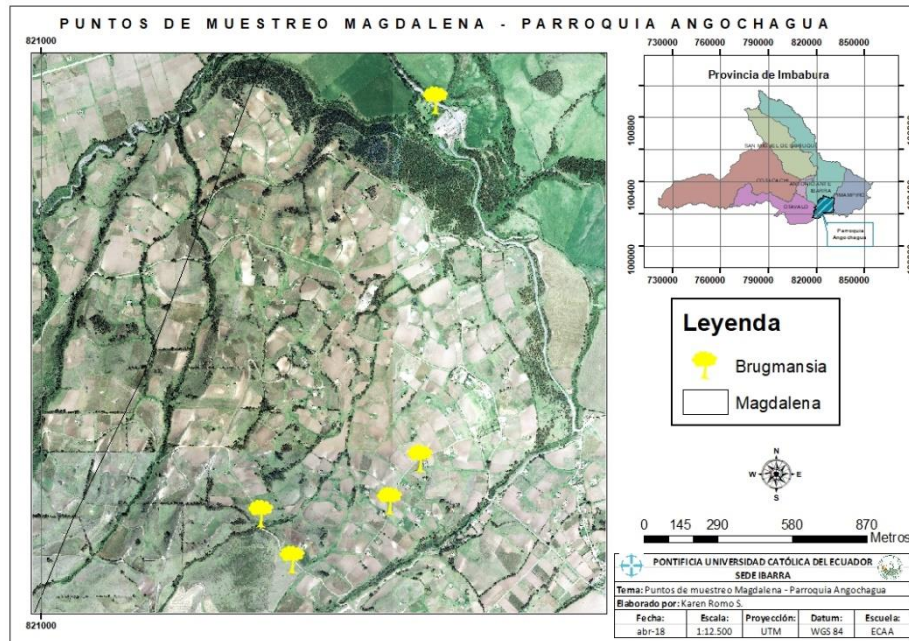


Figura 12. Mapa puntos de muestreo comunidad Magdalena – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de Magdalena se realizó la georreferenciación para determinar el número de individuos que se encuentra la comunidad dando como resultado un total de cinco remanentes como se puede observar en el mapa (ver figura 12).

Se logró identificar dos especies las cuales son *Brugmansia sanguínea* y *Brugmansia arbórea* las cuales existen dos individuos por cada especie (ver tabla 6). El lugar de observación de la primera fue en caminos que conectan a la comunidad y la segunda respectivamente se observó en chacras familiares. Hasta el último mes que se realizó los recorridos los individuos identificados aún permanecen en los lugares observados anteriormente.

Tabla 6

Levantamiento florístico de la comunidad Magdalena

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
Magdalena	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	0	N/A
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	3	Caminos o vías cercanos y poblados
	Guanto/ <i>Brugmansia arbórea</i>	2	Chacras familiares
TOTAL		5	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

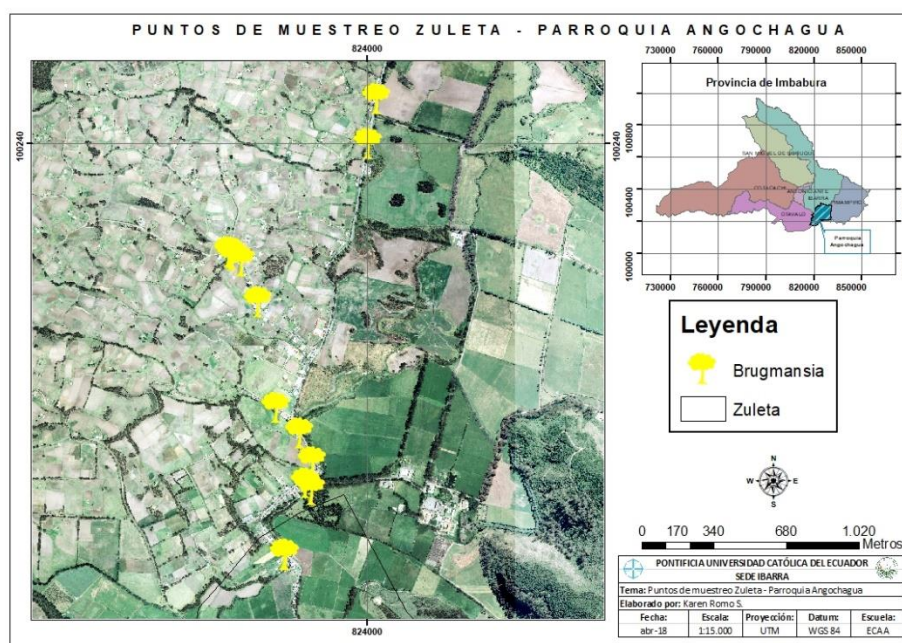


Figura 13. Mapa puntos de muestreo comunidad Zuleta – Parroquia Angochagua por Romo K.P., 2018. (La Autora) Fuente: (GAD Ibarra, 2017)

En la comunidad de Zuleta, se realizó la georreferencia para localizar los puntos donde se encuentran los individuos del género *Brugmansia* dando como resultado un total de catorce individuos, (ver figura 13) es la única comunidad donde se pudo observar los

tres tipos de especies estudiadas, las cuales son *Brugmansia aurea*, *Brugmansia arbórea* y *Brugmansia sanguínea* (ver tabla 7) se encontraron repartidas en diferente lugares y por cada individuo se observó que estaban rodeados de uno o dos árboles del mismo género, existe gran abundancia del género en la comunidad en cuanto a la segunda y tercera especie mencionada respectivamente, mientras que la primer especie representa una situación muy preocupante porque en toda la parroquia datan de tan solo dos remanentes y si no se toma medidas para remediar este impacto que se está generando probablemente este tipo de especie en la parroquia se extinguiría totalmente.

Los individuos mencionados anteriormente se observaron en chacras familiares para las especies de *Brugmansia aurea* contando con un ejemplar y *Brugmansia arborea* un total de tres remanentes mientras que, para *Brugmansia sanguínea* es la especie con más individuos dando un total de diez ejemplares y se lo observó cerca de caminos y vías que conectan a la comunidad de Zuleta. En el último recorrido los individuos mencionados anteriormente permanecen en los lugares observados.

Tabla 7

Levantamiento florístico de la comunidad Zuleta

Comunidad	N. común/ N. científico	Número de individuos	Lugar de observación
Zuleta	Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	1	Chacras familiares
	Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	10	Caminos o vías cercanos y poblados
	Guanto/ <i>Brugmansia arbórea</i>	3	Chacras familiares
TOTAL		14	

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

6.1.2.6. Muestreo de plántulas vasculares por especie

Tabla 8

Levantamiento florístico de la especie Brugmansia arbórea

N. común/ N. científico	Comunidades	Número de individuos	Lugar de observación
Guanto/ Brugmansia arbórea	Magdalena	2	Chacras familiares
	Rinconada	1	Caminos o vías cercanos
	Angochagua	0	N/A
	Chilco	0	N/A
	Zuleta	3	Chacras familiares
	Culebrillas	3	N/A
	Cochas	1	N/A
	Total		10

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

Para la especie *Brugmansia arbórea* se identificó un total de 10 individuos (ver tabla 8) en toda la parroquia de Angochagua, el mayor número de individuos existe en la comunidad de Zuleta y Culebrillas donde se identificaron 3 remanentes respectivamente, en cuanto en las comunidades, El Chilco y Angochagua después de realizar el levantamiento florísticos no se pudo encontrar ejemplares para registrar, existe el desconocimiento de la especie por parte de jóvenes y niños. Otra causa posible de la desaparición de la especie es la propiedad que posee alcaloides tropánicos el cual amedrentado a los comuneros que habitan allí por temor a ser intoxicado por parte de la especie. En Magdalena, La Rinconada y Cochas existen pequeños remanentes que se debe sensibilizar a la comunidad para que no desaparezcan totalmente.

Tabla 9

Levantamiento florístico de la especie Brugmansia sanguínea

N. común/ N. científico	Comunidades	Número de individuos	Lugar de observación
Floripondio rojo / <i>Brugmansia sanguínea</i>	Magdalena	3	Chacras familiares
	Rinconada	1	Caminos o vías cercanos
	Angochagua	6	Chacras familiares
	Chilco	1	Caminos o vías cercanos
	Zuleta	10	Chacras familiares
	Culebrillas	0	N/A
	Cochas	2	Caminos o vías cercanos
	Total		23

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

Para la especie *Brugmansia sanguínea* se identificó un total de 23 individuos en toda la parroquia de Angochagua, (ver tabla 9) el mayor número de individuos existe en la comunidad de Zuleta donde se identificaron 10 remanentes, seguido por la comunidad de Angochagua con un número de 6 individuos. La comunidad de Cochás, Chilco y Rinconada existen pequeños remanentes, personas que habitan en la comunidad indicaron que este tipo de especie no es apetecida por la población ya que existen creencias infundadas por sus ancestros de que la relación de la planta con los hijos recién nacidos podía afectar al desarrollo del mismo o que podían relacionarse la planta con maleficios perjudicando el bienestar de las familias, por lo cual se asume que estas podrían ser las posibles causas para que este tipo de especie haya ido desapareciendo paulatinamente, cabe resaltar que esta especie a indicado tener mayor resistencia y mejor capacidad de propagación ya que en el levantamiento florístico es la especie con mayor número de individuos y en su mayoría se ha encontrado en caminos.

Tabla 10

Levantamiento florístico de la especie Brugmansia aurea

N. común/ N. científico	Comunidades	Número de individuos	Lugar de observación
Floripondio amarillo / <i>Brugmansia aurea</i>	Magdalena	0	N/A
	Rinconada	0	N/A
	Angochagua	1	N/A
	Chilco	0	N/A
	Zuleta	1	Chacras familiares
	Culebrillas	0	N/A
	Cochas	0	N/A
	Total		2

Nota: Datos obtenidos en campo, a través del muestreo por Romo K.P., 2018 (La Autora).

Para la especie *Brugmansia aurea* se identificó un total de 2 individuos en toda la parroquia de Angochagua, (ver tabla 10) esta cifra es un poco alarmante ya que en el resto de comunidades que conforma la parroquia los cuales son: La Rinconada, Magdalena, Chilco y Cochás no se registró presencia de individuos lo cual no se pudo identificar. Existe desconocimiento de la especie, y solamente una familia posee un ejemplar en su jardín en la comunidad de Zuleta y otra familia en Angochagua, otros pobladores de la comunidad prefieren cultivar en sus hogares el floripondio blanco/ *Brugmansia arbórea* que presumen que posee mayor eficacia curativa.

6.1.3. Conocimientos ancestrales

Para realizar las encuestas se realizó un muestreo no probabilístico intencional o deliberado para el cual se eligió dos grandes grupos de población los cuales permitieron establecer comparaciones acerca de los conocimientos ancestrales en la parroquia Angochagua.

En vista que el último dato poblacional es del censo del 2010 se aplicó la fórmula de población que permitió obtener la proyección poblacional al 2018.

$$Pf = Po(1 + r)^t$$

$$Pf = 3263(1 + (-0.0159))^8$$

$$Pf = 3263(0.9841)^8$$

$$Pf = 2870$$

Finalmente, con el dato de la proyección poblacional al 2018 se aplicó la fórmula para calcular el tamaño de la muestra y obtener el número de los encuestados.

$$No = \frac{z^2 x pq}{e^2}$$

$$No = \frac{(1.15)^2 x 0.5 x 0.5}{(0.1)^2}$$

$$No = 33$$

$$N' = \frac{No}{1 + \left(\frac{No - 1}{N}\right)}$$

$$N' = \frac{33}{1 + \left(\frac{33 - 1}{1542}\right)}$$

$$N' = 32$$

El primer grupo de personas para las encuestas fue de adultos y adultos mayores y el segundo estuvo comprendido por jóvenes. Los resultados del primer grupo de personas encuestadas fueron los siguientes:

Pregunta 1. ¿Conoce usted el árbol, llamado comúnmente floripondio o guanto?

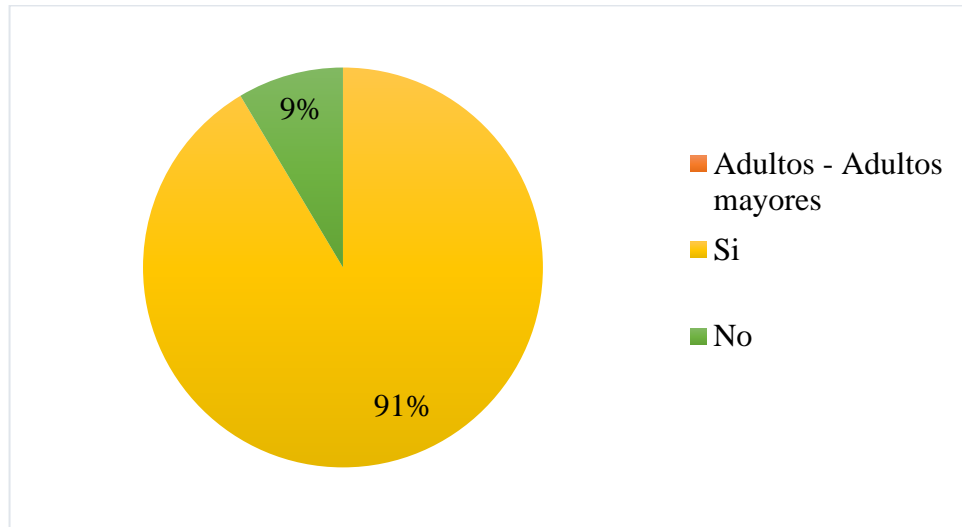


Figura 14. Conocimientos de la especie por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De acuerdo a las encuestas realizadas en la primera pregunta (ver figura 14) podemos evidenciar que un 91% de los adultos y adultos mayores que comprenden el primer grupo conocen en la actualidad la especie estudiada mientras que un 9% desconoce. La especie que reconocen con mayor facilidad es *Brugmansia arbórea* y afirman ver pocos remanentes en la parroquia Angochagua.

Pregunta 2. ¿Qué tiempo conoce que la especie existe en la comunidad?

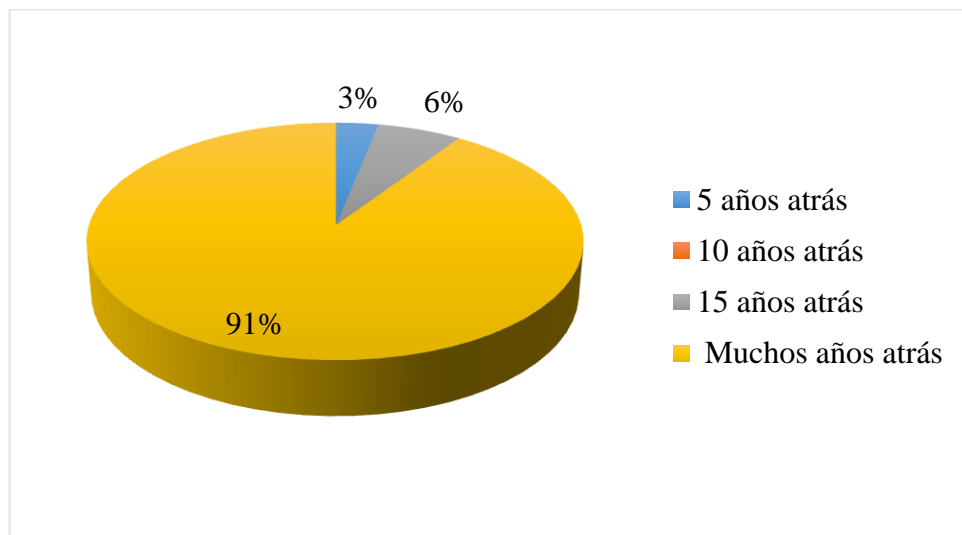


Figura 15. Conocimiento de la especie en la comunidad por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El 91% de los encuestados afirman haber conocido hace muchos años atrás a la especie, (ver figura 15) es decir unos desde su niñez y otros desde jóvenes ya que sus padres y abuelos le atribuía diferentes tipos de usos que muy pocos lo practican en la actualidad, el 6% indica hace quince años atrás que lo conocen o han visto cerca de sequias o plantados en distintas casas, tan solo el 3% representa que se conoce al floripondio hace diez años atrás.

Pregunta 3. ¿Qué uso proporciona el guanto para usted?

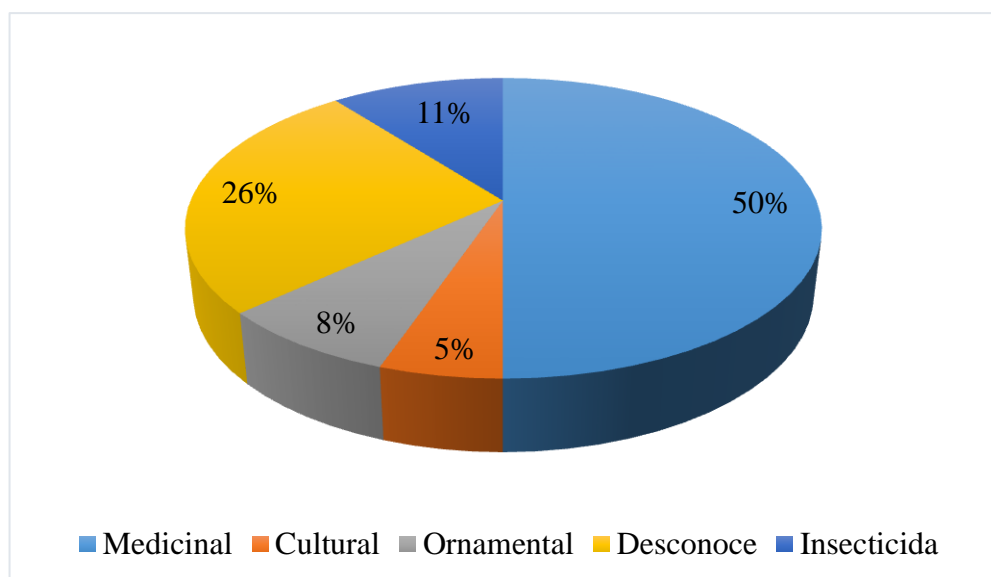


Figura 16. Uso de la especie por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El 50% atribuye los encuestados que dan un uso completamente medicinal, el cual en su mayoría lo utilizan las parteras de la zona, para las dolencias y reumas también lo utilizan para sanar las heridas en los animales o para el ganado bravo. (ver figura 16) El 26% forma parte del grupo que desconoce el uso de la especie porque desde años atrás han inculcado, características que pueden perjudicar a la salud por lo que han preferido obviar a la especie. El 11% indica que varios pobladores dedicados a los cultivos lo utilizan como insecticida el cual ha sido de gran ayuda para mitigar las plagas que dañan los cultivos, el 8% viene a ser parte del uso ornamental el cual indica que únicamente lo usan por propósito decorativo debido a sus características estéticas, su fuerte aroma y colores llamativos, el 5% le dan un uso cultural es decir antes lo conocían a las Brugmansias como

plantas de los Dioses por lo que varios shamanes o curanderos lo utilizan para realizar limpiezas entre otros rituales.

Pregunta 4. ¿Por qué cree que está desapareciendo la especie?

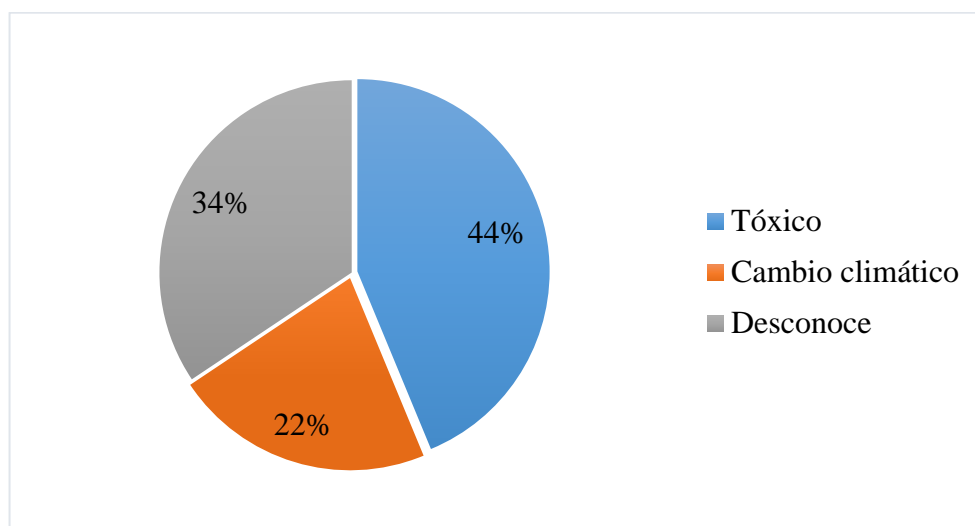


Figura 17. Desaparición de la especie por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El floripondio en la actualidad ha sido catalogado como tóxico en la mayoría de poblados de la parroquia Angochagua dando como resultado en las encuestas (ver figura 17) un 44% razón por la cual los encuestados presumen que está desapareciendo es decir la propia gente de ahí prefieren deforestar la especie para evitar daños hacia la salud de cada una de las familias que habitan en la parroquia, un 34% desconoce el porque está desapareciendo la especie y por último el 22% afirma que se debe al cambio climático que se ha ido generando año tras año.

Pregunta 5. ¿Ha visto animales o insectos cerca del árbol de guanto?

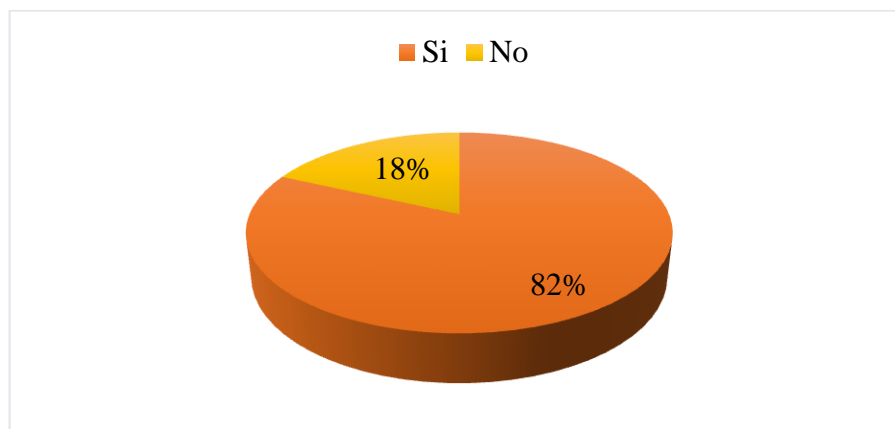


Figura 18. Presencia de polinizadores por Romo K.P., 2018 (La Autora).

