



Pontificia Universidad Católica del Ecuador  
Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS Y AMBIENTALES “ECAA”

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

**“EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DE LA ESPECIE  
*TILLANDSIA EMERGENS* MEDIANTE EXPLANTES CON EL FIN DEL  
DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA DE MULTIPLICACIÓN PARA LA  
PUCESI”**

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

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

Línea 2. Ambiente y Biodiversidad

Sublínea 2.2 Recursos Genéticos

**AUTOR:** Mayra Thalía Sánchez Buitrón

**ASESOR:** Mgs. Santiago Xavier Mafla Andrade

IBARRA, 2018



Ibarra, 24 de septiembre de 2018

Mgs. Santiago Xavier Mafla Andrade

ASESOR

**CERTIFICA:**

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

(f).....

Mgs. Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399



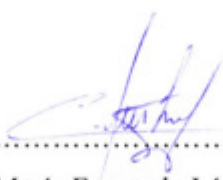
## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

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

(f):.....

Mgs. Santiago Xavier Mafla Andrade (Asesor)

C.C.: 1002658399

(f):.....

Mgs. María Fernanda López Flores

C.C.:100250960-0

(f):.....

PhD. Andrea Elizabeth Aguilar Jaramillo

C.C.: 100287357-6



## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

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

Ibarra, 24 de septiembre de 2018

f).....

Mayra Thalía Sánchez Buitrón

C.C.: 100397419-1



## AUTORÍA

Yo, Mayra Thalía Sánchez Buitrón, portador de la cédula de ciudadanía N°100397419-1, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad de la autora, y que se ha respetado las diferentes fuentes de información realizando las citas correspondientes.

f) .....

Mayra Thalía Sánchez Buitrón

C.C.: 100397419-1



## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo: Mayra Thalía Sánchez Buitrón, con CC: 100397419-1, autor del trabajo de grado titulado: “Evaluación de la reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens* mediante explantes con el fin del desarrollo de una metodología de multiplicación para la PUCESI”, previo a la obtención del título profesional de Ingeniera en Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales “ECAA”.

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

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

Ibarra, 24 de septiembre de 2018

(f.).....

Mayra Thalía Sánchez Buitrón

C.C.:100397419-1



## DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación del Proyecto de Titulación: “Evaluación de la reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens* mediante explantes con el fin del desarrollo de una metodología de multiplicación para la PUCESI” 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 PUCES con fecha 15 de enero de 2018.

Ibarra, 24 de septiembre de 2018

(f.).....

Mayra Thalía Sánchez Buitrón

C.C.:100397419-1



## **DEDICATORIA**

Mi tesis está dedicada primeramente a Dios y a la Virgencita María por ayudarme a culminar con éxito esta gran etapa de mi vida.

A mis padres Vinicio y Mayra que me brindaron todo su amor y apoyo incondicional en el transcurso de toda mi vida estudiantil, y así pude alcanzar el objetivo que me propuse de ser una ingeniera ambiental.

A mi querida abuelita Luzmila; a mis hermanos Carlos y Vinicio; a mis tíos y primos por ser unas personas de grandes virtudes y maravillosas conmigo; las cuales me traen alegrías todos los días de mi vida.

Este triunfo quiero dedicar también a todos mis queridos ingenieros que a lo largo de mi carrera universitaria supieron brindarme consejos, valores y conocimientos que me van ayudar a ser una excelente profesional.

Y como no dedicarles esto a mis amigos, con los que he vivido las mejores experiencias de vida llena de muchas alegrías y momentos que los recordaré para siempre.



## **AGRADECIMIENTO**

En primera instancia agradezco a Dios, por ser la persona que guió mis pasos espiritualmente a lo largo de mi carrera, aquel ser supremo que me dio la fortaleza y sabiduría para alcanzar esta meta tan anhelada.

A mis padres Vinicio Sánchez y Maira Buitrón, que supieron inculcarme desde niña los mejores valores para ser una buena hija, hermana, compañera, amiga; y sobre todo gracias por su amor, sacrificio, constancia y dedicación que me dieron día tras día para llegar a ser lo que soy ahora.