Esta pregunta se planteó para obtener información acerca de los posibles polinizadores de la especie y de acuerdo a los encuestados un 82% afirman que han visto distintos tipos de insectos que rodean a la especie entre ellos moscas, picaflones y abejas frecuentemente (ver figura 18) mientras que un 18% no han visto algún tipo de insecto cerca de la especie.

Pregunta 6. ¿Conoce de incendios provocados recientemente donde haya presencia de guanto?

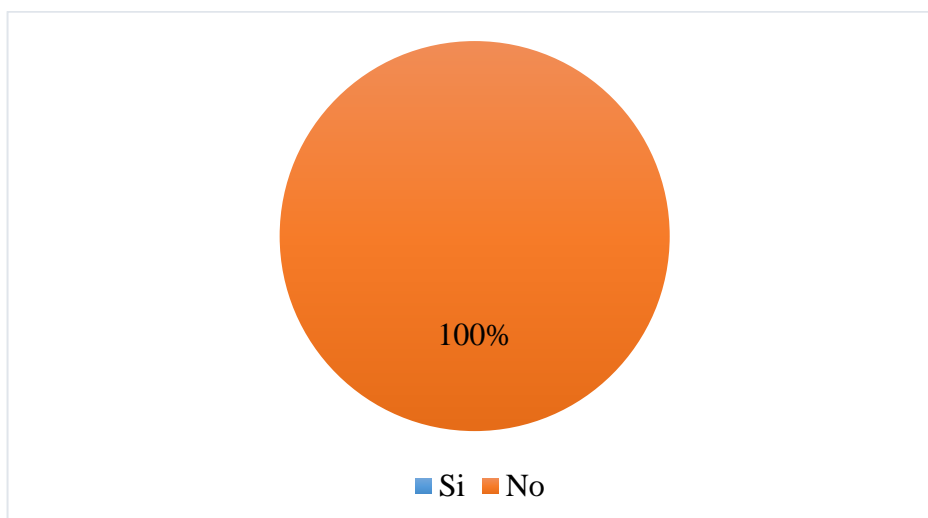


Figura 19. Presencia de incendios forestales por Romo K.P., 2018 (La Autora).

La presente pregunta, se realizó con el fin de saber si en la parroquia existe frecuentes quemadas por lo que podría ser un indicativo que podría estar desapareciendo la

especie por incendios provocados, (ver figura 19) pero el 100% afirma que desde hace años en la parroquia no han registrados incendios provocados ya que el Ministerio del Ambiente posee un buen control en la zona.

Pregunta 7. ¿Los conocimientos ancestrales que usted conoce, han sido transmitidos por generaciones?

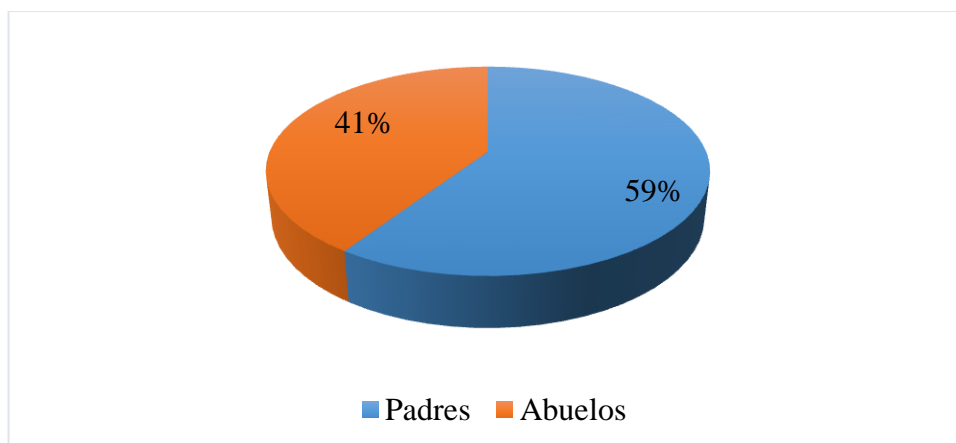


Figura 20. Transmisión de conocimientos ancestrales por Romo K.P., 2018 (La Autora).

La presente pregunta se realizó para obtener información si los conocimientos ancestrales que se sabe de la especie se han transmitido por generaciones y en su mayoría fueron transmitidos por los padres de los adultos y adultos mayores con un 59% y 41% por los abuelos del mismo (ver figura 20).

Pregunta 8. ¿De qué forma conoce que se propaga la especie?

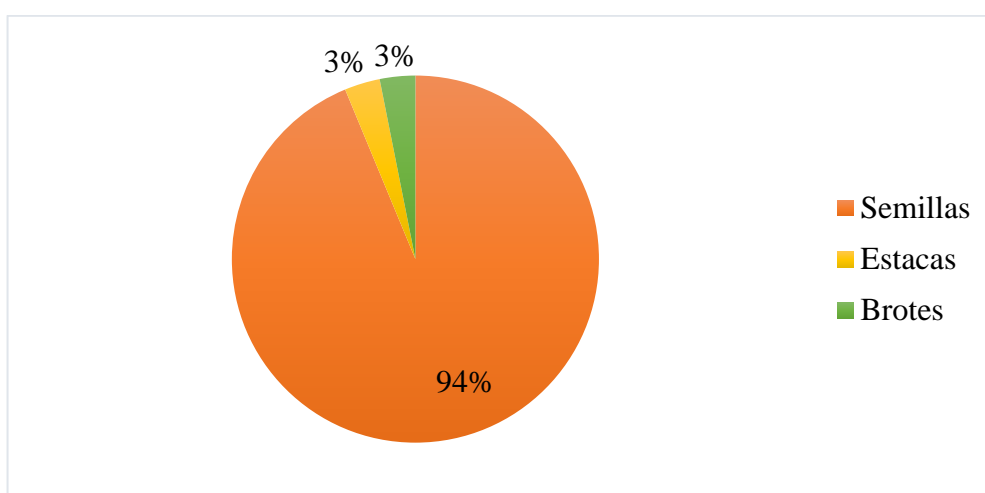


Figura 21. Propagación de la especie por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente pregunta la propagación por semillas representa el mayor porcentaje con un 94% es decir los pobladores que conocen de la especie o poseen en sus chacras familiares han plantado mediante semillas, mientras que un 3% representa a la propagación por brotes y estacas que es relativamente baja (ver figura 21).

El segundo grupo de encuestados pertenece a los jóvenes los resultados fueron los siguientes:

Pregunta 9. ¿Conoce usted el árbol, llamado comúnmente floripondio o guanto?

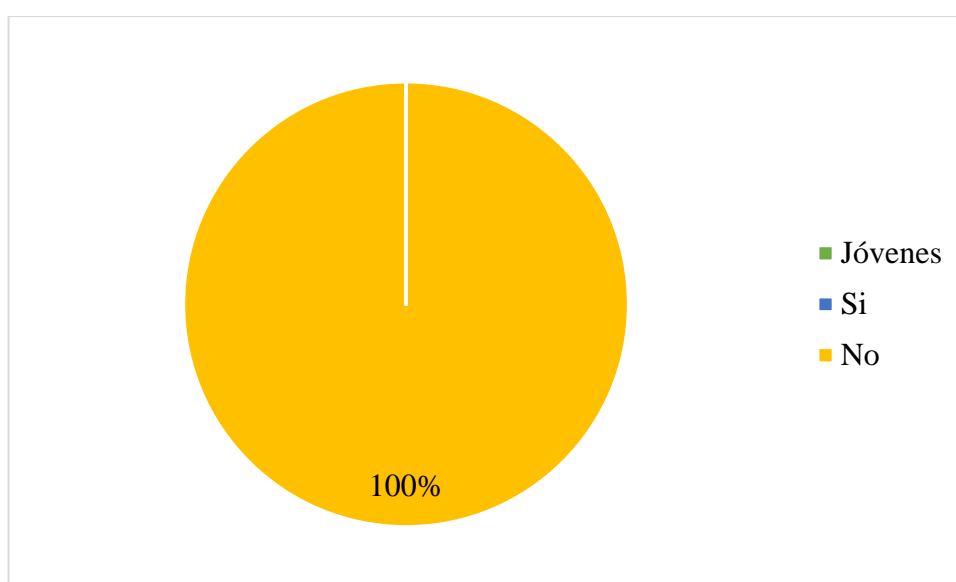


Figura 22. Conocimiento de la especie por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente figura se puede evidenciar claramente que los jóvenes que habitan en la parroquia Angochagua desconocen este tipo de especie (ver figura 22) es decir los conocimientos del mismo no han sido transmitidos y se han quedado en las antiguas generaciones, las razones por la que desconocen la especie puede ser porque el árbol es catalogado como tóxico o existe desinterés por parte de los adultos.

6.2.Fase de laboratorio

En el siguiente apartado se va a detallar los resultados obtenidos acerca de la identificación de la morfología del polen estudiado, la descripción botánica de las especies florísticas vasculares, método de crío conservación y el muestreo de los polinizadores.

6.2.1. Levantamiento florístico

El levantamiento florístico se realizó en las seis comunidades que conforman la parroquia Angochagua, se tomó una muestra de cada especie para herbario y otra se recolectó para llevar analizar al herbario del PUCE – SI, realizar la extracción del polen y el método de crio conservación.

6.2.1.1. Descripción taxonómica de las especies *Brugmansia*

Guanto / *Brugmansia arborea*

Pertenece al grupo de angiospermas, dicotiledónea, se considera arbusto, las hojas son compuestas, pinnadas imparipinnadas, caulinares, ovadas, ligeramente pilosas, posee nervadura pinnatinervia, según el margen es entero, ápice caudado y base aguda, de acuerdo a la posición de las hojas son alternas y consta con una longitud de 15cm promedio, la flor es hermafrodita, axilar, solitaria, actinomorfa, completa, gamosépalo resistente, ovario súpero, metaclamideas, gamopétalo campanulada, poliandra, presenta cinco estambres opuestos a los lóbulos de la corola, inclusos, homodinamos, epipétalos, anteras con dehiscencia longitudinal, tecas paralelas, inserción basifija, posee un gineceo sincárpico, con placentación axilar, el fruto es simple, una cápsula de color verde, bicarpelar, el exocarpo es piloso, simple, indehiscente y semillas rugosas .

Floripondio amarillo / *Brugmansia aurea*

Pertenece al grupo de angiospermas, dicotiledónea, se considera arbusto, las hojas son compuestas, pinnadas imparipinnadas, caulinares, ovadas, ligeramente pilosas, posee nervadura pinnatinervia, según el margen es entero, ápice caudado y base aguda, de acuerdo a la posición de las hojas son alternas y consta con una longitud de 15cm promedio, la flor es hermafrodita, axilar, solitaria, actinomorfa, completa, gamosépalo resistente, ovario súpero, metaclamideas, gamopétalo campanulada, poliandra, presenta cinco estambres opuestos a los lóbulos de la corola, inclusos, homodinamos, epipétalos, antera con dehiscencia longitudinal, tecas paralelas, inserción basifija, posee un gineceo sincárpico, con placentación axilar.

Floripondio rojo / *Brugmansia sanguínea*

Pertenece al grupo de angiospermas, dicotiledónea, se considera arbusto, las hojas son compuestas, pinnadas imparipinnadas, caulinares, lobulada, ligeramente pilosas, posee nervadura pinnatinervia, según el margen es inciso, ápice caudado y base aguda, de acuerdo a la posición de las hojas son alternas y consta con una longitud de 17cm promedio, la flor es hermafrodita, axilar, solitaria, actinomorfa, completa, gamosépalo resistente, ovario súpero, metaclamideas, gamopétalo tubuloso, poliandra, presenta cinco estambres opuestos a los lóbulos de la corola, inclusos, homodinamos, epipétalos, antera con dehiscencia longitudinal, tecas paralelas, inserción basifija, posee un gineceo sincárpico, con placentación axilar.

6.2.1.2.Muestras de herbario

Finalmente se realizaron tres muestras de herbario, una por cada especie perteneciente a *Brugmansia arbórea* con el código 0004985 *Brugmansia sanguínea* con el código 0004984 y *Brugmansia aurea* con el código 0004986 cada una con su respectivo voucher.

6.2.2. Morfología de polen

Para identificar la morfología de las tres especies estudiadas se acudió al Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) el cual arrojó los siguientes resultados

- **Morfología de polen de *Brugmansia arbórea***

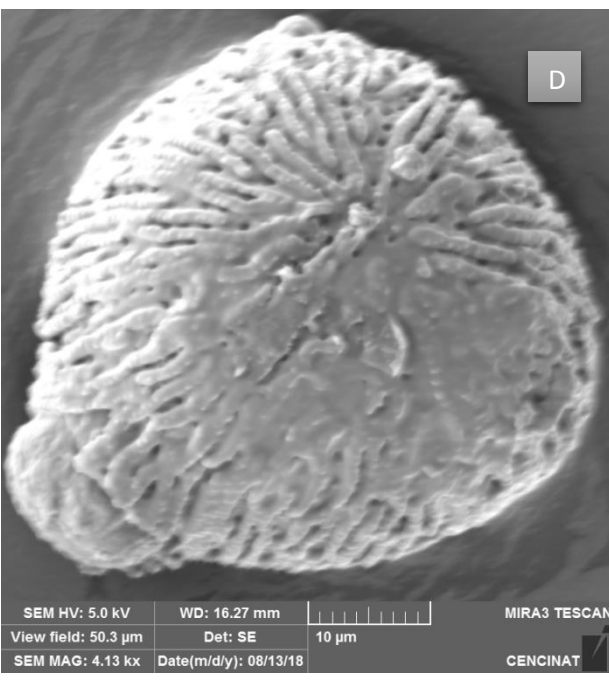
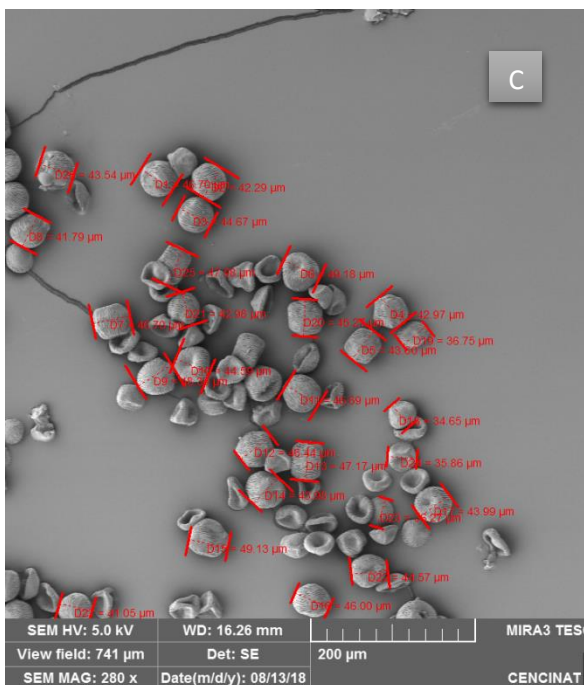
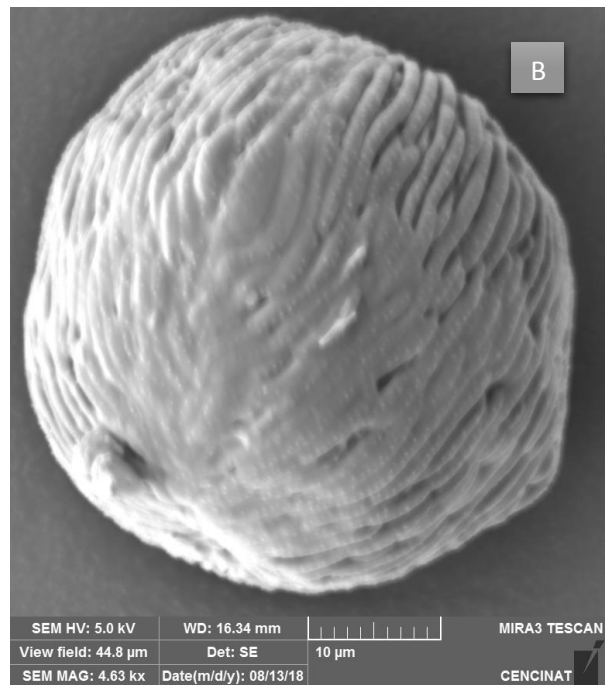
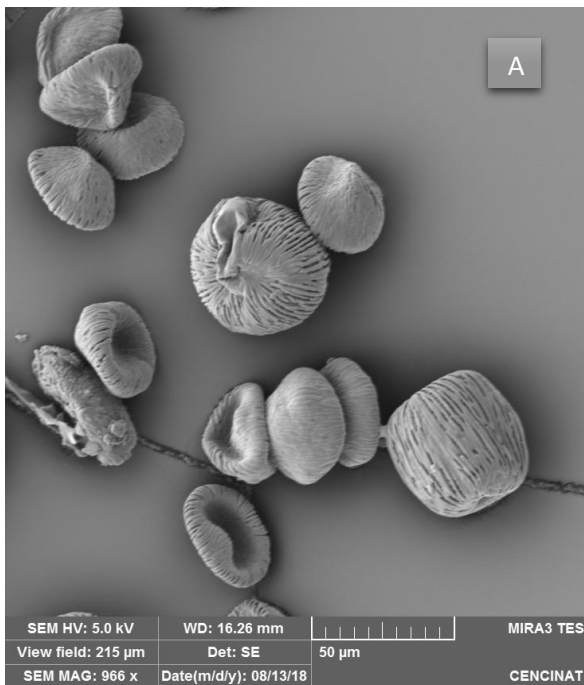


Figura 23. Microfotos de granos de polen de *Brugmansia arborea* vista polar por Romo K.P., 2018 (La Autora) Fuente: (CENCITAT, 2018)

De acuerdo a la ornamentación los granos de polen son fosulados ligeramente estriados (B y D), (ver figura 23) las aperturas presentes del polen son tricolporados zonorados, según la polaridad y simetría son granos radiosimétricos, isopolares (Sáenz Lain, 2004) según la forma prolato esferoidal (Velásquez, 1999) DP: 44,59 – 49,13, DE: 41,79 – 46,70. P/E= 1,11. A: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 215µm, SEM MAG: 966x, WD: 16.26 mm B: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 44.8 µm, SEM MAG: 4.63 kx, WD: 16.34 mm, r= 21.13 µm. C: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 741µm, SEM MAG: 280x, WD: 16.26 mm D: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 50.3 µm, SEM MAG: 4.13 kx, WD: 16.27 mm.

- Morfología de polen de *Brugmansia sanguínea*

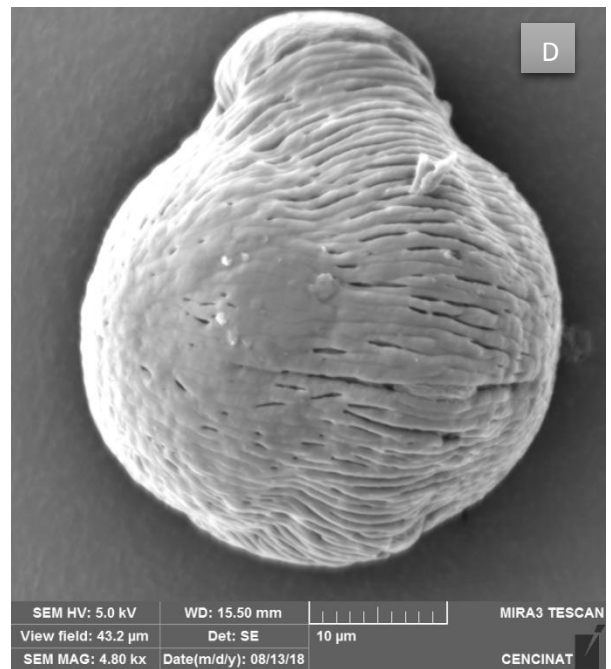
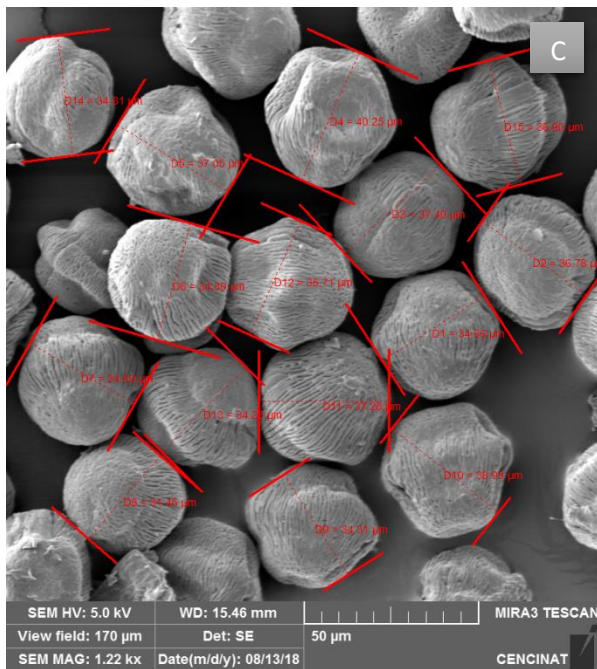
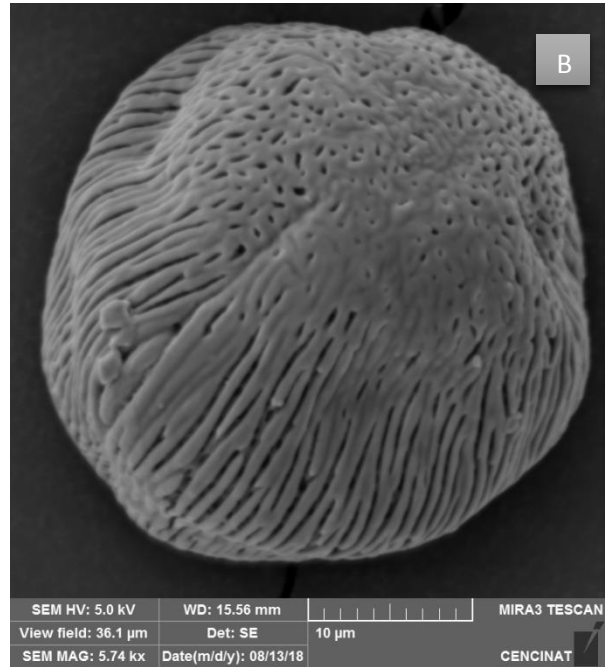
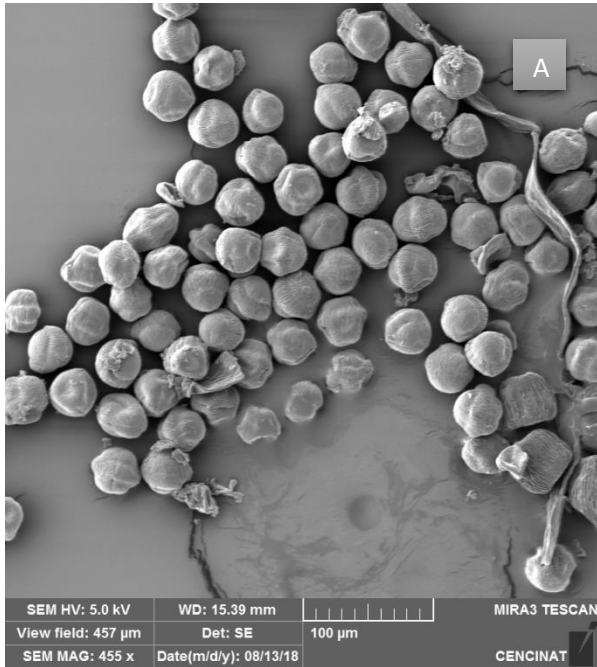


Figura 24. Microfotos de granos de polen de *Brugmansia sanguínea* vista polar por Romo K.P., 2018 (La Autora) Fuente: (CENCINAT, 2018)

De acuerdo a la ornamentación los granos de polen son fosulados ligeramente rugulados (B y D), (ver figura 24) las aperturas presentes del polen son tricolporados zonorados, según la polaridad y simetría son granos radiosimétricos, isopolares (Sáenz Lain, 2004) según la forma prolato esferoidal (Velásquez, 1999) DP: 40,25 – 34,60, DE: 37,28 – 31,45. P/E= 1,05. A: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 457 μ m, SEM MAG: 455x, WD: 15.39 mm B: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 36.1 μ m, SEM MAG: 5.74 kx, WD: 15.56 mm, r= 17.07 μ m. C: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 170 μ m, SEM MAG: 1.22 kx, WD: 15.46 mm D: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 43.2 μ m, SEM MAG: 4.80 kx, WD: 15.50 mm.