A mi querida abuelita Luzmila Terán le agradezco infinitamente por ser mi segunda madre y haber hecho de mí una mujer de bien, gracias a su amor incondicional, principios, valores, conocimientos que a lo largo de mi vida me inculcó.

De igual manera a mis hermanos Carlos y Vinicio gracias por su apoyo y cariño sincero, y a toda mi familia en general, gracias por todos sus consejos y por haber estado conmigo en el transcurso de esta etapa de mi vida.

Además quiero expresar mi gratitud a mi asesor de tesis el Mgs. Diego Jauregui al Mgs. Santiago Mafla y a la Mgs. María Fernanda López por haberme ayudado de una forma desinteresada en todo momento, también a los distintos docentes que fueron participes de una u otra manera en el progreso de mi aprendizaje para llegar a ser una buena profesional.

Y por último a mis queridos amigos que fueron participes en toda la trayectoria de mi vida, por haber compartido conmigo los mejores momentos y haberme brindado su apoyo incondicional en las buenas y en las malas.

Gracias infinitas a todos.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE.....	1
2. ABSTRACT.-.....	2
3. INTRODUCCIÓN.-.....	3
Objetivo General:.....	4
Objetivos Específicos:.....	4
Hipótesis.....	5
4. ESTADO DEL ARTE.....	5
4.1. Descripción de la zona de estudio.....	5
4.2. Descripción de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	5
4.2.1. Clasificación taxonómica.....	6
4.2.2. Distribución geográfica en el Ecuador.....	6
4.2.3. Condiciones de vida.....	7
4.2.4. Importancia de la especie <i>Tillandsia emergens</i> al ecosistema.....	7
4.3. Evaluación ecológica rápida.....	7
4.4. Clave dicotómica.....	8
4.5. Transecto.....	8
4.6. Propagación in vitro.....	9
4.7. Medio de cultivo.....	11
4.7.1. Soporte utilizado en el medio de cultivo.....	11
4.7.2. Componentes minerales.....	12
4.7.3. Componentes orgánicos.....	13
4.8. Importancia de la conservación de especies en un herbario.....	15

5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1. Materiales de campo .....	16
5.2. Materiales y equipos laboratorio.....	16
Materiales.....	16
5.3. Metodología .....	18
5.3.1. Metodología para la fase de campo .....	18
5.3.2. Metodología para la fase de laboratorio .....	25
5.4. Métodos.....	28
5.4.1. Diseño experimental .....	28
5.4.2. Variables Independientes o Tratamientos.....	28
5.4.3. Unidades experimentales .....	30
5.4.4. Variables dependientes .....	30
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33
6.1. Fase de campo.....	33
6.1.1. Descripción general de la zona de estudio.....	33
6.1.2. Características de la zona de estudio .....	34
6.1.3. Transectos .....	35
6.1.4. Puntos de muestreo .....	42
6.1.5. Identificación de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	46
6.2. Fase de laboratorio .....	48
6.2.2. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable Longitud del explante .....	51
6.2.3. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable sobrevivencia .....	52
7. CONCLUSIONES.....	57
8. RECOMENDACIONES. ....	59

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	61
10. ANEXOS. ....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	6
Tabla 2. Compuestos que forman el medio de cultivo Murashige y Skoog .....	13
Tabla 3. Descripción de los tratamientos realizados en la investigación.....	28
Tabla 4. Descripción de las variables dependientes .....	31
Tabla 5. Datos tomados en el transecto Transecto 1 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	36
Tabla 6. Datos tomados en el transecto Transecto 2 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	38
Tabla 7. Datos tomados en el transecto Transecto 3 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	40
Tabla 8. Comparación del valor (P) en cada una de las pruebas estadísticas, que demostraron porque se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. ....	48
Tabla 9. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de brotes.....	49
Tabla 10. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable longitud del explante.....	51
Tabla 11. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable sobrevivencia .....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Mapa base para la identificación de la parroquia de San Roque. ....	34
<i>Figura 2.</i> Incidencia de la especie <i>Tillandsia emergens</i> .....	42
<i>Figura 3.</i> Puntos de muestreo de cada uno de los transectos. ....	43
<i>Figura 4.</i> Mapa de vegetación de la parroquia de San Roque. ....	44
<i>Figura 5.</i> Mapa de tipos de suelos en la parroquia de San Roque.....	45
<i>Figura 6.</i> Muestra de herbario. ....	47
<i>Figura 7.</i> Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis.....	50
<i>Figura 8.</i> Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis.....	51
<i>Figura 9.</i> Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis.....	53
<i>Figura 10.</i> Medición del transecto (50x2) de <i>Pinus radiata</i> . ....	65
<i>Figura 11.</i> Medición del DAP de los individuos de la especie de <i>Pinus radiata</i> .....	65
<i>Figura 12.</i> Medición del DAP de los individuos de la especie de <i>Eucaliptus globulus</i> .....	66
<i>Figura 13.</i> Medición de la altura a los individuos de la especie de <i>Pinus radiata</i> .....	66
<i>Figura 14.</i> Dosis de los reactivos utilizados para el medio de cultivo. ....	67
<i>Figura 15.</i> Preparación del medio de cultivo. ....	67
<i>Figura 16.</i> Esterilización de los materiales y medio de cultivo.....	68
<i>Figura 17.</i> Protocolo para la desinfección de hojas y semillas. ....	68
<i>Figura 18.</i> Protocolo para la desinfección de yemas.....	69
<i>Figura 19.</i> Siembra in vitro de los explantes.....	69
<i>Figura 20.</i> Medición de la longitud de cada uno de los explantes .....	70
<i>Figura 21.</i> Cultivo in vitro de semillas transcurrido los 90 días de su siembra .....	70
<i>Figura 22.</i> Cultivo in vitro de hojas jóvenes transcurrido los 90 días de su siembra.....	71
<i>Figura 23.</i> Cultivo in vitro de yemas transcurrido los 90 días de su siembra. ....	71
<i>Figura 24.</i> Socialización del tema de investigación. ....	72
<i>Figura 25.</i> Encuestas realizadas por los participantes en la socialización .....	72
<i>Figura 26.</i> Entrevista durante la socialización por parte de la radio municipal .....	73
<i>Figura 27.</i> Gráfico del sitio donde se desarrolló el evento.....	73

<i>Figura 28.</i> Gráfico del material audiovisual utilizado en la exposición.....	74
<i>Figura 29.</i> Gráfico del dominio del tema por parte del expositor. ....	74
<i>Figura 30.</i> Gráfico del manejo del auditorio por parte del expositor. ....	75
<i>Figura 31.</i> Gráfico de la facilidad de expresión que tuvo el expositor durante la exposición. ....	75
<i>Figura 32.</i> Gráfico de la relevancia que tiene el tema investigado para la sociedad.....	76
<i>Figura 33.</i> Gráfico sobre si la investigación posee perspectiva para estudios posteriores.....	76
<i>Figura 34.</i> Gráfico acerca si el tema investigado genera actualmente o a futura un beneficio. ....	77
<i>Figura 35.</i> Gráfico sobre si los objetivos de la investigación fueron cumplidos .....	77
<i>Figura 36.</i> Clave dicotómica parte 1. ....	78
<i>Figura 37.</i> Clave dicotómica parte 2. ....	79
<i>Figura 38.</i> Permiso de investigación para la recolecta de la especie <i>Tillandsia emergens</i> . ....	80
<i>Figura 39.</i> Obligaciones y condiciones que emite el permiso de investigación.....	81
<i>Figura 40.</i> Formato de encuesta realizada en la socialización .....	82
<i>Figura 41.</i> Listado de asistentes a la socialización del tema investigado.....	83
<i>Figura 42.</i> Listado de asistentes a la socialización del tema investigado.....	84