- Morfología de polen de *Brugmansia aurea*

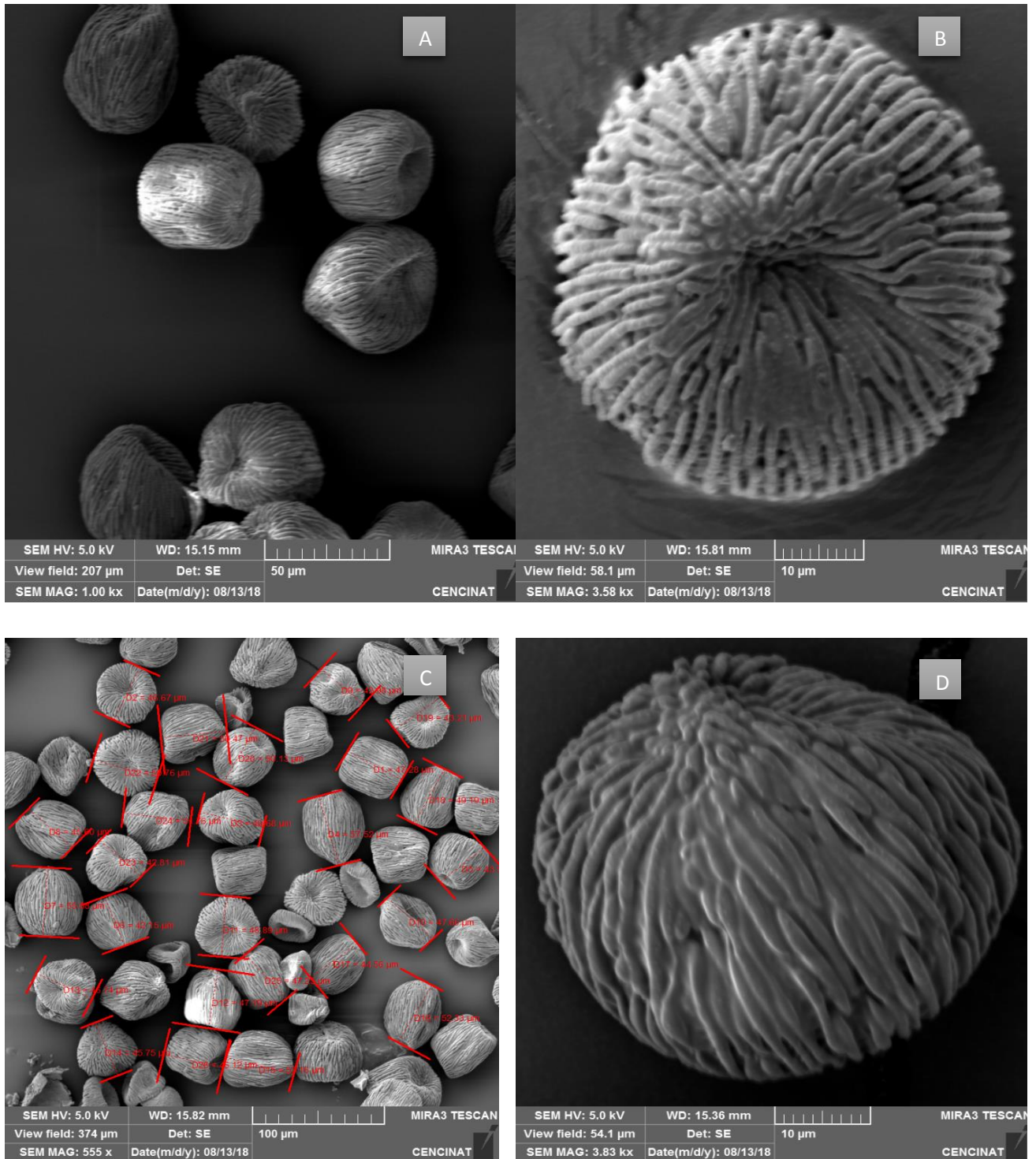


Figura 25. Microfotos de granos de polen de *Brugmansia aurea* vista polar por Romo K.P, 2018 (La Autora) Fuente: (CENCITAT, 2018)

De acuerdo a la ornamentación los granos de polen son estriados, presenta estrías contortas (B y D), (ver figura 25) las aperturas presentes del polen son tricolporados zonorados, según la polaridad y simetría son granos radiosimétricos, isopolares (Sáenz Lain, 2004) según la forma subprolato (Velásquez, 1999) DP: 55,48 – 42,15, DE: 51,76 – 43,21. P/E= 1,19. A: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 207 μ m, SEM MAG: 1.00 kx, WD: 15.15 mm B: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 58.1 μ m, SEM MAG: 3.58 kx, WD: 15.81 mm, $r= 25.57 \mu$ m. C: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 374 μ m, SEM MAG: 555 x, WD: 15.82 mm D: SEM HV: 5.0 kV, campo de vista 54.1 μ m, SEM MAG: 3.83 kx, WD: 15.36 mm.

Tabla 11

P/E de especies Brugmansia

Especie	Polar	Ecuatorial	P/E
<i>Brugmansia arbórea</i>	42,97	36,75	1,1692517
	46,69	41,79	1,11725293
	45,27	43,6	1,03830275
	49,13	43,99	1,11684474
Promedio			1,11041303
<i>Brugmansia sanguínea</i>	37,4	36,9	1,01355014
	40,25	37,05	1,08636977
	34,8	34,6	1,00578035
	34,2	31,45	1,08744038
Promedio			1,04828516
<i>Brugmansia aurea</i>	57,52	43,21	1,33117334
	47,28	42,81	1,10441486
	52,33	45,75	1,14382514
	55,56	46,67	1,19048639
Promedio			1,19247493

Nota: Datos obtenidos de medidas vista ecuatorial y polar de las especies de polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente tabla se indica la relación polar/ecuatorial (P/E) de las tres especies estudiadas (ver tabla 11) de acuerdo a esta medición se supo identificar la clase del polen según la forma dando como resultado promedio para *Brugmansia arbórea* y *Brugmansia sanguínea* con la denominación prolato esferoidal mientras que para la especie *Brugmansia aurea* de acuerdo al promedio de la relación (P/E) se ha denominado como subprolato. Además se puede destacar que en base a los estudios sometidos en laboratorio a las tres especies, la especie *Brugmansia aurea* a pesar de poseer un mayor radio y mejor relación (P/E) tuvo menor capacidad de resistencia ante las pruebas de laboratorio, mientras que *Brugmansia sanguínea* a pesar de poseer el menor radio y relación (P/E)

resultó ante las otras por su capacidad de resistencia y porcentaje de viabilidad, lo cual nos da un indicio de que a menor tamaño mayor resistencia y a mayor tamaño más susceptible a cambios.

6.2.3. Muestreo de polinizadores

Se realizó dos tipos de trampas donde se inició primeramente con la colocación de carpotrapas en los remanentes de cada especie, siguiendo la metodología propuesta por Luna (2005) el cual se pudo identificar los siguientes insectos que se han catalogado como acarreadores de polen.

Tabla 12

Polinizadores y relaciones mutualistas del género Brugmansia

N.Común	Familia	Orden
Colibrí pico espada	Trochilidae	Apodiformes
Murciélago lenguilargo sin cola	Phyllostomidae	Chiroptera
Moscas patas- largas o Mosca cazadora	Dolichopodidae	Díptera
Mosca	Syrphidae	Díptera
Escarabajo	Melolonthidae	Coleóptera
Chinche	Reduviidae	Hemíptera
Mosca del vinagre	Drosophilidae	Díptera
Abeja mielera	Apidae	Hymenóptera

Nota: Datos obtenidos en laboratorio, muestreo de polinizadores por Romo K.P., 2018 (La Autora) Fuente: (Merlín, Villamil, y Martínez, 2014)

Para la identificación de insectos se realizó la observación de los insectos recolectados mediante un estereoscopio e inmediatamente se acudió al departamento de

entomoteca, para identificar mediante claves taxonómicas y con los ejemplares que existen en la misma, se identificó seis tipos de insectos (ver tabla 12) los cuales tres pertenecen al orden díptera dos posee un tipo de alimentación saprófago, es decir se alimentan de distintas partes del árbol, pero existe un equilibrio ya que familia Hemíptera y Dolichopodidae su tipo de alimentación es depredador lo cual se alimentan de estos insectos, a su vez estos depredadores permiten a terceros obtener alimento de forma indirecta siguiendo con la cadena alimenticia.

Según Rosado Gordón (2012) El principal insecto polinizador pertenece al orden Hymenóptera el cual es catalogado como polinizador predominante, en campo se observó que esta especie visitaba frecuentemente a los árboles de Brugmansia, es tan apetecido por *Apis mellifera* ya que representa como fuente de proteína que proporciona vitaminas, minerales y grasas necesarias que necesitan las abejas en el transcurso de su fase larval, llegando a ser el principal alimento para esta especie (Seeley, 2006).

De acuerdo a Bedoya et al. (2013) en un estudio realizado a la especie *Brugmansia aurea* describiendo las relaciones ecológicas, *Drosophila spp* aparece con más de un estado biológico el cual representa un alto grado de especificad para el árbol de Brugmansia es decir existe una estrecha interacción entre planta e insecto herbívoro involucrando una historia evolutiva a través de la ecología. De igual forma el insecto *Syrphidae* aparte de ser saprófago son polinizadores y depredadores de áfidos es decir son buenos controladores de plagas como el pulgón. Otro ejemplar de depredador de insectos es *Reduviidae sp*. Por esta razón ha sido catalogado como controlador natural de grandes plagas (Ortiz, Ramírez, y Lito, 2016).

En el caso de la familia Melolonthidae se caracterizan por ser fitófagos y a su vez han desarrollado la capacidad de contrarrestar la toxicidad que genera este tipo de especie (Brugmansia) a través de mecanismos que reducen la acción de los metabolitos secundarios hacia el insecto (Bedoya et.al, 2013).

Según Plitt (2006) los escarabajos fueron los primeros polinizadores de esta especie hace muchos años atrás, siendo los miembros más primitivos como polinizadores de este grupo, ya que era atraído por la fragancia que desprende de las flores, lo cual resulta atractivo para los escarabajos.

La relación que existe entre el polinizador y la planta es grande ya que los insectos mencionados anteriormente están estrechamente unidos, ya sea como hospederos, como fuente de alimento, o depredadores de otros es decir la presencia de uno complementa a otro y si los árboles de *Brugmansia* pasan a la extinción la diversidad de insectos que habitan en la especie mencionada anteriormente podrían reducirse drásticamente (Plitt, 2006) al no poder adaptarse de forma rápida a otras especies forestales (Bedoya et.al, 2013).

Mediante revisión bibliográfica se encontró que aparte de la polinización por insectos también los árboles de *Brugmansia* son polinizados a través de quiropterofilia y ornitofilia. En la quiropterofilia se encontró a la especie *Anoura geoffroyi* como ejemplar de polinizador. El árbol de *Brugmansia* al ser un árbol que produce abundante aroma y néctar sobre todo en las horas de la noche, esta particularidad, resulta atractivo para los insectos y al atraer todo tipo de insecto acarreador de polen, según estudios realizados por Caballero, Rivas, y Aguilera (2009) *Anoura geoffroyi* es un visitante permanente, atraído por la fragancia que desprende esta especie y concurre a este tipo de árboles para consumir el néctar y además capturar y alimentarse de insectos hospederos que se encuentran en la zona.

El Colibrí pico de espada, *Ensifera ensifera*, es un ícono importante en la polinización para los árboles de *Brugmansia* ya que debidos a sus caracteres morfológicos que presenta, está ligado por coevolución haciendo una fuerte relación entre ave – flor, es decir la estructura que presenta la flor de *Brugmansia* hace que *Ensifera ensifera* al momento de succionar el néctar que contiene la flor, automáticamente entra en contacto con los órganos reproductores que dispone la flor (anteras y estigma) la relación que existe entre el tamaño y superficie corporal del insecto y la estructura de la flor radica en la eficacia de la polinización (Lara, 2012).

Por ser citado como un ejemplo de coevolución la especie *Ensifera ensifera* ha llegado a formar dependencia en sentido de planta – ave es decir, las plantas que son polinizados por este individuo, tenderían a extinguirse debido a que la flor de *Brugmansia* posee corolas relativamente largas y gracias al pico del colibrí que es extremadamente largo permite que la polinización sea fácil, de igual forma sucedería con el colibrí, no se

podrían adaptar de forma rápida para alimentarse de otras flores, debido a sus picos modificados (Muñoz, 2006).

6.2.4. Protocolo de crioconservación

Para la crioconservación de polen se aplicó la técnica de deshidratación y encapsulación el cual se empleó las anteras de las especies florísticas, además se utilizó la técnica convencional de almacenamiento en frío, utilizando un congelador como comparador con el fin de demostrar que técnica es la más adecuada para preservar este tipo de especie y mantener su viabilidad a largo plazo.

El proceso mencionado fue realizado por seis meses, y cada dos meses se monitoreo la viabilidad que será explicada posteriormente.

6.2.4.1. Viabilidad de polen

De acuerdo a la metodología descrita por Reddy y Kakani (2007) se determinó la viabilidad del polen en condiciones *in vitro* de la especie *Brugmansia arbórea*, *Brugmansia sanguínea* y *Brugmansia aurea* almacenadas en nitrógeno líquido y congelador como comparador por seis meses

El criterio principal tomado en cuenta para determinar la viabilidad fue, observar mediante el microscopio óptico las anteras viables que contenían polen, se evaluó considerando el crecimiento del tubo polínico, es decir, si el tubo polínico posee una longitud igual o mayor al diámetro del grano de polen observado (García et al., 2015).

Por cada caja Petri analizada se realizó el conteo de las anteras viables, no viables y contaminadas a continuación se detallarán los resultados correspondientes de la técnica de almacenamiento congelador y del tanque de nitrógeno líquido por los seis meses y por cada especie.

- **Viabilidad por meses**

En el presente apartado se representará la interpretación de datos por cada dos meses que se realizó el monitoreo durante los seis meses de los dos métodos mencionados anteriormente.

Para realizar la viabilidad se siguió la metodología de acuerdo Reddy y Kakani (2007) se tomó en cuenta las cinco anteras encapsuladas los cuales fueron sometidos al cultivo para realizar viabilidad tanto en nitrógeno líquido como en el congelador.

Tabla 13

Viabilidad segundo mes

Especie	Unidades de flores colectadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad(Horas)	Anteras viables	Congelador		Nitrógeno líquido		
					Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia arbórea</i>	1	5	48	3	2	0	4	1	0
	1	5	65	3	2	0	4	1	0
	1	5	136	0	3	2	5	0	1
<i>Brugmansia sanguínea</i>	1	5	48	4	1	0	5	0	0
	1	5	65	4	1	0	5	0	0
	1	5	136	3	0	2	4	0	1
<i>Brugmansia aurea</i>	1	5	48	1	4	0	2	3	0
	1	5	65	2	3	0	3	2	0
	1	5	136	2	1	2	3	0	2
SUMA	9	45		22	17	6	35	7	4
PROMEDIO	1	5		2	2	1	4	1	0

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El primer monitoreo para observar la viabilidad del polen, se realizó al segundo mes, de haber introducido el material estudiado al tanque de nitrógeno líquido y al congelador respectivamente, las tres especies fueron evaluadas en tres intervalos a partir de las 48 horas de haber realizado el cultivo y haber permanecido 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad, el primer análisis se realizó a las 48 horas, el segundo a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente (ver tabla 13) por cada técnica mencionada anteriormente, en cada intervalo de tiempo se pudo apreciar el crecimiento del tubo polínico a través de los días, en el segundo mes se tomó en cuenta diferentes criterios; como: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas.

En la técnica utilizada con el congelador se puede observar, durante los dos meses, que las anteras no han sido viables un 71% en comparación al tanque de nitrógeno líquido que el porcentaje de anteras no viables es de 29% (ver tabla 13).

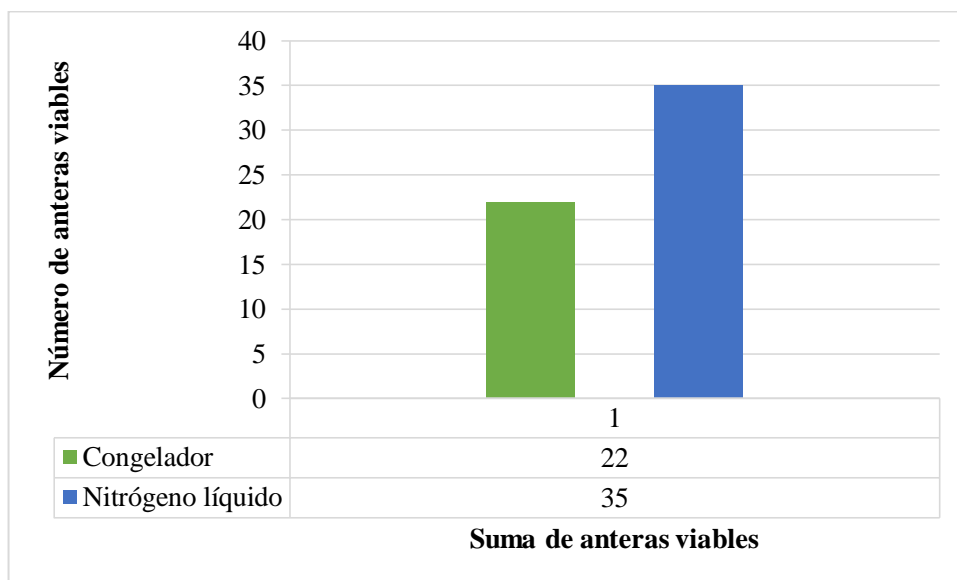


Figura 26. Suma viabilidad de anteras (2° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables (ver figura 26), durante dos meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 61% mayor; que, en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 35 de 45 y el del congelador 22 de 45 con un porcentaje final de 39%.

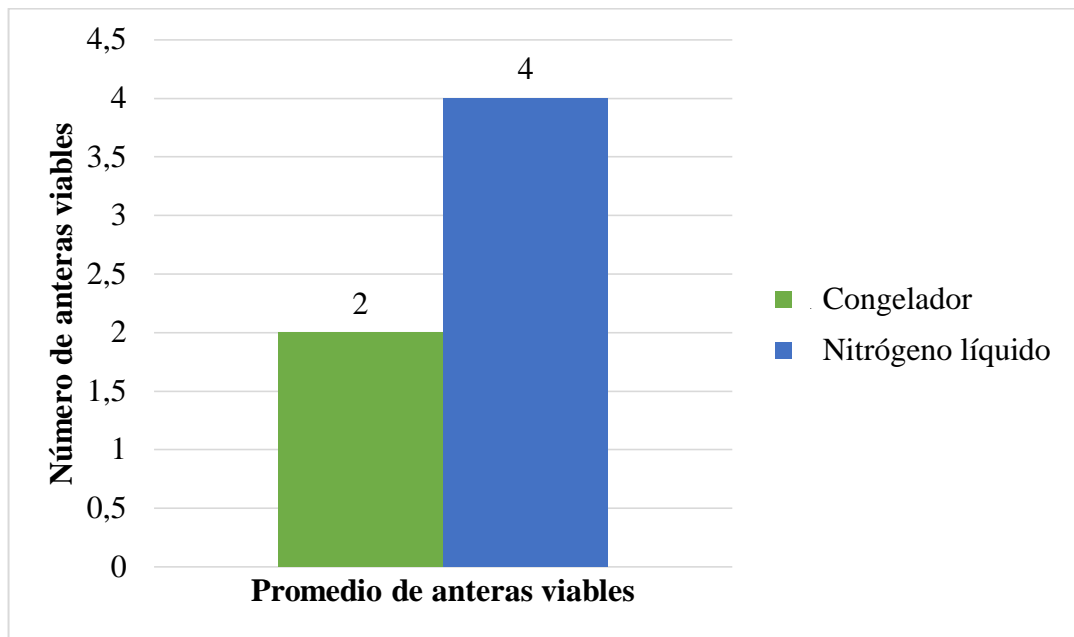


Figura 27. Promedio viabilidad de anteras (2° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras (ver figura 27), de la suma total mencionada anteriormente, durante los dos meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 67% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 4 sobre 5 y el del congelador es de 2 sobre 5 con un porcentaje final de 33%.