## **1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE.-**

La especie *Tillandsia emergens* Mez y Sodiro es una planta endémica del Ecuador perteneciente a la familia de las bromelias. Esta especie actualmente se encuentra en estado vulnerable debido a los desastres naturales (incendios forestales) y la acción antrópica del hombre (tala indiscriminada) en el país; por esta razón se consideró realizar una propagación in vitro para la conservación de esta especie. Por lo cual se realizó diferentes transectos que determinaron cuál fue la incidencia de esta especie en 4 comunidades de la Parroquia de San Roque, Provincia de Imbabura. Además, se desarrolló un protocolo de cultivo in vitro a partir de hojas jóvenes, yemas y semillas; estos fueron sembrados en un medio de cultivo preparado de Murashige y Skoog a su totalidad de concentración (4,3g.l<sup>-1</sup>), sacarosa (30g.l<sup>-1</sup>), agar (10g.l<sup>-1</sup>), suplementados con antioxidantes ácido cítrico y ácido ascórbico (100mg.l<sup>-1</sup>), además con hormonas reguladoras de crecimiento ANA y BAP (10 mg.l<sup>-1</sup>). Transcurrido los 90 días de la siembra in vitro se evaluó en cada uno de los tratamientos (hojas jóvenes, yemas y semillas) la formación de brotes, la longitud y sobrevivencia del explante. Siendo el mejor tratamiento el de las semillas en todas las variables, debido a que obtuvo los mejores resultados en comparación con los demás explantes (yemas y hojas jóvenes).

**PALABRAS CLAVE.-** Cultivo in vitro, *Tillandsia emergens*, Murashige y Skoog, ANA, BAP.

## 2. ABSTRACT.-

The species *Tillandsia emergens* Mez y Sodiro is an endemic plant of Ecuador belonging to the family of bromeliads. This species is currently in a vulnerable state due to natural disasters (forest fires) and human action (indiscriminate felling) in the country; for this reason it was considered to carry out an in vitro propagation for the conservation of this species. Therefore, different transects were carried out that determined the incidence of this species in 4 communities of the Parroquia de San Roque, Province of Imbabura. In addition, an in vitro culture protocol was developed from young leaves, buds and seeds; These were planted in a culture medium prepared from Murashige and Skoog at full concentration ( $4.3\text{g.l}^{-1}$ ), sucrose ( $30\text{g.l}^{-1}$ ), agar ( $10\text{g.l}^{-1}$ ), supplemented with antioxidants citric acid and ascorbic acid ( $100\text{ g.l}^{-1}$ ), in addition with growth regulating hormones ANA and BAP ( $10\text{mg.l}^{-1}$ ). After 90 days of sowing in vitro, shoot formation, length and survival of the explant were evaluated in each of the treatments (young leaves, buds and seeds). The best treatment is that of the seeds in all the variables, because it obtained the best results in comparison with the other explants (buds and young leaves).

**KEY WORDS.** – In vitro cultivation, *Tillandsia emergens*, Murashige y Skoog, ANA, BAP.

### 3. INTRODUCCIÓN.-

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

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

El cultivo in vitro es ideal principalmente para especies de difícil propagación, que están en estado vulnerable o de peligro de extinción, como es el caso de la especie en estudio *Tillandsia emergens*. Esta especie ayuda a sostener cadenas tróficas complejas que implican a varios tipos de organismos, como bacterias, algas, musgos, plantas vasculares, protozoos, hongos, invertebrados y algunos vertebrados (García, 2014). Las *Tillandsias* poseen hojas con vainas que se sobrelapan entre sí, por la cual permiten la creación de un tanque (fitotelmata) donde se retienen fluidos y hojarasca que se convierten en un primordial recurso hídrico y de nutrientes para todos los tipos de organismos asociados con esta especie (Bogh, 2011).

El problema de las *Tillandsias* es que son de difícil propagación, estas tardan varios años en florecer si se multiplican por semillas, se deberá esperar unos 5 años para obtener las nuevas plantas. Esta propagación es la más difícil porque dura mucho tiempo, pero tiene resultados muy efectivos debido a que se puede obtener en una sola cápsula de 100 a 150 semillas de la especie *Tillandsia emergens* (González y Mollogón, 2013).

Actualmente en el Ecuador no existe información de cultivo in vitro de la especie *Tillandsia emergens* perteneciente a la familia Bromeliaceae, que según el Libro Rojo de las Especies Endémicas del Ecuador se encuentra en estado vulnerable debido a los desastres naturales y la acción antrópica del hombre, algunas poblaciones de esta planta han disminuido drásticamente

en las provincias de Imbabura, Napo y Pichincha que se encuentran a una altura de 2.500-4.000 msnm (León, Valencia, y Pitman, 2011).