Tabla 14

Viabilidad cuarto mes

Especie	Unidades de flores colectadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad(Horas)	Congelador			Nitrógeno líquido		
				Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia arbórea</i>	1	5	48	4	1	0	4	1	0
	1	5	65	3	2	0	4	1	0
	1	5	136	0	3	2	3	0	2
<i>Brugmansia sanguínea</i>	1	5	48	4	1	0	5	0	0
	1	5	65	3	2	0	5	0	0
	1	5	136	4	0	1	4	0	1
<i>Brugmansia aurea</i>	1	5	48	0	5	0	1	4	0
	1	5	65	1	4	0	3	2	0
	1	5	136	2	3	0	3	0	2
SUMA	9	45		21	21	3	32	8	5
PROMEDIO	1	5		2	2	0	4	1	1

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El segundo monitoreo para observar la viabilidad del polen, se realizó al cuarto mes, de haber introducido el material estudiado al tanque de nitrógeno líquido y al congelador respectivamente, las tres especies fueron evaluadas en tres intervalos a partir de las 48 horas de haber realizado el cultivo y haber permanecido 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad, el primer análisis se realizó a las 48 horas el segundo, a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente (ver tabla 14) por cada técnica mencionada anteriormente, en cada intervalo de tiempo, se pudo apreciar el crecimiento del tubo polínico a través de los días, en el cuarto mes se tomó en cuenta diferentes criterios; como: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas.

En la técnica utilizada con el congelador se puede observar, durante los cuatro meses, que las anteras no han sido viables un 72% en comparación al tanque de nitrógeno líquido que el porcentaje de anteras no viables es de 28% (ver tabla 14), en relación con el segundo mes no representa significancia en el porcentaje.

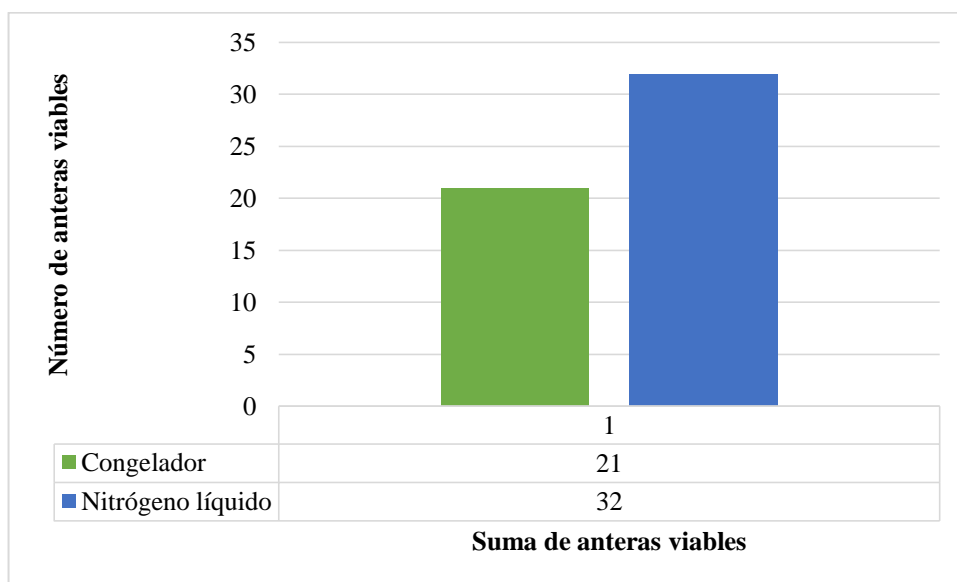


Figura 28. Suma viabilidad de anteras (4° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables (ver figura 28), durante cuatro meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 60% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 32 de 45 y el del

congelador 21 de 45 con un porcentaje final de 40% con respecto al mes anterior no existe significancia relevante.

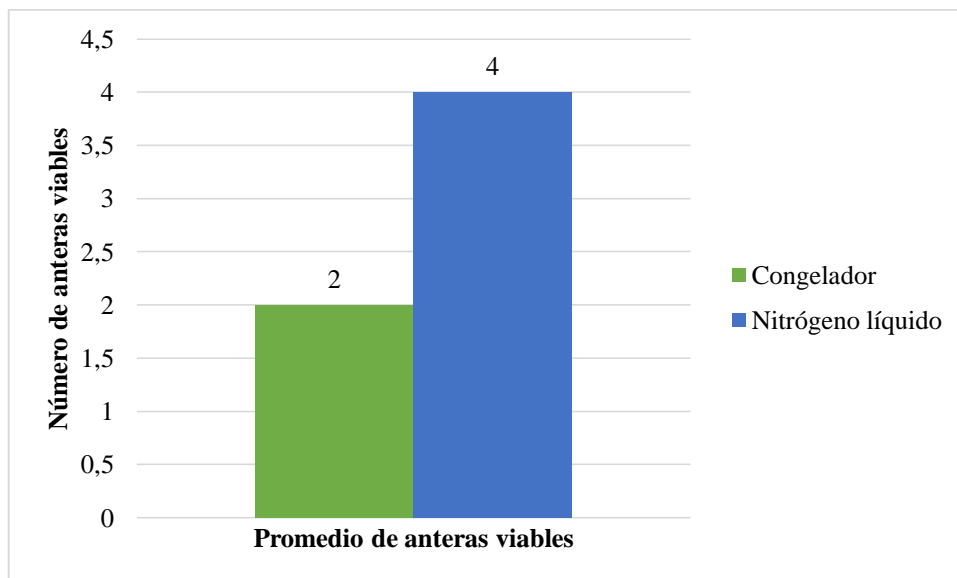


Figura 29. Promedio viabilidad de anteras (4° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras (ver figura 29), de la suma total mencionada anteriormente, durante los cuatro meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 67% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 4 sobre 5 y el del congelador es de 2 sobre 5 con un porcentaje final de 33% con respecto al mes anterior se mantiene el promedio de viabilidad en los dos meses.

Tabla 15

Viabilidad sexto mes

Especie	Unidades de flores colectadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad(Horas)	Congelador			Nitrógeno líquido		
				Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia arbórea</i>	1	5	48	3	2	0	5	0	0
	1	5	65	3	2	0	4	1	0
	1	5	136	1	2	2	3	0	2
<i>Brugmansia sanguínea</i>	1	5	48	4	1	0	5	0	0
	1	5	65	4	1	0	5	0	0
	1	5	136	2	3	0	4	0	1
<i>Brugmansia aurea</i>	1	5	48	1	4	0	2	3	0
	1	5	65	3	1	1	3	2	0
	1	5	136	0	0	5	3	1	1
SUMA	9	45		21	16	8	34	7	4
PROMEDIO	1	5		2	2	1	4	1	0

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El tercer monitoreo para observar la viabilidad del polen, se realizó al sexto mes, de haber introducido el material estudiado al tanque de nitrógeno líquido y al congelador respectivamente, las tres especies fueron evaluadas en tres intervalos a partir de las 48 horas de haber realizado el cultivo y haber permanecido 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad, el primer análisis se realizó a las 48 horas, el segundo, a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente (ver tabla 15) por cada técnica mencionada anteriormente, en cada intervalo de tiempo se pudo apreciar el crecimiento del tubo polínico a través de los días, para el sexto mes se tomó en cuenta diferentes criterios; como: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas.

En la técnica utilizada con el congelador se puede observar, durante los seis meses, que las anteras no fueron viables un 70% en comparación al tanque de nitrógeno líquido que el porcentaje de anteras no viables es de 30% (ver tabla 15), en relación con el cuarto mes no representa significancia en el porcentaje de no viabilidad.

Se puede concluir que en relación a los tres monitoreos evaluados por los seis meses en la técnica del refrigerador las anteras no viables se encuentran en el rango de 70% a 72% y con el nitrógeno líquido se encuentran en un rango de 28% a 30%.

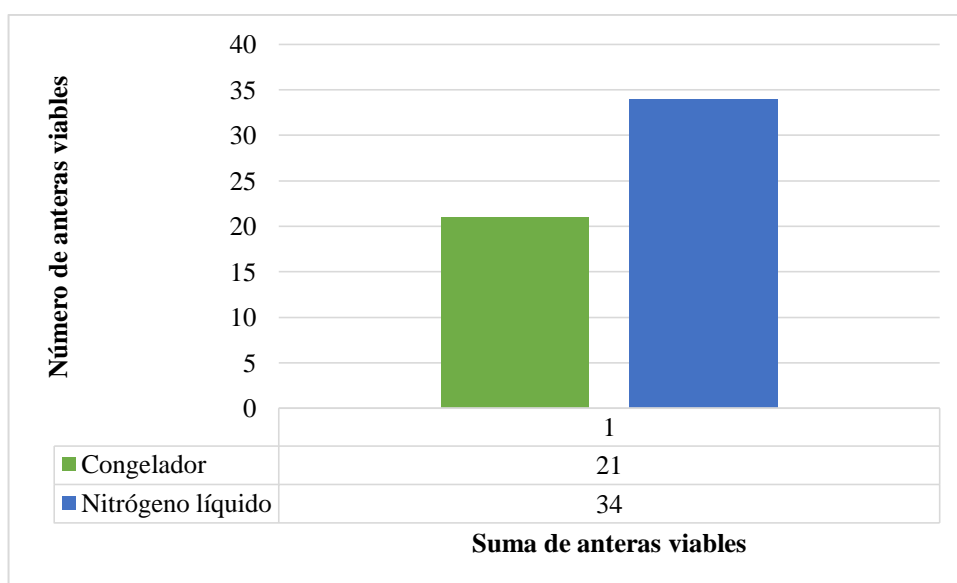


Figura 30. Suma viabilidad de anteras (6° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables (ver figura 30), durante seis meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno

líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 62% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 34 de 45 y el del congelador 21 de 45 con un porcentaje final de 38% con respecto al mes anterior no existe significancia relevante.

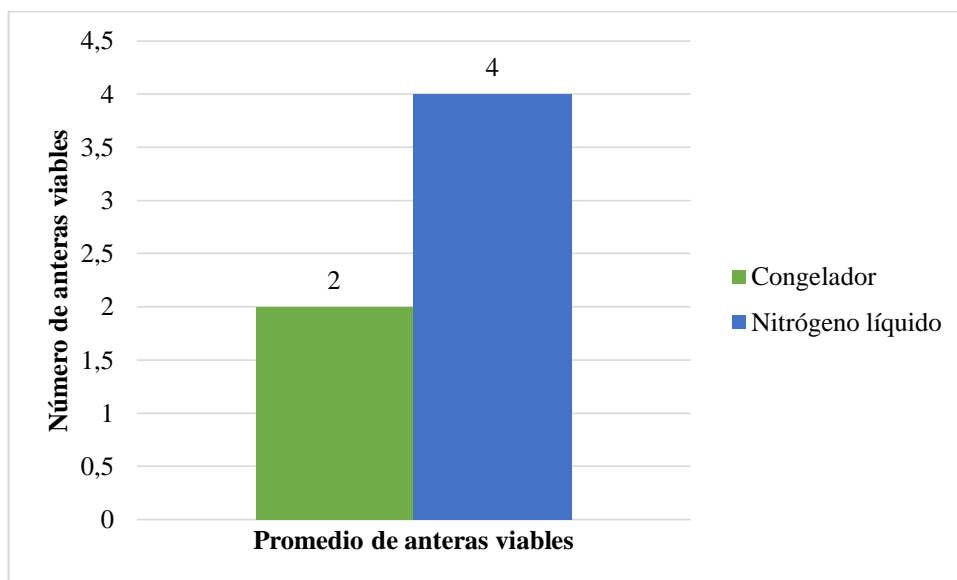


Figura 31. Promedio viabilidad de anteras (6° mes) por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras (ver figura 31), de la suma total mencionada anteriormente, durante los seis meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 67% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 4 sobre 5 y el del congelador es de 2 sobre 5 con un porcentaje final de 33% con respecto a los tres monitoreos evaluados anteriormente se puede concluir que el rango de promedio de viabilidad fue constante en todo el periodo que duró la investigación.

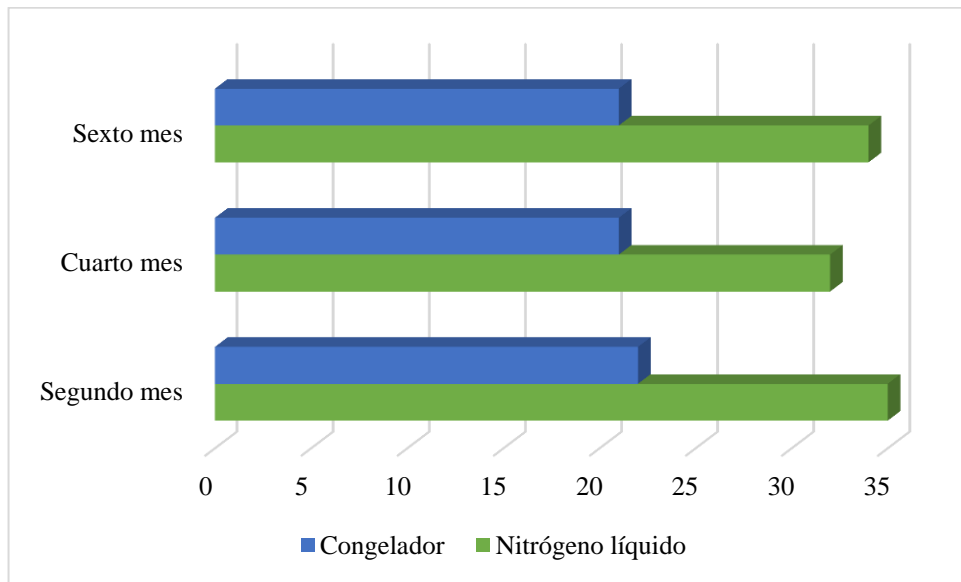


Figura 32. Comparación de anteras viables con las dos técnicas de almacenamiento por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De acuerdo a los tres monitoreos evaluados se puede concluir, que la técnica de nitrógeno líquido es mejor que el método convencional de congelador, el tercer monitoreo evaluado fue el que tuvo más anteras viables que los anteriores en la técnica con nitrógeno líquido (ver figura 32).

- **Viabilidad por especie**

En el presente apartado se representará la interpretación de datos por cada una de las especies que se realizó el monitoreo durante los seis meses de los dos métodos mencionados anteriormente.

Tabla 16

Viabilidad especie Brugmansia arborea

Especie	Mes	Unidades de flores conservadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad(Horas)	Anteras viables	Congelador		Nitrógeno líquido		
						Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia arborea</i>	2	3	5	48	3	2	0	4	1	0
				65	3	2	0	4	1	0
				136	0	3	2	5	0	1
	4	3	5	48	4	1	0	4	1	0
				65	3	2	0	4	1	0
				136	0	3	2	3	0	2
	6	3	5	48	3	2	0	5	0	0
				65	3	2	0	4	1	0
				136	1	2	2	3	0	2
SUMA					20	19	6	36	5	5
PROMEDIO					2	2	1	4	1	1

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente tabla se puede observar la viabilidad de la especie *Brugmansia arbórea* con la técnica del congelador y nitrógeno líquido respectivamente, realizada por los seis meses, para la respectiva evaluación se realizó el cultivo para el crecimiento del tubo polínico y las placas permanecieron durante 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad después de sembrar las anteras con polen en el cultivo, para observar el crecimiento del tubo polínico en las placas se realizó tres evaluaciones en diferentes intervalos, el primero se realizó a las 48 horas, el segundo a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente, los criterios que se tomó en cuenta al momento de evaluar la viabilidad fue: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas (ver tabla 16).

Durante los seis meses el porcentaje de anteras no viables en el congelador fue mayor que en el nitrógeno líquido ya que el primero posee un 79% y el segundo un 21% respectivamente, siendo el nitrógeno líquido la técnica más adecuada para almacenamiento de la especie mencionada anteriormente, también se pudo evidenciar que el tiempo óptimo para realizar la reproducción artificial de la especie *Brugmansia arbórea* es en el transcurso de las 48 horas a las 120 horas aproximadamente posteriores de haber sometido a las cajas Petri a la exposición de luz y luego oscuridad, ya que desde las 136 horas en adelante el proceso de contaminación de las anteras se acelera y el polen ya no resulta viable.

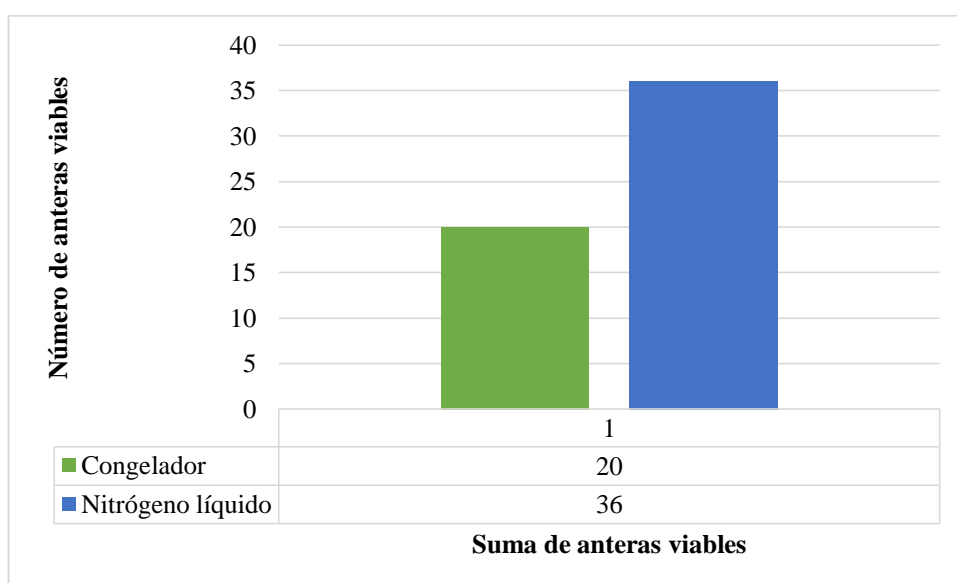


Figura 33. Suma viabilidad de *Brugmansia arbórea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables de la especie *Brugmansia arborea* (ver figura 33), durante los seis meses almacenados en nitrógeno líquido y congelador, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 64% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 36 de 45 y el del congelador 20 de 45 con un porcentaje final de 36%.

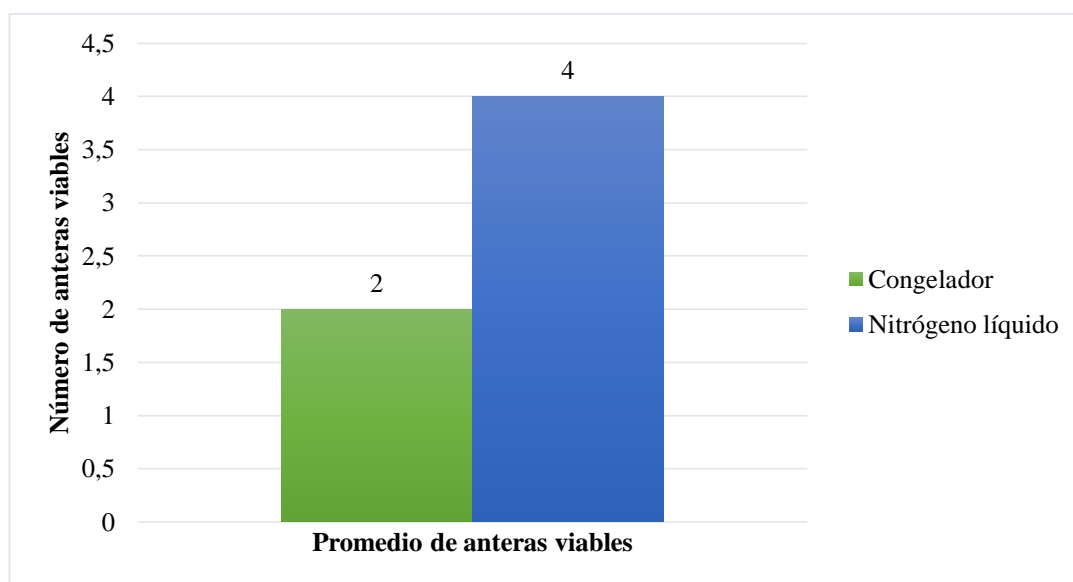


Figura 34. Promedio viabilidad *Brugmansia arborea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras de la especie *Brugmansia arborea* (ver figura 34), de la suma total mencionada anteriormente, durante los seis meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 67% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 4 sobre 5 y el del congelador es de 2 sobre 5 con un porcentaje final de 33%.

Tabla 17

Viabilidad Brugmansia sanguínea

Especie	Mes	Unidades de flores conservadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad (Horas)	Congelador			Nitrógeno líquido		
					Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia sanguínea</i>	2	3	5	48	4	1	0	5	0	0
				65	4	1	0	5	1	0
				136	3	0	2	4	0	1
	4	3	5	48	4	1	0	5	0	0
				65	3	2	0	5	0	0
				136	4	0	1	4	0	1
	6	3	5	48	4	1	0	5	0	0
				65	4	1	0	5	0	0
				136	2	3	0	4	0	1
SUMA					32	10	3	42	1	3
PROMEDIO					4	1	0	5	0	0

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente tabla se puede observar la viabilidad de la especie *Brugmansia sanguínea* con la técnica del congelador y nitrógeno líquido respectivamente, realizada por los seis meses, para la respectiva evaluación se realizó el cultivo para el crecimiento del tubo polínico y las placas permanecieron durante 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad después de sembrar las anteras con polen en el cultivo, para observar el crecimiento del tubo polínico en las placas se realizó tres evaluaciones en diferentes intervalos, el primero se realizó a las 48 horas, el segundo a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente, los criterios que se tomó en cuenta al momento de evaluar la viabilidad fue: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas (ver tabla 17).

Durante los seis meses el porcentaje de anteras no viables en el congelador fue mayor que en el nitrógeno líquido ya que el primero posee un 91% y el segundo un 9% respectivamente, siendo el nitrógeno líquido la técnica más adecuada para almacenamiento de la especie mencionada anteriormente, también se pudo evidenciar que el tiempo óptimo para realizar la reproducción artificial de la especie *Brugmansia sanguínea* es en el transcurso de las 48 horas a las 120 horas aproximadamente posteriores de haber sometido a las cajas Petri a la exposición de luz y luego oscuridad, ya que desde las 136 horas en adelante el proceso de contaminación de las anteras se acelera y el polen ya no resulta viable.

En relación con la primera especie analizada se puede concluir que la especie sanguínea posee un bajo porcentaje de contaminación lo cual favorece al crecimiento del tubo polínico

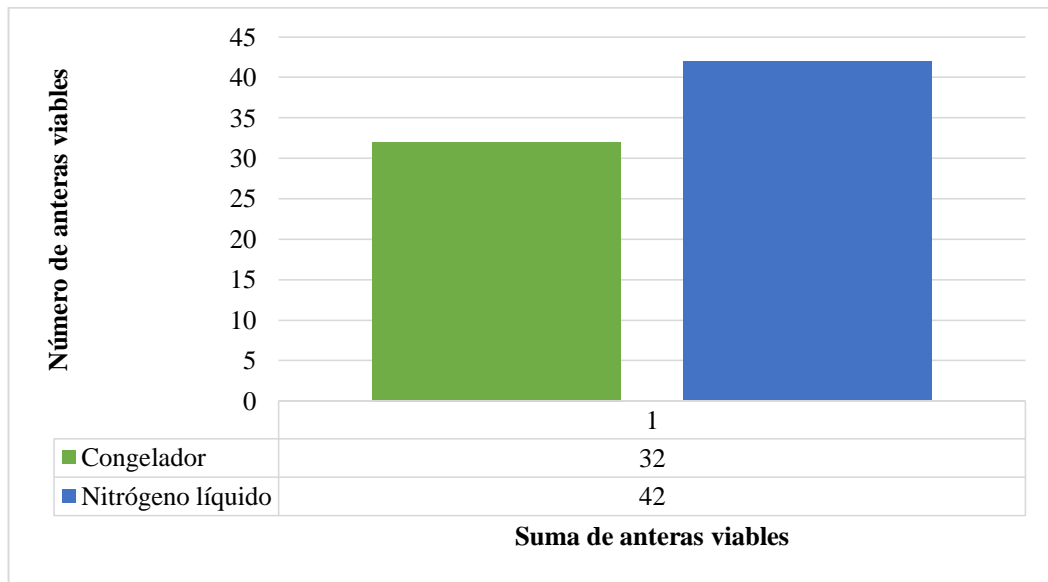


Figura 35. Suma viabilidad de *Brugmansia sanguinea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables de la especie *Brugmansia sanguinea* (ver figura 35), durante los seis meses almacenados en nitrógeno líquido y congelador, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 57% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 42 de 45 y el del congelador 32 de 45 con un porcentaje final de 43%.

En relación con la primera especie analizada se puede concluir que la especie sanguínea posee un alto porcentaje de viabilidad en nitrógeno líquido incluso mayor que la especie arbórea.

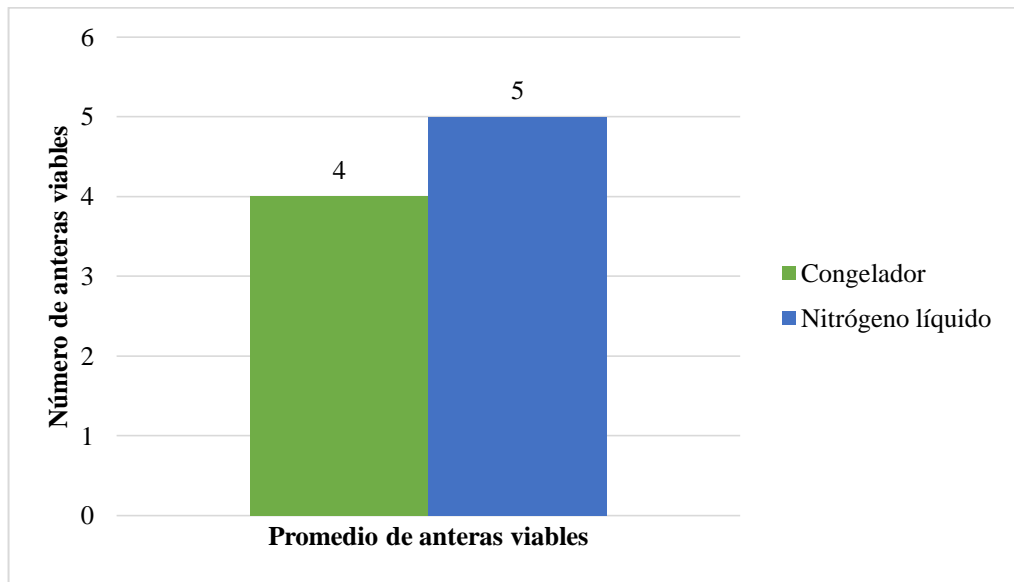


Figura 36. Promedio viabilidad de *Brugmansia sanguinea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras de la especie *Brugmansia sanguinea* (ver figura 36), de la suma total mencionada anteriormente, durante los seis meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 56% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 5 sobre 5 y el del congelador es de 4 sobre 5 con un porcentaje final de 44%.

De acuerdo al promedio de la primera especie evaluada indica, que la especie sanguinea posee un mayor porcentaje de viabilidad en nitrógeno líquido ya que el promedio fue de 5 sobre 5 y la arborea es de 4 sobre 5.

Tabla 18

Viabilidad Brugmansia aurea

Especie	Mes	Unidades de flores conservadas	Anteras encapsuladas	Viabilidad(Horas)	Congelador			Nitrógeno líquido		
					Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas	Anteras viables	Anteras no viables	Anteras contaminadas
<i>Brugmansia aurea</i>	2	3	5	48	1	4	0	2	3	0
				65	2	3	0	3	2	0
				136	2	1	2	3	0	2
	4	3	5	48	0	5	0	1	4	0
				65	1	4	0	3	2	0
				136	2	3	0	3	0	2
	6	3	5	48	1	4	0	2	3	0
				65	3	1	1	3	2	0
				136	0	0	5	3	1	1
SUMA					12	25	8	23	17	5
PROMEDIO					1	3	1	3	2	1

Nota: Datos obtenidos en laboratorio de viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora).

En la presente tabla se puede observar la viabilidad de la especie *Brugmansia aurea* con la técnica del congelador y nitrógeno líquido respectivamente, realizada por los seis meses, para la respectiva evaluación se realizó el cultivo para el crecimiento del tubo polínico y las placas permanecieron durante 24 horas en luz y 24 horas en oscuridad después de sembrar las anteras con polen en el cultivo, para observar el crecimiento del tubo polínico en las placas se realizó tres evaluaciones en diferentes intervalos, el primero se realizó a las 48 horas, el segundo a las 65 horas y el último a las 136 horas respectivamente, los criterios que se tomó en cuenta al momento de evaluar la viabilidad fue: anteras viables, anteras no viables y anteras contaminadas (ver tabla 18).

Durante los seis meses el porcentaje de anteras no viables en el congelador fue mayor que en el nitrógeno líquido ya que el primero posee un 60% y el segundo un 40% respectivamente, siendo el nitrógeno líquido la técnica más adecuada para almacenamiento de la especie mencionada anteriormente, también se pudo evidenciar que el tiempo óptimo para realizar la reproducción artificial de la especie *Brugmansia aurea* es en el transcurso de las 48 horas a las 120 horas aproximadamente posteriores de haber sometido a las cajas Petri a la exposición de luz y luego oscuridad, ya que desde las 136 horas en adelante el proceso de contaminación de las anteras se acelera y el polen ya no resulta viable.

En relación con la primera y segunda especie analizada se puede concluir que la especie *Brugmansia aurea* posee un alto porcentaje de contaminación a comparación de las dos especies analizadas anteriormente, es decir la especie *Brugmansia aurea* es más vulnerable y propensa a la contaminación por lo que requerirá mayor cuidado para que el polen se mantenga viable.

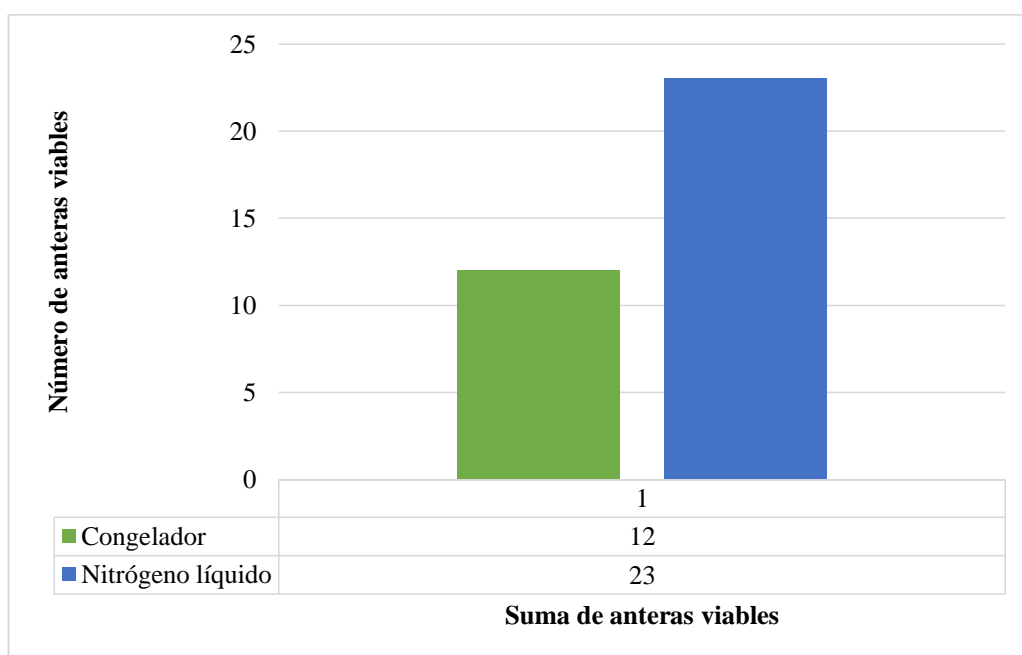


Figura 377. Suma viabilidad de *Brugmansia aurea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el número de la suma total de las anteras viables de la especie *Brugmansia aurea* (ver figura 37), durante los seis meses almacenados en nitrógeno líquido y congelador, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 66% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que la suma total de anteras viables del nitrógeno líquido son 23 de 45 y el del congelador 12 de 45 con un porcentaje final de 34%.

En relación con la primera y segunda especie analizadas anteriormente, se puede concluir que la especie *Brugmansia aurea*, posee un menor porcentaje de viabilidad a comparación de las otras especies mencionadas.

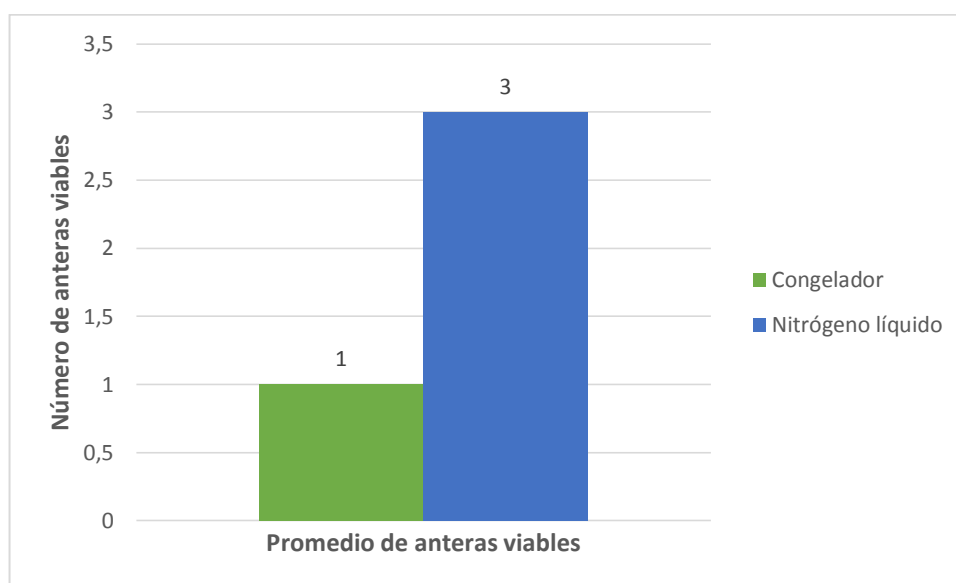


Figura 388. Promedio viabilidad de *Brugmansia aurea* por Romo K.P., 2018 (La Autora).

El presente gráfico se puede observar el promedio de la viabilidad de las anteras de la especie *Brugmansia aurea* (ver figura 38), de la suma total mencionada anteriormente, durante los seis meses, el cual indica que la técnica de nitrógeno líquido ha sido la más efectiva en el transcurso de este tiempo ya que el crecimiento de tubo polínico a través del polen ha sido un 75% mayor; que en la técnica del congelador, por lo que el promedio de anteras viables del nitrógeno líquido es de 3 sobre 5 y el del congelador es de 1 sobre 5 con un porcentaje final de 25%.

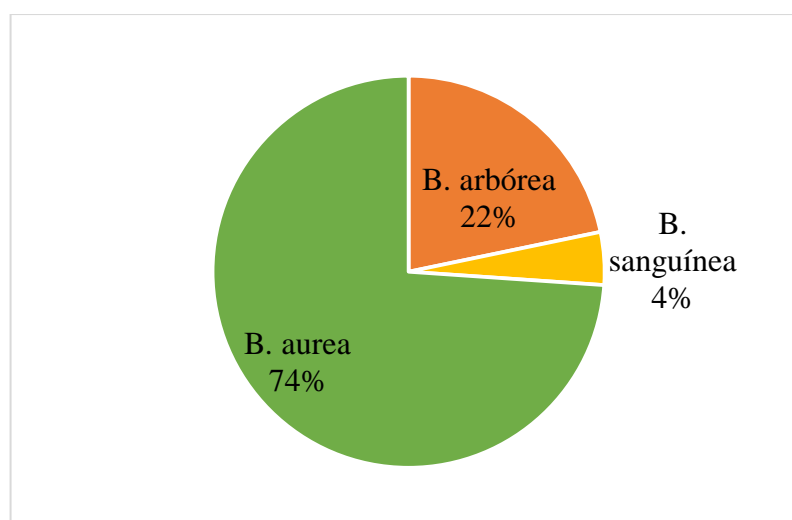


Figura 399. Anteras no viables en Nitrógeno líquido, Por Romo K.P, 2018 (La Autora).

Después de analizar las tres especies podemos concluir que la especie que presenta menor porcentaje de contaminación en nitrógeno líquido es la sanguínea es decir tiene mayor tolerancia a la contaminación por lo tanto su capacidad de viabilidad va a ser mayor, ya que su porcentaje de contaminación alcanza al 4%, arbórea el 22% y aurea el 74% (ver figura 39).

De acuerdo al promedio de la primera y segunda especie evaluada indica, que la especie aurea posee un menor porcentaje de viabilidad en nitrógeno líquido a comparación de las otras especies, ya que el promedio fue de 3 sobre 5, la arbórea es de 4 sobre 5 y la sanguínea es de 5 sobre 5.

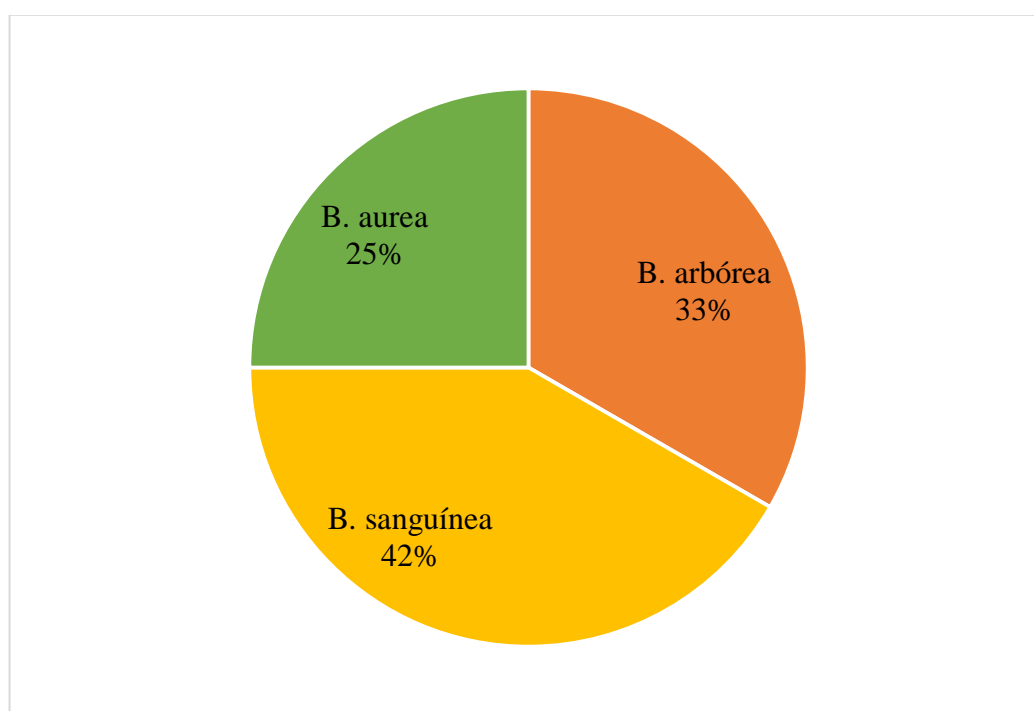


Figura 40. Anteras viables en Nitrógeno líquido por Romo K.P., 2018 (La Autora).

Después de analizar las tres especies podemos concluir que la especie que presenta mayor porcentaje de viabilidad en nitrógeno líquido es la sanguínea es decir el polen que contiene las anteras evaluadas tienen mayor capacidad de crecimiento, ya que su porcentaje de viabilidad alcanza al 42%, arbórea el 33% y aurea el 25 % (ver figura 40).

6.2.5. Comparación de los métodos de conservación de polen

En el presente estudio se compararon dos técnicas de conservación de polen, las cuales fueron sometidas a diferentes temperaturas: nitrógeno líquido (-196°C) y congelador (-10°C), además se comparó las tres especies estudiadas y se eligió la especie con mayor adaptabilidad para el tipo de conservación realizado. Como variable se tomó en cuenta el número de anteras viables, con los datos respectivos se procedió a realizar la Prueba no paramétrica de Wilconxon Rank Sum mediante el software Statistix 10, el cual permitió comparar si existe diferencia significativa entre las dos técnicas evaluadas durante los seis meses, siendo la mejor técnica de almacenamiento con nitrógeno líquido.

6.2.5.1. Número de anteras viables

Tabla 19

Promedio de las anteras viables a los seis meses

TRATAMIENTOS	ANTERAS VIABLES (Promedio sobre 5)
Congelador (2° mes)	2
Congelador (4° mes)	2
Congelador (6° mes)	2
Nitrógeno Líquido (2° mes)	4
Nitrógeno Líquido (4° mes)	4
Nitrógeno Líquido (6° mes)	4

Nota: Datos obtenidos de la viabilidad del polen por Romo, K.P., 2018 (La Autora)

Prueba de la suma de rangos de Wilconxon

A través de la prueba no paramétrica de Wilconxon se pudo evidenciar mediante el análisis de los dos tratamientos que existe un valor p significativo de 0,1, además de dos grupos representativos a y b, el cual el grupo a representa la técnica con nitrógeno líquido que arrojó un rango promedio de 4 siendo el doble a comparación del grupo b que

corresponde a la técnica con el congelador y el rango promedio fue de 2 (ver tabla 19). De acuerdo a la prueba realizada se pudo concluir que la técnica con nitrógeno líquido realizada por seis meses es la más adecuada, siendo el mejor tratamiento ya que el rango de viabilidad fue mayor que el grupo b (ver figura 20)

Tabla 20

Número de anteras viables mediante la prueba de Wilconxon

Tratamiento	Suma de rangos	Rango promedio	Grupos representativos
Nitrógeno Líquido (T1)	12	4	A
Congelador (T2)	6	2	B

Nota: Datos obtenidos del programa de analisis estadístico Statistix por Romo K.P., 2018 (La Autora)

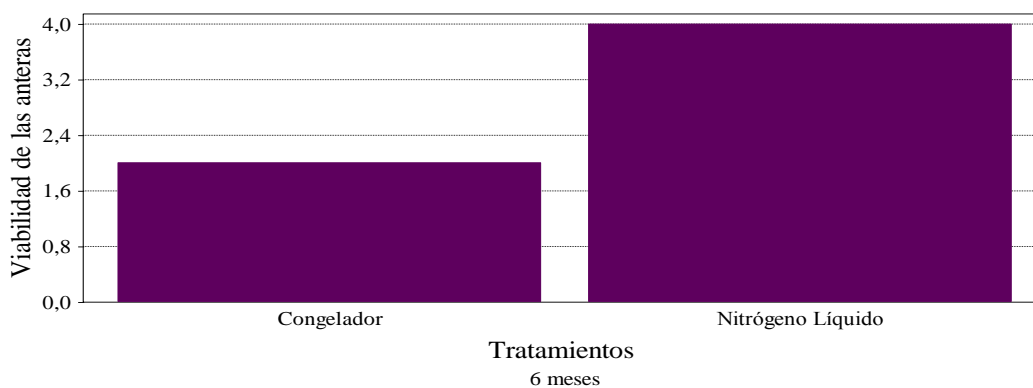


Figura 41. Representación gráfica de los promedios por tratamiento con la Prueba Wilconxon por Romo K.P., 2018 (La Autora).

6.2.5.2. Número de anteras viables de la especie *Brugmansia arbórea*

Tabla 21

Promedio de las anteras viables de la especie Brugmansia arbórea a los seis meses

TRATAMIENTOS	ANTERAS VIABLES: <i>Brugmansia arbórea</i> (Promedio sobre 5)
Congelador (2° mes)	2
Congelador (4° mes)	2
Congelador (6° mes)	2
Nitrógeno Líquido (2° mes)	4
Nitrógeno Líquido (4° mes)	4
Nitrógeno Líquido (6° mes)	4

Nota: Datos obtenidos de la viabilidad del polen por Romo, K.P 2018 (La Autora)

Prueba de la suma de rangos de Wilconxon

A través de la prueba no paramétrica de Wilconxon se pudo evidenciar mediante el análisis de los dos tratamientos que existe un valor p significativo de 0,1, además de dos grupos representativos a y b, el cual el grupo a representa la técnica con nitrógeno líquido que arrojó un rango promedio de 4 siendo el doble a comparación del grupo b que corresponde a la técnica con el congelador y el rango promedio fue de 2 (ver tabla 21). De acuerdo a la prueba realizada se pudo concluir que la técnica con nitrógeno líquido realizada por seis meses es la más adecuada, siendo el mejor tratamiento ya que el rango de viabilidad fue mayor que el grupo b (ver tabla 22).

Tabla 22

Número de anteras viables de la especie Brugmansia arbórea mediante la prueba de Wilconxon

Tratamiento	Suma de rangos	Rango promedio	Grupos representativos
Nitrógeno Líquido (T1)	12	4	a
Congelador (T2)	6	2	b

Nota: Datos obtenidos del programa de analisis estadístico Statistix por Romo, K.P., 2018 (La Autora)

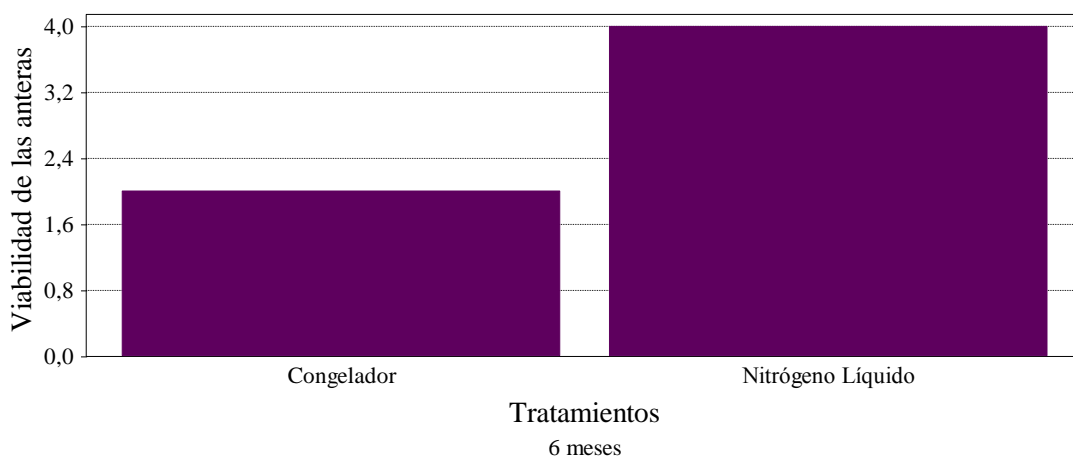


Figura 42. Representación gráfica de los promedios de la especie *Brugmansia arbórea* por tratamiento con la Prueba Wilconxon por Romo K.P., 2018 (La Autora).

6.2.5.3. Número de anteras viables de la especie *Brugmansia sanguínea*

Tabla 23

Promedio de las anteras viables de la especie Brugmansia sanguínea a los seis meses

TRATAMIENTOS	ANTERAS VIABLES: <i>Brugmansia sanguínea</i> (Promedio sobre 5)
Congelador (2° mes)	4
Congelador (4° mes)	4
Congelador (6° mes)	3
Nitrógeno Líquido (2° mes)	5
Nitrógeno Líquido (4° mes)	5
Nitrógeno Líquido (6° mes)	5

Nota: Datos obtenidos de la viabilidad del polen por Romo, K.P 2018 (La Autora)

Prueba de la suma de rangos de Wilconxon

A través de la prueba no paramétrica de Wilconxon se pudo evidenciar mediante el análisis de los dos tratamientos que existe un valor p significativo de 0,1, además de dos grupos representativos a y b, el cual el grupo a representa la técnica con nitrógeno líquido que arrojó un rango promedio de 5 siendo mayor a comparación del grupo b que corresponde a la técnica con el congelador y el rango promedio fue de 4 (ver tabla 23). De acuerdo a la prueba realizada se pudo concluir que la técnica con nitrógeno líquido realizada por seis meses es la más adecuada, siendo el mejor tratamiento ya que el rango de viabilidad fue mayor que el grupo b (ver tabla 24).

Tabla 24

Número de anteras viables de la especie Brugmansia sanguínea mediante la prueba de Wilconxon

Tratamiento	Suma de rangos	Rango promedio	Grupos representativos
Nitrógeno Líquido (T1)	15	5	a
Congelador (T2)	11	4	b

Nota: Datos obtenidos del programa de analisis estadístico Statistix por Romo K.P., 2018 (La Autora)

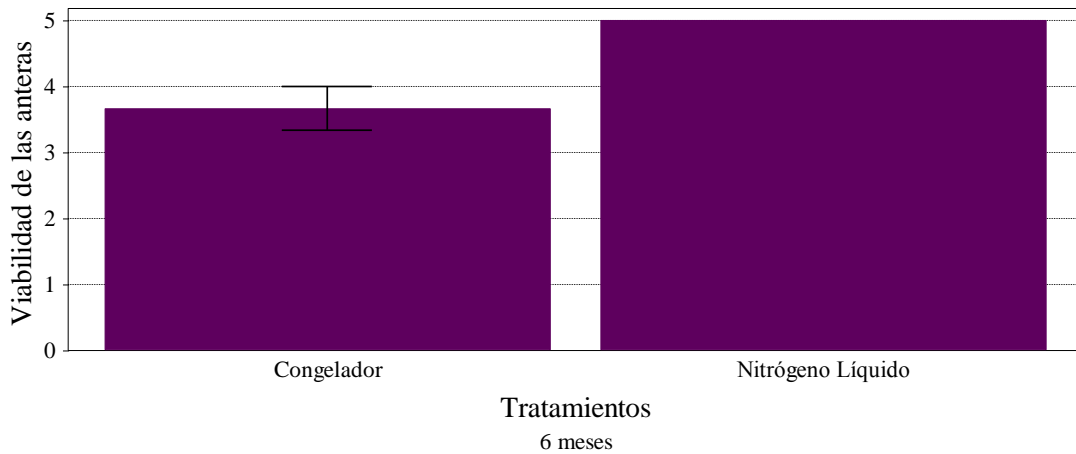


Figura 43. Representación gráfica de los promedios de la especie *Brugmansia sanguínea* por tratamiento con la Prueba Wilconxon por Romo K.P., 2018 (La Autora).

6.2.5.4. Número de anteras viables de la especie *Brugmansia aurea*

Tabla 25

Promedio de las anteras viables de la especie *Brugmansia aurea* a los seis meses

TRATAMIENTOS	ANTERAS VIABLES: <i>Brugmansia aurea</i> (Promedio sobre 5)
Congelador (2° mes)	2
Congelador (4° mes)	1
Congelador (6° mes)	1
Nitrógeno Líquido (2° mes)	3
Nitrógeno Líquido (4° mes)	2
Nitrógeno Líquido (6° mes)	3

Nota: Datos obtenidos de la viabilidad del polen por Romo K.P., 2018 (La Autora)

Prueba de la suma de rangos de Wilconxon

A través de la prueba no paramétrica de Wilconxon se pudo evidenciar mediante el análisis de los dos tratamientos que existe un valor p significativo de 0,2, además de dos grupos representativos a y b, el cual el grupo a representa la técnica con nitrógeno líquido que arrojó un rango promedio de 3 siendo mayor a comparación del grupo b que corresponde a la técnica con el congelador y el rango promedio fue de 2 (ver tabla 25). De acuerdo a la prueba realizada se pudo concluir que la técnica con nitrógeno líquido realizada por seis meses es la más adecuada, siendo el mejor tratamiento ya que el rango de viabilidad fue mayor que el grupo b (ver tabla 26).

Tabla 26

Número de anteras viables de la especie Brugmansia aurea mediante la prueba de Wilconxon

Tratamiento	Suma de rangos	Rango promedio	Grupos representativos
Nitrógeno Líquido (T1)	8	3	a
Congelador (T2)	4	2	b

Nota: Datos obtenidos del programa de analisis estadístico Statistix por Romo, K.P 2018 (La Autora)

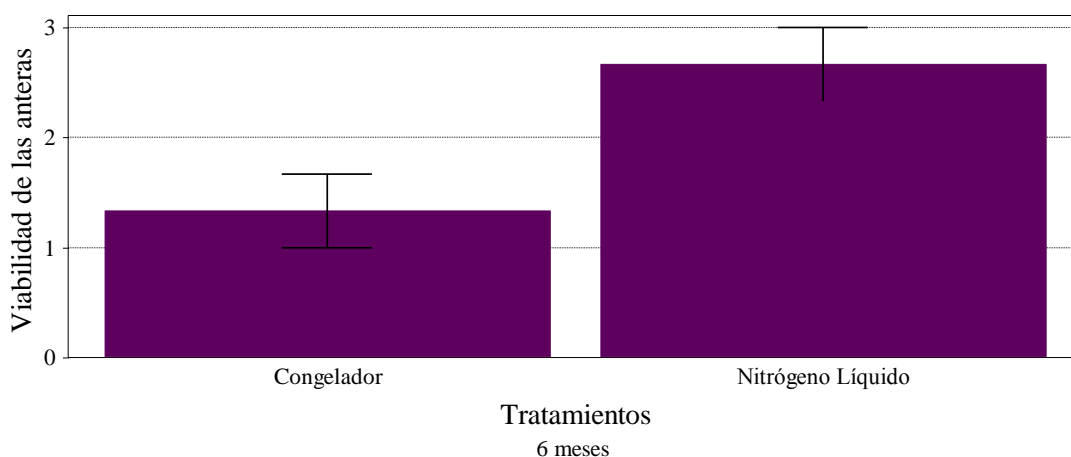


Figura 44. Representación gráfica de los promedios de la especie Brugmansia aurea por tratamiento con la Prueba Wilconxon por Romo K.P., 2018 (La Autora).

6.3.Resultados de socialización

Se realizó la socialización de los resultados en las instalaciones del GAD Parroquial de Angochagua, con ayuda de material audiovisual (diapositivas) que permitió aplicar la técnica de grupos focales y de esta manera, asegurar que exista la interacción entre el moderador y los participantes, se contó con la presencia de técnicos del GAD de Ibarra, Gobierno Provincial de Imbabura, GAD Parroquial de Angochagua, guardabosques de las diferentes comunidades que conforman el mismo GAD y estudiantes de la PUCE-SI, fueron quince los asistentes que a su vez, se logró discutir el tema de investigación, por medio de experiencias personales, detección de necesidades en la zona, logrando pequeños

debates que estimuló la participación de los asistentes exponiendo los diferentes puntos de vista, además se evaluó la exposición realizada a través de una encuesta que posee una serie de preguntas que permitió examinar, la organización y ejecución del evento por parte del expositor.

Los parámetros para realizar la calificación fueron de uno a cinco, siendo uno la calificación mínima y cinco la más alta, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Organización del evento de socialización

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

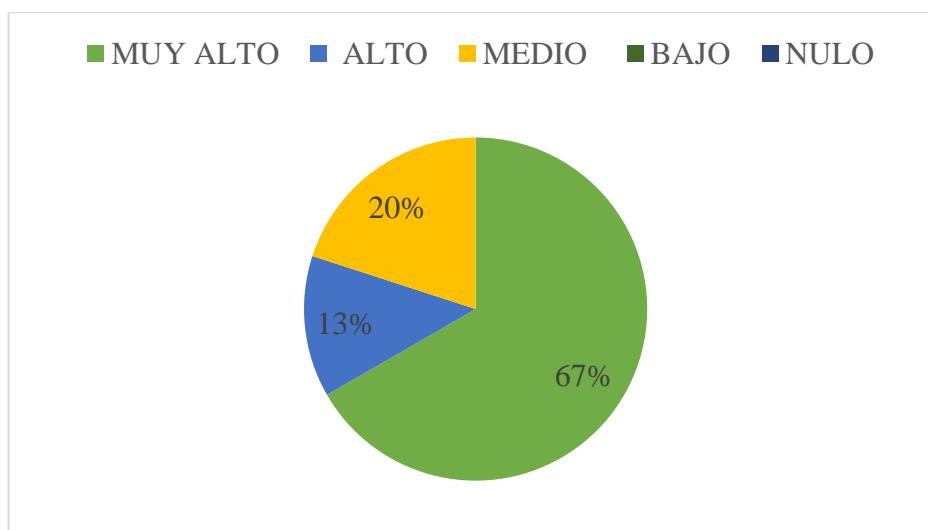


Figura 45. Comodidad de la sala y organización del evento de socialización por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 45) se puede apreciar que diez personas representan el 67% y se encuentran en el rango muy alto, un 20% medio que representan tres personas y un 13% como alto con dos personas, es decir calificaron a la sala donde se desarrolló el evento como cómoda en su mayoría.

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

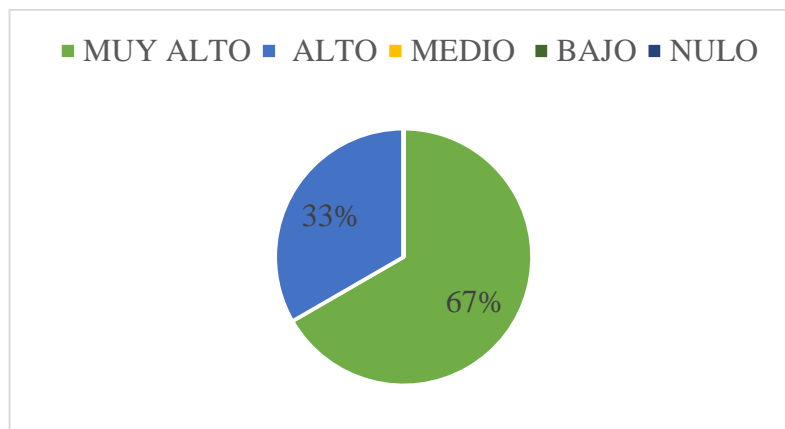


Figura 46. Material audiovisual utilizado y organización del evento de socialización por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 46) se puede considerar que diez personas representan el 67% y se encuentran en el rango muy alto y un 33% en un rango de alto que representan cinco personas, es decir calificaron como adecuado al material audiovisual utilizado para la presentación.

Ejecución del evento por parte del expositor

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

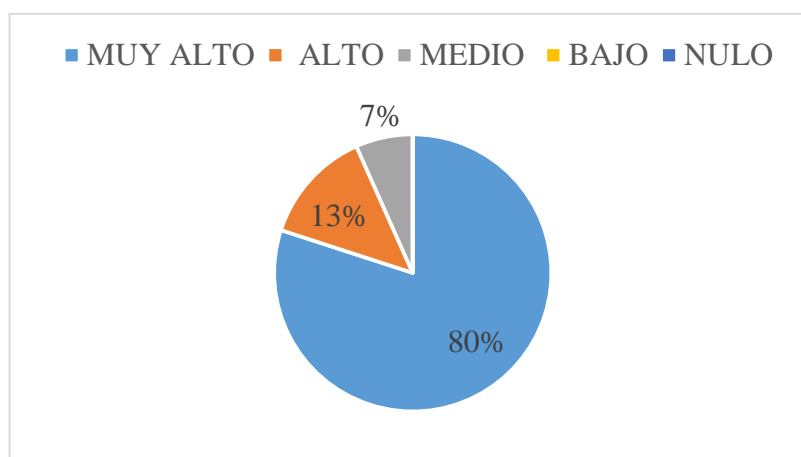


Figura 47. Dominio del tema. Ejecución del evento por parte del expositor por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 47) se puede considerar que doce personas representan el 80% y se encuentran en el rango muy alto, un 13% en un rango de alto que representan dos personas y un 7% como medio con una persona, es decir el expositor domina el tema de acuerdo a las calificaciones.

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

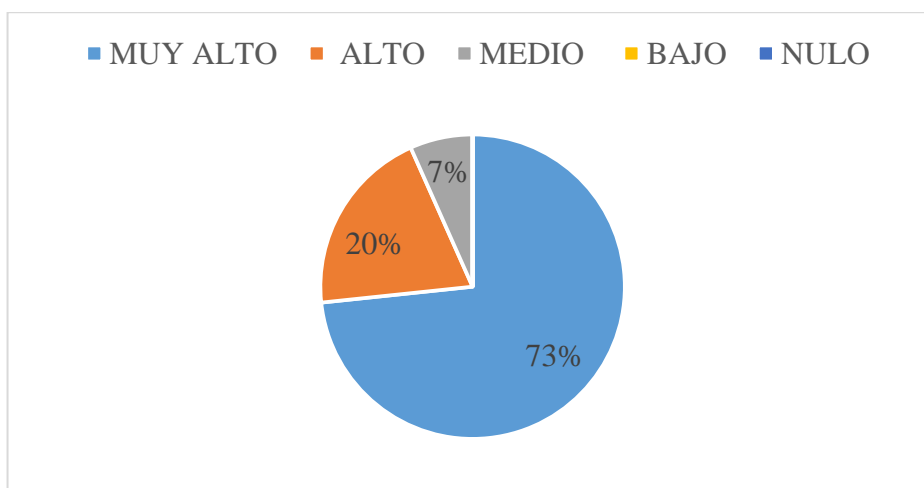


Figura 48. Manejo de auditorio. Ejecución del evento por parte del expositor por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 48) se puede considerar que once personas representan el 73% y se encuentran en el rango muy alto, un 20% en un rango de alto que representan tres personas y un 7% como medio con una persona, es decir el expositor tuvo un adecuado manejo del auditorio de acuerdo a las calificaciones.

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

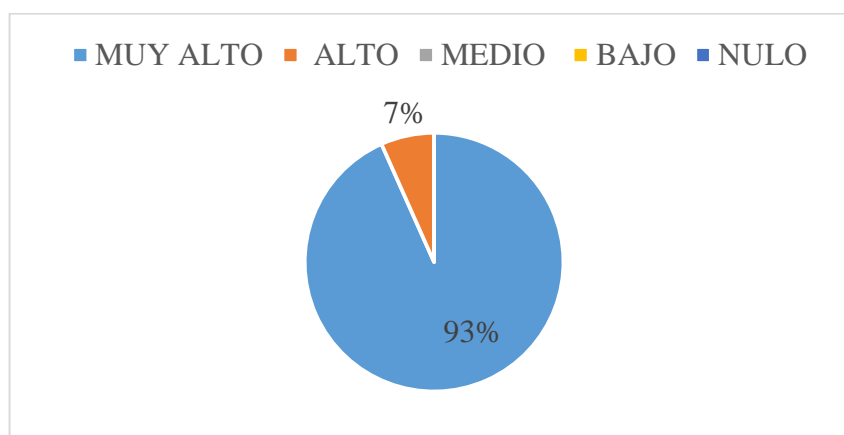


Figura 49. Facilidad de expresión. Ejecución del evento por parte del expositor por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 49) se puede considerar que catorce personas representan el 93% y se encuentran en el rango muy alto y un 7% en un rango de alto que representan una persona, es decir el expositor demostró facilidad de expresión de acuerdo a las calificaciones.

Medición de impacto de la investigación

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

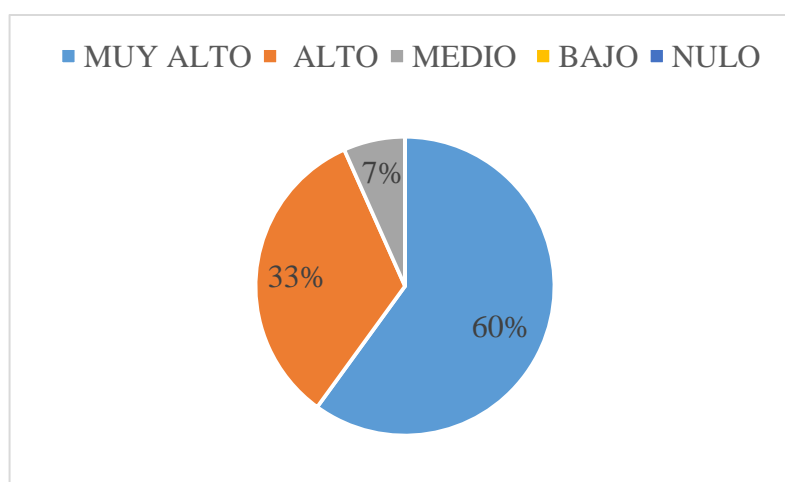


Figura 50. Relevancia de la investigación. Medición de impacto de la investigación por Romo K.P, 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 50) se puede considerar que nueve personas representan el 60% y se encuentran en el rango muy alto, un 33% en un rango de alto que representan cinco personas y un 7% como medio con una persona, es decir el tema investigado posee relevancia para algún sector de acuerdo a las calificaciones.

Pregunta 7. ¿Considera usted que esta investigación posee perspectivas para estudios complementarios o posteriores?

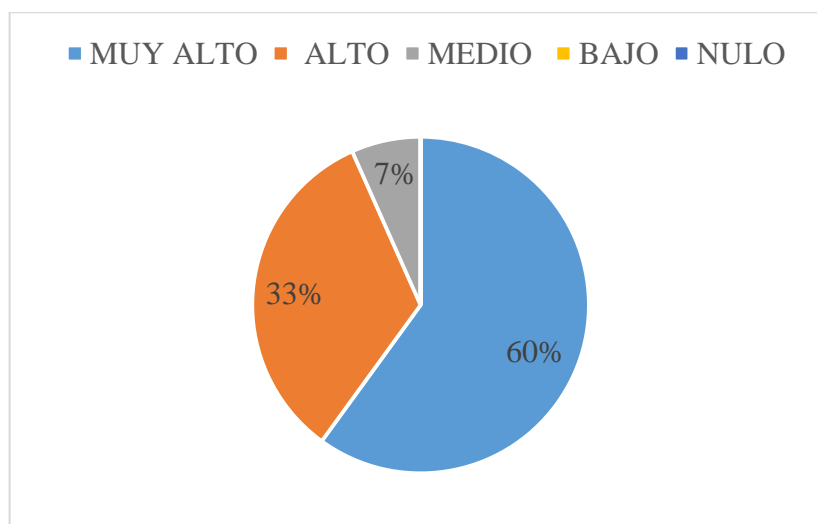


Figura 51. Perspectiva de estudios complementarios. Medición de impacto de la investigación por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 51) se puede considerar que nueve personas representan el 60% y se encuentran en el rango muy alto, un 33% en un rango de alto que representan cinco personas y un 7% como medio con una persona, es decir la investigación posee perspectivas para estudios complementarios, de acuerdo a las calificaciones.

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

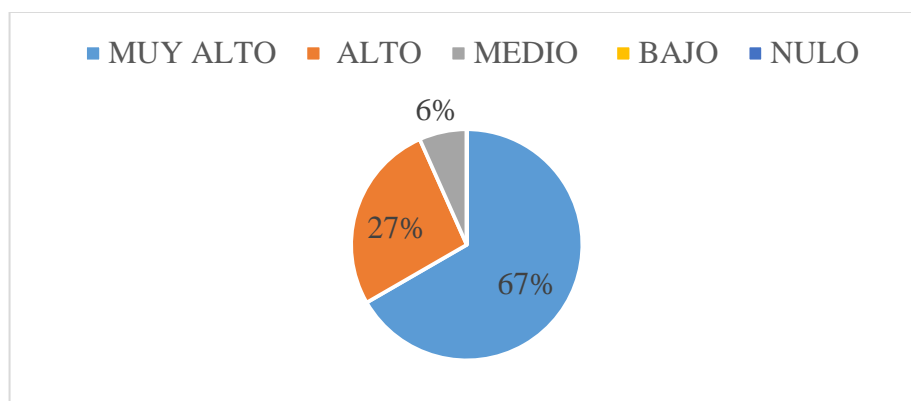


Figura 52. Beneficios de la investigación hacia algún sector. Medición de impacto de la investigación por Romo K.P., 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 52) se puede considerar que diez personas representan el 67% y se encuentran en el rango muy alto, un 27% en un rango de alto que representan cuatro personas y un 6% como medio con una persona, es decir el tema investigado genera actualmente o a futuro un beneficio concreto para alguna organización de acuerdo a las calificaciones.

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

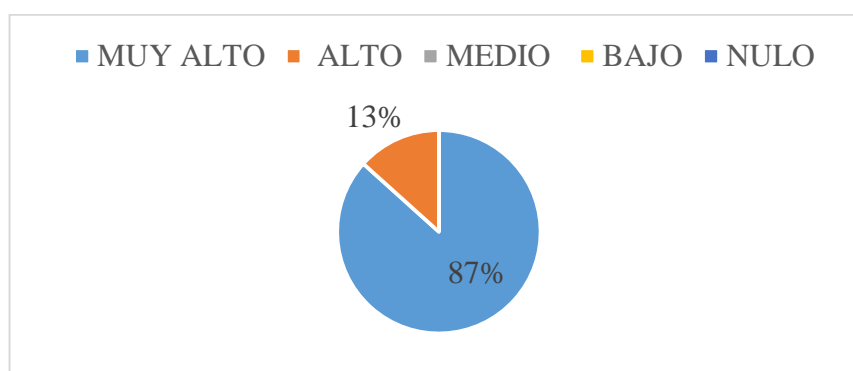


Figura 53. Cumplimiento de objetivos. Medición de impacto de la investigación. Por Romo K.P, 2018 (La Autora).

De las quince personas encuestadas, (ver figura 53) se puede considerar que trece personas representan el 87% y se encuentran en el rango muy alto y un 13% en un rango de alto que representan dos personas, es decir se considera que el tema investigado cumple con los objetivos planteados, de acuerdo a las calificaciones.

7. Conclusiones

- De acuerdo a los puntos muestreados por cada comunidad se pudo concluir que la especie con mayor remanentes es la sanguínea donde se registró 23 individuos muestreados, es decir la especie sanguínea sobresale con un 66% en relación a la arbórea que posee un 28% y la aurea con un 6%.
- Después de haber realizado el análisis morfológico de cada especie se puede concluir que la especie aurea posee el mayor valor P/E con 1,19 y el menor valor se confiere a la especie sanguínea con P/E 1,04, estos datos pueden atribuir a la capacidad de resistencia que posee cada una de las especies.
- En cuanto a las pruebas de viabilidad, comparando las dos técnicas, la técnica de almacenamiento con nitrógeno líquido es la más adecuada ya que presentó un mayor porcentaje de crecimiento de tubo polínico donde el 62% representa la viabilidad utilizando, nitrógeno líquido y el 38% representa la viabilidad utilizando el congelador durante los seis meses respectivamente
- La especie sanguínea presenta mayor capacidad de viabilidad en comparación de la especie arbórea y aurea, ya que su porcentaje de viabilidad alcanza al 42% en la arbórea alcanza al 33% y para la aurea un 25%
- En el estudio realizado la especie *Brugmansia sanguínea* demostró sobresalir en capacidad de adaptación en comparación a las otras dos especies evaluadas, por lo que se puede inferir que la especie más adecuada para realizar pruebas de laboratorio como de viabilidad y estudios posteriores.
- La especie *Brugmansia aurea* demostró ser una especie delicada en comparación de las dos especies evaluadas, es decir, requiere mayor cuidado para crioconservar y su bajo porcentaje de viabilidad hace que se incremente su vulnerabilidad por lo que está expuesta a la desaparición con mayor frecuencia que las demás.
- Para transportar el polen viable y poder realizar la reproducción artificial exitosamente, se determinó un tiempo específico de 48 a 120 horas después de haber finalizado el protocolo de crioconservación, el cual asegurará, que la reproducción sea óptima, transcurrido este tiempo desde las 136 horas en adelante

la reproducción artificial se empieza a dificultar por lo que el proceso de contaminación de las anteras se acelera y el polen ya no resultaría viable.

8. Recomendaciones

- Se recomienda seguir con el estudio de la crioconservación en el género *Brugmansia* prolongando el tiempo de almacenamiento para establecer una línea de tiempo que permita conocer nuevos resultados.
- Debería ampliarse el estudio de la palinoteca referencial con otras familias en el herbario de la PUCE-SI para conservar, conocer e identificar diferentes especies polínicas.
- Para garantizar la supervivencia de estas especies se debería incentivar la rehabilitación de las tradiciones culturales en las que se utiliza la especie.
- Se recomienda realizar más estudios de conservación para mitigar la desaparición de la especie *Brugmansia aurea* en la localidad, utilizando la especie *Brugmansia sanguínea* ya que presentó mayor capacidad de resistencia y adaptabilidad para fines investigativos.

9. Referencias Bibliográficas

- Aguilar Rojas, G. (2005). *En busca de una distribución equitativa de los beneficios de la biodiversidad y el conocimiento indígena*. San José: UICN Mesoamérica.
- Alché Ramírez, J. (2011). *Hablando de sexo en plantas*. Granada: Estación Experimental del Zaidín. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
- Andrade Olalla, A. (2015). *Morfología de polen y esporas*. Madrid: Universidad de Alcalá (UAH) .
- Andrango, T. (2013). “*Manual de costos agrícolas en idioma nativo para las comunidades rurales del cantón cotacachi*”. Ibarra: UTN.
- Ara, H., Jaiswal, U., y Jauswal, V. (2000). Synthetic seed: Prospects and limitations. *Current Science*, 1438-1444.
- Araméndiz Tatis, H., Cardona Ayala, C., y Lugo Torres, E. A. (2012). Germinación del Polen de Berenjena (*Solanum melongena* L.) en Condiciones in vitro. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* , 65(2):.
- Arias, M. L., y Medina Cano, C. I. (2009). Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles . *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria* , 10(1), 33-42.
- Armijos, C., Cota, L., y Gonzales, S. (2014). Traditional medicine applied by the Saraguro yachakkuna: a preliminary approach to the use of sacred and psychoactive plant species in the southern region of Ecuador. *Ethnobiol Ethnomed*, 10:26.
- Ávila, E. (2009). *Aprovechamiento de la Scoparia dulcis (Scrophulariaceae), Oenocarpus batagua (Arecaceae) y Solanum brugmansia (Solanaceae) en la producción de una pomada antiinflamatoria*. Quito: Universidad Politécnica Salesiana de Quito.
- Ayala Pineda, A. V. (2012). “*Estudio de factibilidad para la creación de un complejo turístico en la comunidad de Zuleta, parroquia de Angochagua, ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura*. Ibarra: Universidad Técnica Del Norte .

- Balslev, H., Navarrete, H., y Mací, M. J. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Quito: Herbario QCA y Herbario AAU. Quito y Aarhus.
- Bedoya, J. G., Bernal, M. E., y Castaño, É. (2013). Descripción de relaciones ecológicas de brugmansia aurea con plantas, insectos y hongos en manizales y villama . *Boletín científico centro de museos museo de historian*, 13 (2): 26 - 39.
- Belmonte, J. (2003). *Técnica para captar e identificar los pólenes*. Zaragoza: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Beltrán, C. R., y Pozo, D. G. (2012). *Zonificación ecológica-económica y propuestas de gestión integral de los recursos naturales del cantón Ibarra*. Ibarra: UTN.
- Benson, E., Johnston, J., Muthusamy, J., y Harding, K. (2006). Physical and engineering perspectives of in vitro plant cryopreservation. In: Gupta, DS; Ibaraki,. *Plant Tissue Culture Engineering*. Springer. Holanda., 441-476.
- Blanco Castro, E. (2015). *Etnobotánica abulense. Las plantas en la cultura tradicional de Ávila*. Ibérica: Jolube Consultor Botánico y Editor.
- Boi, M. (2012). *The ethnocultural significance for the use of plants in ancient funerary rituals and its possible implications with pollens found on the Shroud of Turin*. Obtenido de www.shroud.com
- Bonilla, M. (2012). *La polinización como servicio ecosistémico. En: Iniciativa colombiana de polinizadores (ICPA), Capítulo I: abejas*. Bogotá, Colombia.: Universidad Nacional de Colombia Instituto Humboldt, 1-103.
- Bradbear, N. (2005). *La apicultura y los medios de vida sostenibles*. Roma: FAO.
- Caballero, M. L., Rivas, M. I., y Aguilera, G. L. (2009). Hábitos alimentarios de Anoura geoffroyi (chiroptera: phyllostomidae) en Ixtapan del oro, estado de México. *Acta Zoológica Mexicana*, 25(1): 161-175.

- Castillo, O. (2013). *Inventario de especies arbóreas del bosque nativo san José de las Palmas, parroquia san Pablo, cantón san Miguel, provincia de Bolívar*. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar .
- Cercado, A. M. (2014). “*Estudio de factibilidad para la creación de una empresa de turismo comunitario en la comunidad la Rinconada, cantón Ibarra, provincia de Imbabura*”. Ibarra: Universidad Técnica Del Norte.
- Contreras, C. (2015). Redes de niebla para captura de aves y murciélago. *Monitoreo biológico*, 3-5.
- D' Souza, L. (1972). Staining pollen tubes in the styles of cereals with cotton blue fixation by ethenol-lactic acid for an enhanced differentiation. *Stain Technology*, 47: 107-108.
- Díaz, P., y Pérez, M. (2011). *La Palinoteca del Herbario CDS e inicio de estudios Polínicos en las Islas Galápagos*. Ecuador. Galápagos: Departamento de Botánica. Fundación Charles Darwin, Ecuador.
- EFSA. (2012). Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal European Food Safety Authority*, 10 (5): 2663.
- Engelmann F, T. H. (2000). *Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application*. Tsukuba, Japón/IPGRI, Roma: Jircas.
- Erdtman, G. (1969). “*Handbook of Palynology. An introduction to the study of pollen grains and spores*”. Munksgaard: Copenhagen.
- Fabre, J., y Dereuddre, J. (1990). Encapsulation-dehydration: a new approach to cryopreservation of Solanum shoot tips. *CryoLetters*, 413-426.
- FAO. (1993). *Conservation of Genetic Resources in Tropical Forest Management: principles and concepts. Forestry Paper 107*. Roma: FAO.
- FAO. (2007). *Conservación y manejo de los recursos genéticos forestales*. ROMA: Bioversity International.

- Florence, P. (1993). Cryopreservation of apices of in vitro plantlets of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids) using encapsulation/dehydration. *Plant Cell Reports* , 12:525-529.
- Fründ, J., Dormann, C., Holzschuh, A., y Tschardtke, T. (2013). Bee diversity effects on pollination depend on functional complementarity and niche shifts. *Ecology*, 94 (9): 2042-2054.
- GAD Parroquial De Angochagua. (08 de Marzo de 2017). *Gobierno Parroquial Rural de Angochagua*. Obtenido de <http://www.angochagua.gob.ec/>
- GAD Parroquial Rural De Angochagua. (2015). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial*. Ibarra: GAD Parroquial Rural De Angochagua.
- García Piñeiro, J. (2010). *En busca de las plantas sagradas*. España: Col. Nagual Gaia.
- García, L., Rivero, M., y Droppelmann, F. (2015). Descripción morfológica y viabilidad del polen de *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae). *Bosque*, 36(3): 487-496 .
- García, M. (2016). La polinización en los sistemas de producción agrícola: revisión sistemática de la literatura. *Scielo*, 34(3): 51-66.
- García-Águila, L., De Fera, M., y Acosta, K. (2007). Aspectos básicos de la conservación in vitro de germoplasma vegetal. *Biotecnología vegetal*, 7(2): 67 - 79.
- Gonzáles, M. T., y Engelman, F. (2013). *Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe* . Costa Rica : Instituto de Investigación para el desarrollo.
- González Sampériz, P. (2012). *Palinología, evolución de la vegetación y cambio climático*. España: Instituto Pirenaico de Ecología-CSIC.
- Gourret, J., y Misset, M. (1989). Voir, connaître et utiliser le pollen. *Document INRAP* , 83:3-8.
- Greenbaun, T. (2001). *The handbook for the focus group*. USA: Sage Publications.

- Guerrero, A. (2016). *Competencia o partición de nicho por los recursos en abejas nativas Melipona mimetica y Scaptotrigona sp. En un bosque seco al sur de Ecuador*. Loja: Universidad Técnica Particular de Loja.
- Heffern, R. (2000). *Secrets of the mind-altering plants of Mexico*. México: Pyramid Books.
- Herrero, A., y Zavala, M. (2015). *Los Bosques y la Biodiversidad frente al Cambio Climático: Impactos, Vulnerabilidad y Adaptación en España*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- HFCOL. (2012). *Guía para la recolección y preservación de muestras botánicas en campo*. Colombia: Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
- Huarte, D., y Rigato, A. (17 de Septiembre de 2004). *Crioconservación de variedades nativas de Solanum tuberosum var. andigena*. Recuperado de Rigato: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/ResumenesPG/PGPV2002/resudigilio.htm>.
- ICA. (2010). *Guía para Tomar, Conservar Y Enviar Muestras Vegetales para Diagnóstico Fitosanitario*. Colombia: Laboratorio del ICA.
- IPE. (2016). *Colecciones del IPE*. España: CSI.
- IPGRI. (1996). Programme activities, germplasm maintenance and use. *Annual Report*, 56-65.
- Lara Ruiz, J. (2012). Contribución al conocimiento de los insectos visitantes de Campanulaceae en la península ibérica (Insecta). *Micobotánica-Jaén*, 189-195.
- Lopez, R., y Garcia, J. (1987). Aislamiento e identificación de alcaloides del tropano en especies del género Brugmansia (Solanaceae). *Acta Farm. Bonaerense*, 6 (3): 167-174. .
- Louveaux, J., Maurizio, A., y Vorwohl, G. (1978). “Methods of Melissopalynology”. *Bee World*, 59 (4) 139-157.

- Luna, J. M. (2005). Técnicas de colecta y preservación de insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 394-395.
- Markgraf, V., y D'Antoni, H. (1979). *Pollen Flora of Argentina*. Argentina: The University of Arizona Press.
- Matsumoto, T., Mochida, C., Itamura, H., y Sakai, A. (2001). Cryopreservation of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) by vitrification of dormant shoot tips. *Plant Cell Reports*, 20:398-402.
- Merlín, U. Y., Villamil, E. L., y Martínez, C. J. (2014). *Biodiversidad útil: Plantas e insectos benéficos asociados al cultivo de aguacate en Michoacán*. Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, México, D.F: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Montesinos Arraiz, P. (2016). *Polinización e insectos polinizadores*. Venezuela: Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado de Venezuela.
- Moreno, J. C. (2008.). *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas.
- Mourelle, D. (2011). *Relación polen-vegetación actual en Uruguay*. Tesis de Maestría en Ciencias, Área Biología. PEDECIBA. Uruguay: Universidad de la República Uruguay.
- Muñoz Camacho, J. C. (2006). El pico más largo. *Apuntes científicos uniandinos*, 5-8.
- Ortega, A. E. (1974). Estudio biosistemático de cinco especies de *Datura* existentes en el Ecuador. Quito. *Ciencia y Naturaleza*, 15(1): 12–54.
- Ortiz, G., Ramírez, Á., y Lito, E. (2016). *Polinizadores manual sobre su importancia y conservación*. México: RICDA.

- Ospina, H. (2013). *Diversidad Genética De Las Especies Cultivadas del género*. Cali, Colombia: CIAT.
- Palacios, M. C. (2010). “*El floripondio o wantuk en el paisaje cultural de cuenca: un enfoque desde la geografía de la percepción*”. Cuenca-Ecuador: Universidad De Cuenca Facultad De Filosofía, Letras Y Ciencias De La Educación.
- Passarell, L. (2006). Relación entre la germinación del polen "in vitro", reacción fluorocromática y tinción con azul de algodón en lactofenol, en dos especies de *Solanum* sec. *Cyphomandropsis*. *Asociación Paleontológica Argentina Publicación Especial* 6, 91-93.
- Pennycooke, J., y Towill, L. (2000). Crioconservación de puntas de los brotes de plantas in vitro de batata [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] Por vitrificación. *Plant Cell Reports*, 733-737.
- Plitt, J. (2006). *La Flor y otros órganos derivados*. Manizales: Universidad de Caldas.
- Quiroz, W. (2009). *Estudios en polen y polinizaciones en Coffea arabica L.* Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
- Rader, R., Edwards, W., Westcott, D., Cunningham, S., y Howlett, B. (2013). Diurnal effectiveness of pollination by bees and flies in agricultural Brassica rapa: Implications for ecosystem resilience. *Basic and Applied Ecology*, 14: 20-27.
- Rao, R., y Brown, J. (2010). *Gestión de la diversidad genética de plantas*. Londres: IPGRI.
- Reddy, K., y Kakani, V. (2007). Screening capsicum species of different origins for high temperature tolerance by in vitro pollen germination and pollen tube length. *Scientia Horticulturae*, 112(2): 130–135.
- Rengifo-Salgado, E., Rios-Torres, S., Fachín Malaverri, L., y Vargas-Arana, G. (2017). Saberes ancestrales sobre el uso de flora y fauna en la comunidad indígena Tikuna de m Cushillo Cocha, border with Peru-Colombia-Brazil. *Revista peruana de biología*, 68.

- Reyes Nora, J. F. (2011). *Metodología de Palinología*. Tucumán. Argentina: Area Botánica Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo.
- Rosado Gordón, M. Á. (2012). *Polinizadores y biodiversidad*. Madrid: Apolo.
- Sáenz Lain, C. (2004). Glosario de términos palinológicos. *Lázaroa*, 25: 93-112 .
- Sánchez-Chiang, N., y Jiménez, V. M. (2010). *Técnicas de conservación in vitro para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales*. Costa Rica: Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC), Universidad de Costa Rica, 2060 San Pedro, Costa Rica.
- Saury, A. (2001). *Las plantas fumables*. España: Mandala.
- Schultes, R., y Robert, R. (1992). *El Bejuco del alma*. Colombia: Banco de la República, Ediciones Unidades Universidad de Antioquía.
- SDA. (2010). *Arbolado urbano de Bogotá*. Colombia: Scripro Gómez.
- Seeley, T. (2006). *Ecología da abelha: Um estudo de adaptação na vida social*. Paixão: Porto Alegre.
- Shibli, R., Haagenson, D., Cunningham, S., Berg, W., y Volenec, J. (2001). Cryopreservation of alfalfa cells by encapsulation-dehydration. *Plant Cell Report* 20:, 445-450.
- Soares, C., Neto, P., Y Souza, A. (2006). *Dendrometria e inventário florestal*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 276p.
- Soft, S. (21 de Agosto de 2014). *Crioconservación*. Recuperado de Conservación de material biológico a largo plazo: <http://www.cannabis.info/es/abc/10003407-crioconservacion>
- Sutton, A. H., y Varela, M. (2012). *Focus groups technique*. México: Departamento de Investigación Educativa, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México.

- Telleria, I., y Sarasola, M. (2002). *Análisis de polen corbicular recolectado durante los años 2002 y 2003 en los colmenares de estudio eco-etológico de oñati y goizueta*. Navarra: Asociación de Apicultores de Gipuzkoa (G.E.E.).
- Tobón, A. (2008). *Borrachero - Estramonio - Brugmansia aurea Lageth*. Medellín Colombia: Herbario Universidad de Antioquia, .
- Towill, L. (1996). *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*. Boca Raton, Florida: CRC Press,.
- Trigo, M., y Jaramillo, P. (2011). *Guía rápida de polen de las islas Galápagos*. Puerto Ayora, Santa Cruz, Galápagos: Fundación Charles Darwin - Universidad Málaga.
- UICN. (12 de Junio de 2014). *The IUCN Red List of Threatened Species*. Obtenido de www.iucnredlist.org
- UNALM. (2014). *Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Valderrama, J. (1996). *Información Tecnológica*. Centro de Información Tecnológica.
- VELASQUEZ, C. (1999). *Atlas palinológico de la flora vascular paramuna de Colombia Angiospermae*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia .
- Vossler, F. G. (2012). *Estudio palinológico de las reservas alimentarias (miel y masas de polen) de “abejas nativas sin aguijón” (hymenoptera, apidae, meliponini): un aporte al conocimiento de la interacción abeja-planta en el chaco seco de Argentina*. Argentina: Universidad Nacional de la Plata.
- Wang, Q., Laamanen, J., Uosukainen, M., y Valkonen, J. (2005). Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration. *Plant Cell Report*, 24(5):280-8.
- Westendorp, N., y Encina, C. (2013). *Crioconservación de plantas*. Málaga: Estacion Experimental La Mayora.

- Wilkinson, T., Wetten, A., Prychid, C., y Fay, M. (2003). Suitability of cryopreservation for the long-term storage of rare and endangered plant species: a case history for *Cosmos atrosanguineus*. *Annals of Botany*, 91:65-74.
- Withers, L. (2003). In vitro conservation. *Biol. J. Linnaean Soc*, 43: 31–42 .
- Worldwatch. (2003). *Informe anual del worldwatch institute sobre progreso hacia una sociedad sostenible*. Barcelona: Icaria.
- Zhao, M., Xhu, Y., Dhital, S., Khu, D., Song, Y., Wang, M., y Lim, H.(2005). An efficient cryopreservation procedure for potato (*Solanum tuberosum* L) utilizing the new ice blocking agent, supercool X1000. *Plant Cell Reports*, 24:477-481.

10. Anexos



Anexo 1. Fotografías de identificación de la zona de estudio y toma de puntos de muestreo por Romo K.P., 2018.



Anexo 2. Fotografías de levantamiento de información, encuesta saberes ancestrales por Romo K.P., 2018.



Anexo 3. Fotografías de recolección y transporte de polen por Romo K.P., 2018.



Anexo 4. Fotografías de recolección de especímenes por Romo K.P., 2018.



Anexo 5. Fotografías de colocación de carpotrampas modificadas por Romo K.P., 2018.



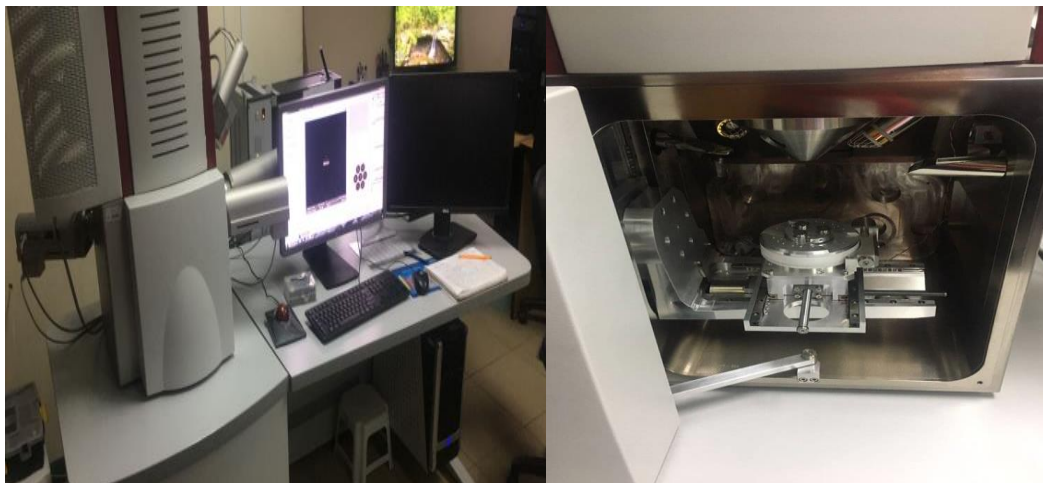
Anexo 6. Fotografías de muestreo de polinizadores e identificación de insectos en la entomoteca por Romo K.P., 2018.



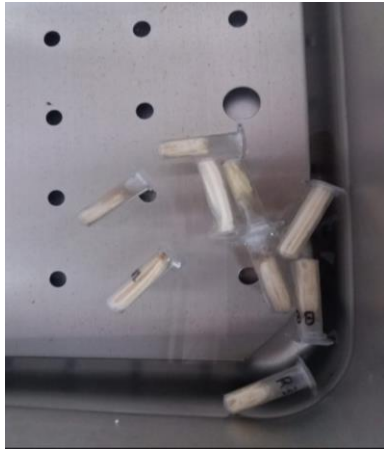
Anexo 7. Fotografías de prensado e identificación de muestras vasculares por Romo K.P., 2018.



Anexo 8. Fotografías de identificación de polen por Romo K.P., 2018.



Anexo 9. Fotografías de microscopio de barrido electrónico por Romo K.P., 2018.



Anexo 10. Fotografía de descongelación de anteras en Baño María por Romo K.P., 2018.



Anexo 13. Fotografía de encapsulación de anteras por Romo K.P., 2018.



Anexo 11. Fotografía de cultivo de anteras por Romo K.P., 2018.



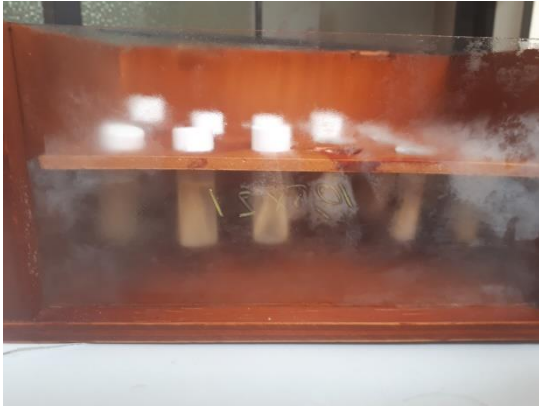
Anexo 14. Fotografías de cultivos expuestos a luz y oscuridad por Romo K.P., 2018.



Anexo 12. Fotografías de encapsulación y deshidratación de anteras por Romo K.P., 2018.



Anexo 15. Fotografía de almacenamiento de muestras en nitrógeno líquido por Romo K.P., 2018.



Anexo 16. Fotografía de almacenamiento convencional de muestras en congelador por Romo K.P., 2018.



Anexo 19. Fotografías de monitoreo de anteras con polen viable por Romo K.P., 2018.



Anexo 17. Fotografía de cultivo de anteras en cámara de flujo laminar por Romo K.P., 2018.



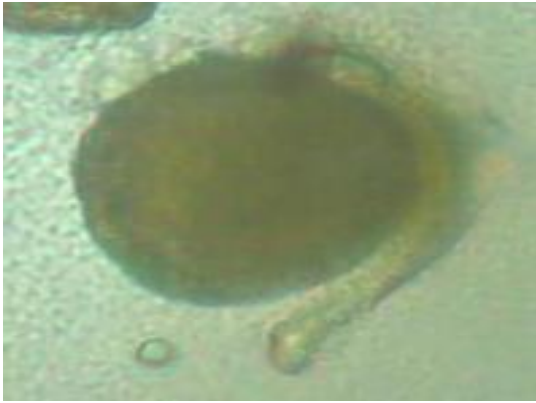
Anexo 20. Fotografía de placas preparadas con polen viable por Romo K.P., 2018.



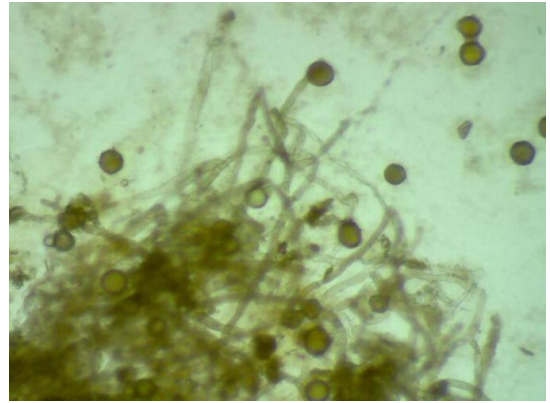
Anexo 18. Fotografía de preparación de muestras de anteras viables por Romo K.P., 2018.



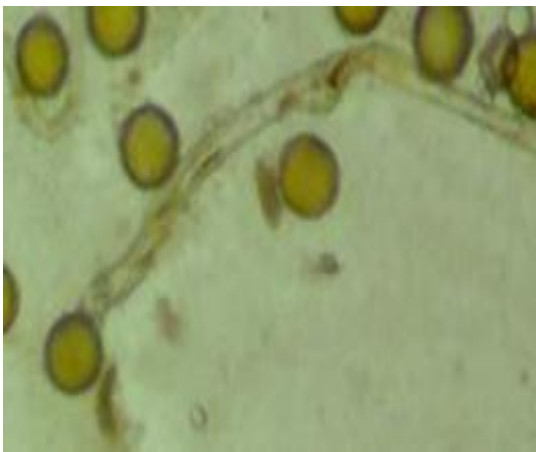
Anexo 21. Fotografía de crecimiento de tubo polínico por Romo K.P., 2018.



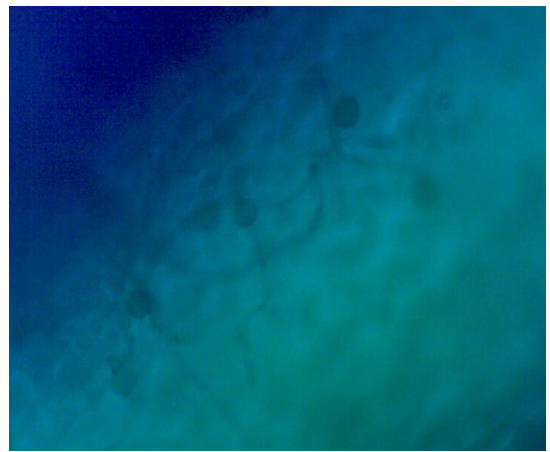
Anexo 22. Fotografía de crecimiento de tubo polínico a las 48 horas de ser cultivado por Romo K.P., 2018.



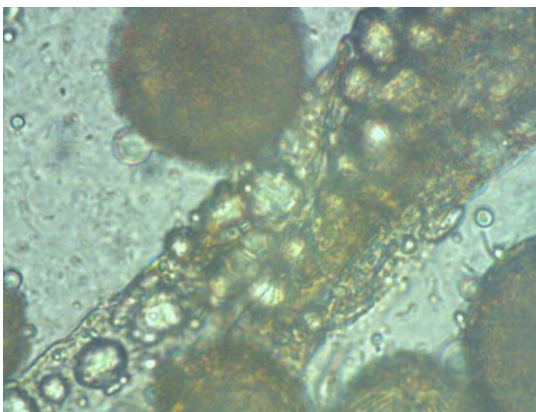
Anexo 25. Fotografía de granos de polen con el tubo polínico desarrollado por completo por Romo K.P., 2018.



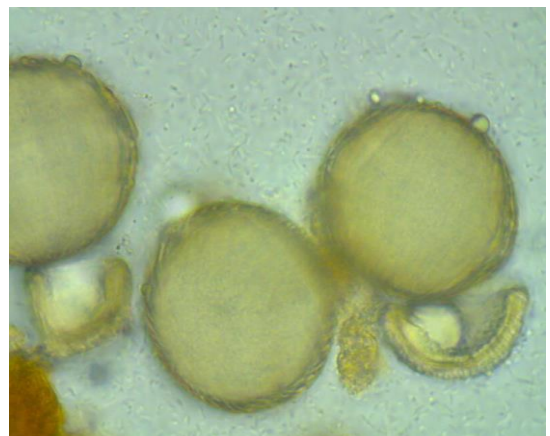
Anexo 23. Fotografía de crecimiento de tubo polínico a las 135 horas de ser cultivado por Romo K.P., 2018.



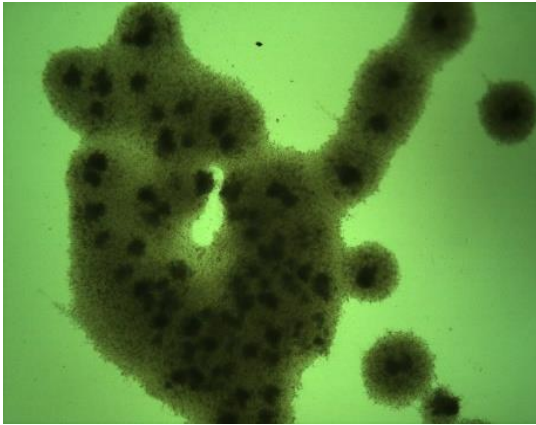
Anexo 26. Fotografía de tinción de tubos polínicos por Romo K.P., 2018.



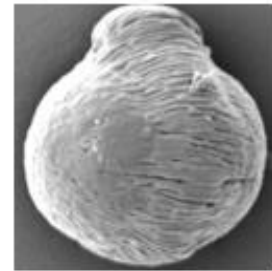
Anexo 24. Fotografía de células vegetativas del tubo polínico por Romo K.P., 2018.



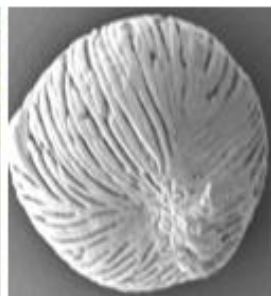
Anexo 27. Fotografía de granos de polen con tubo polínico por Romo K.P., 2018.



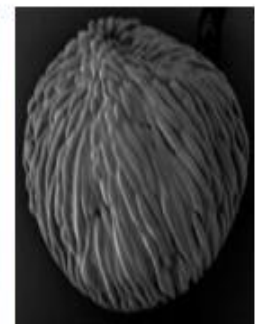
Anexo 28. Fotografía de muestra de polen contaminada por Romo K.P., 2018



Anexo 30. Fotografías de la especie *Brugmansia sanguinea*, árbol, flor y polen por Romo K.P., 2018.



Anexo 29. Fotografías de la especie *Brugmansia arborea*, árbol, flor y polen por Romo K.P., 2018



Anexo 31. Fotografías de la especie *Brugmansia aurea*, árbol, flor y polen por Romo K.P., 2018.



Anexo 32. Fotografías de la Socialización en el GAD de Angochagua por Romo K.P., 2018.

Anexo 333. Fotografía de muestras de polen de las tres especies del género *Brugmansia* por Romo K.P., 2018.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR SEDE IBARRA

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

Le extienden la más cordial invitación a la socialización del trabajo de investigación:

CRIOCONSERVACIÓN DE ESPECIES NATIVAS DEL GÉNERO BRUGMANSIA A TRAVÉS DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LA PALINOTECA EN EL HERBARIO PUCE – SI PARA MITIGAR LA EROSIÓN GENÉTICA EN LA PARROQUIA ANGOCHAGUA, CANTON IBARRA.

Autora: KAREN PAULINA ROMO SANTAFÉ

Asesora: Mgs. MARÍA FERNANDA LOPÉZ

CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES Y ECODesarrollo

Fecha: 16 de octubre del 2018

Lugar: GAD Parroquial de Angochagua


Hora: 10h00

RESUMEN

El presente estudio tiene como finalidad la preservación de tres especies nativas comúnmente llamadas floripondios los cuales pertenecen al grupo del género *Brugmansia*, debido a la acción antrópica estas especies han pasado a un alto grado de vulnerabilidad, por lo que se ha visto la necesidad de tomar alternativas de conservación para mitigar la erosión genética que presenta, para lograr este objetivo se optó por la conservación *ex situ* en condiciones *in vitro*, se implantó un protocolo de criopreservación utilizando la técnica de encapsulación y deshidratación en el cual se almacenó las anteras con polen en nitrógeno líquido y como comparador se eligió el congelador como almacenamiento convencional, la duración de esta investigación se realizó durante seis meses, una de las conclusiones más relevantes fue, que la técnica de almacenamiento con nitrógeno líquido fue la más eficaz por lo que las anteras del floripondio tuvo un mayor porcentaje de viabilidad en comparación con el método convencional que es el congelador.

Activar
iraConf

Anexo 344. Invitación de socialización por Romo K.P., 2018.



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

ESCUELA CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
ÁREA DE VINCULACIÓN CON LA COMUNIDAD

LISTA DE ASISTENCIA A SOCIALIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN

NOMBRE DEL EXPOSITOR:
CARRERA:
FECHA:

NOMBRE ASISTENTE	NÚMERO DE CÉDULA	INSTITUCION A LA QUE REPRESENTA	FIRMA
Fernando Fernando	100365420-0	GAD-I	[Firma]
Elizabeth Astudillo	1722532762	GAD-I	[Firma]
Gonzalo Rúa	1005195644	GADA.	[Firma]
Alexis Guerra	100903500-3	GPI	[Firma]
Maver Villacis	100398621-7	Gad Angochagua	[Firma]
Rafael Lades	100415158-5	Gad Angochagua	[Firma]
Cristian Escobar	100513079-2	Gad Angochagua	[Firma]
Efraim Churruarín	100465299-0	Gad Angochagua	[Firma]
Miguel Espinosa	100305496-0	Gad Angochagua	[Firma]
Alex Acosta G.	100252021-9	GAD Angochagua Tec. Turismo	[Firma]
ANDRÉS MORALES	010157757-6	CASA ANCOLOMBU	[Firma]
Arcely Serillano	100440017-0	PUCE-SI	[Firma]
Maria Fernanda Lopez	100250960-0	PUCE-SI	[Firma]
ERIK ANDRADE	1003559369	PUCE-SI	[Firma]
Erick Andrade	1750330985	PUCE-SI	[Firma]

Anexo 355. Registro de participantes de la socialización por Vinculación ECAA, 2018.

FORMATO DE COLECTA DE MUESTRAS DE HERBARIO – ECAANo. **0000701**

Muestra N°
 INSTITUTO COLECTOR: _____ COLECTOR (ES): _____ FECHA: d ____/m.. ____ /a.....
 GENERO: _____ ESPECIE: _____ SSP: _____
 NOMBRE LOCAL: _____ GRUPO ÉTNICO: _____ IDIOMA: _____
 PAÍS: _____ PROVINCIA: _____ CANTÓN: _____ PARROQUIA: _____
 LOCALIDAD: _____ NOMBRE DEL PREDIO: _____ PROPIETARIO: _____
 LOCALIZACIÓN DEL SITIO (km)-Norte/Sur Desde: _____ .. Hasta: _____
 LATITUD: _____ N/S. _____ LONGITUD: _____ .. E/W _____ ALTITUD: _____ msnm.

Descripción vegetativa (colocar todos los ítems de la clave dicotómica).

- 1 Si la planta en mención es una angiosperma o una gimnosperma para lo que recuerde las características de estas 2 grandes categorías vegetales.
2. Si es angiosperma, averigüe si es una monocotiledónea o dicotiledónea, para lo cual, recuerde los puntos de diferencia entre estas 2 clases de vegetales.
3. Si es un árbol, arbusto, frútice, liana, bejuco o trepadora.
4. Si tiene látex o no la tiene.
5. Observe detenidamente las hojas y establezca.
 - a) Si son simples o compuestas.
 - b) En el caso de ser compuestas, determine a qué tipo de compuestas pertenecen.
 - c) Si las hojas son todas radicales o no lo son.
 - d) Si tienen glándulas translúcida o no las tienen.
 - e) Si son glabras o pilosas.
 - f) Si tienen estipulas o no las tienen.
 - g) En caso de ser estipuladas, que clases de estipulas tienen.
 - h) Determine la clase de nervadura de la hoja.
6. Observe la posición de las hojas y determine si son alternas, opuestas o verticiladas.
- 7 Haga un esquema general de la planta que muestre sus principales características, especialmente de las partes sobresalientes. (puede colocar fotografías de las hojas, flores, frutos y la planta completa)
8. Si la flor es unisexual, hermafrodita o polígama.
9. Si es una flor axilar o terminal.
10. Averigüe si es una flor solitaria o está formando una inflorescencia.
- 11 En caso de ser una inflorescencia, establezca la clase de inflorescencia a la que pertenece.
12. Establezca si la flor es actinomorfa o zigomorfa.
13. Si las flores son amariposadas o no lo son.
14. Observe cuidadosamente si es una flor completa o incompleta.
15. Si la flor posee cáliz observe con mucho detenimiento y establezca.
 - a) Si es dialisépala o gamosépala.
 - b) ¿Cuántos sépalos tiene?
 - c) Si los sépalos son valvados, imbricados o torcidos.
 - d) Si son opuestas o alternos con los pétalos.
 - e) Si están adnatos o libres del ovario.
 - f) Si los sépalos son caducos o persistentes.
 - g) Si llevan un sobrecáliz o cálculo o no lo llevan.
 - h) Si el cáliz es herbáceo, hialino o escamoso.
16. Si el perianto está presente o ausente.
- 17 Si el perianto está compuesto de segmentos similares o distintos.
18. Haga un esquema general de la flor con todas sus partes, de manera que se observe la posición y la relación de todos sus segmentos especialmente en lo relacionado con las características del cáliz.
19. verticilos florales, específicamente de la corola y el androceo y averigüe:
 - a) Si los pétalos están presentes, pero libres entre sí.
 - b) Si los pétalos están presentes, pero más o menos unidos.
 - c) Si los pétalos están ausentes.
20. Si los pétalos son todos iguales o no lo son.
- 21 Si están opuestos o alternos con los sépalos.
22. Si son del mismo número de los sépalos o no los son.
23. Si los pétalos son hipógineos, perigineos o epigineos.
24. Si los pétalos son valvados, imbricados o torcidos

FORMATO DE COLECCIÓN DE MUESTRAS DE HERBARIO - ECAA

No. 0000701

LA POBLACIÓN ESTA AISLADA DE OTRAS: SI..... NO.....

SE ENCENTRA PARIENTES CULTIVADOS CERCA: SI ... NO

NÚMERO DE PLANTAS MUESTREADAS:..... en..... **m 2**

ESTADO FENOLÓGICO DE LA POBLACIÓN:

- 1) vegetativo
- 2) floración
- 3) con semillas maduras

USO DEL MATERIAL:

- 1) alimento (procesamiento)
- 2) fruto
- 3) medicinal
- 4) bebida
- 5) fibra
- 6) ancestral
- 7) forraje
- 8) construcción
- 9) ornamental/cultura
- 10) otro.

PARTE DE LA PLANTA UTILIZADA:

- 1) tallo
- 2) rama
- 3) hoja
- 4) corteza
- 5) rizoma
- 6) flor/ inflorescencia
- 7) fruto
- 8) semilla
- 9) raíz
- 10) tubérculo
- 11) otro

FOTOGRAFÍA: SI .. NO ..

EJEMPLAR DE HERBARIO: SI .. NO ..

MÉTODO DE MUESTREO: Randomizado.
Selectivo.

VEGETACIÓN DE LOS ALREDEDORES:

- 1) potreros
- 2) arbustos
- 3) bosque nativo
- 4) arboleda
- 5) otro.

CLIMA (DESCRIPCIÓN): Temperatura .. Humedad ..

LUZ:

- 1) sombreado
- 2) soleado

Anexo 377. Formato clave dicotómica parte 2 por Herbario PUCE-SI



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

ESCUELA CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
ÁREA DE VINCULACIÓN CON LA COMUNIDAD

PROCESO DE SOCIALIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN

El siguiente cuestionario nos permitirá implementar mejoras constantes en los procesos de socialización de trabajos de investigación, por favor háganos llegar sus comentarios y sugerencias:

FECHA			
EXPOSITOR	Karen Romo		
LUGAR	ANGUACHAGUA	DENTRO PUCESI	FUERA PUCESI
			X

NOTA IMPORTANTE: Por favor conteste las preguntas según la siguiente escala:

5. MUY ALTO / 4. ALTO / 3. MEDIO / 2. BAJO / 1. NULO

DETALLE DE VALORACIÓN	1	2	3	4	5
ORGANIZACIÓN DEL EVENTO DE SOCIALIZACIÓN:					
1. ¿Considera Usted que la sala donde se desarrolló este evento brindó las comodidades necesarias?	-				X
2. ¿Considera Usted que el material audiovisual utilizado en la presentación fue adecuado?					X
EJECUCIÓN DEL EVENTO POR PARTE DEL EXPOSITOR					
3. ¿Considera Usted que el expositor mostró dominio del tema?					X
4. ¿Estima Usted que el manejo del auditorio por parte del expositor fue adecuado?					X
5. ¿Considera Usted que el Expositor demostró facilidad de expresión?					X
MEDICIÓN DE IMPACTO DE LA INVESTIGACIÓN:					
6. ¿Considera Usted que el tema investigado posee relevancia para algún actor y/o sector de la sociedad?					X
7. ¿Considera Usted que esta investigación posee perspectivas para estudios complementarios posteriores?					X
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?					X
9. ¿En función de los objetivos planteados expuestos en la investigación, considera Usted que éstos se cumplieron?					X
REALICE UN COMENTARIO O SUGERENCIA PARA LOS ORGANIZADORES DE ESTE EVENTO					
Felicidades por la investigación					
MENCIONE USTED OTRAS PROBLEMÁTICAS QUE A SU PARECER PODRÍAN SER INVESTIGADAS Y QUE POSEAN IMPORTANCIA PARA ALGÚN ACTOR Y/O SECTOR DE NUESTRA COLECTIVIDAD					
INSTITUCIÓN U ORGANIZACIÓN A LA QUE PERTENECE EL ENCUESTADO		GAD-Ibarra			

Anexo 388. Encuesta de socialización de investigación por Departamento Vinculación ECAA, 2018.