En la provincia de Imbabura se ha perdido una cantidad de bromelias a causa de incendios forestales ocurridos en el 2016 (Jiménez, 2009). Según la SGR (Secretaría de Gestión de Riesgos) 1430,46 hectáreas de ecosistema boscoso han sido quemados, una de las parroquias más afectada fue la de San Roque que ha perdido muchas especies de bromelias del género *Tillandsia* entre ellas la especie *Tillandsia emergens* que en la actualidad se encuentra en estado vulnerable (Salgado, 2016).

Por esta razón se ha considerado realizar una serie de ensayos acerca de la conservación in vitro a partir de explantes de la especie, ya que se describe al cultivo in vitro como parte esencial de una estrategia de conservación e intercambio de recursos genéticos, por la cual se podrá ofrecer el almacenamiento de un gran número de muestras creadas a partir de hojas jóvenes, yemas y semillas de esta planta, con el fin de contribuir a la disminución de la pérdida de biodiversidad, logrando realizar un protocolo efectivo para cultivar *Tillandsia emergens*.

### **Objetivo General:**

Evaluar la reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens* mediante explantes para multiplicarlas masivamente.

### **Objetivos Específicos:**

1. Identificar la zona de estudio mediante técnicas de georreferenciación para coleccionar explantes de la especie *Tillandsia emergens*.
2. Determinar el mejor explante mediante técnica in vitro para su propagación.
3. Socializar los resultados mediante un día de campo a estudiantes y docentes de la PUCE-SI, Ministerio del Ambiente y GAD Parroquial de San Roque.

## **Hipótesis**

La multiplicación in vitro mediante brotes es más eficiente su propagación que con los demás explantes.

## **4. ESTADO DEL ARTE**

### **4.1. Descripción de la zona de estudio**

La parroquia de San Roque pertenece al cantón Antonio Ante, provincia de Imbabura, se ubica a 3 km de la capital cantonal y a 18 km de la capital provincial; este lugar presenta un clima frío húmedo desde los 3120 hasta los 4621 msnm y un clima templado cálido que va desde los 2230 hasta los 3120 msnm (Buitrón, 2014).

Según Ortiz, (2010) dice que la parroquia de San Roque presenta una pluviosidad de 850 a 1150 mm, una temperatura promedio de 8 a 16°C. A la altura de 2500 a 3100 msnm se localiza un relieve montañoso, donde se encuentran las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y La Esperanza, las cuales manifiestan características abióticas adecuadas y favorables para que se desarrolle la especie *Tillandsia emergens*.

### **4.2. Descripción de la especie *Tillandsia emergens***

Bromelia epífita endémica del Ecuador, posee hojas fasciculadas distribuidas uniformemente a lo largo del tallo; presenta una inflorescencia compuesta con flores bisexuales, sépalos asimétricos libres, pétalos sin apéndices, el fruto es una cápsula septicida que contiene semillas con apéndices plumosos (Bolaños, 2009).

#### 4.2.1. Clasificación taxonómica

Tabla 1

*Taxonomía de la especie Tillandsia emergens*

<b>Taxonomía</b>	
Reino	Plantae
Subreino	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Bromeliaceae
Subfamilia	Tillandsioideae
Género	<i>Tillandsia</i>
Especie	<i>Tillandsia emergens</i>

Nota. Recuperado de “Manual de identificación de 22 especies de *Tillandsias* en Guatemala”, Huertas, (2014).

#### 4.2.2. Distribución geográfica en el Ecuador

La especie *Tillandsia emergens* se encuentra distribuida en el alto y bajo bosque andino; entre las provincias de Imbabura, Napo y Pichincha a una altura de 2400 a 4000 msnm. Una subpoblación de esta especie se localiza en la Reserva Geobotánica Pululahua (Manzanarez, 2009).

Cerón, (2014) según investigaciones realizadas acerca de la distribución del género *Tillandsia* en el Ecuador afirma que la destrucción del hábitat es la única amenaza conocida hasta la actualidad; por lo cual se conoce que la especie *Tillandsia emergens* según el Libro Rojo de las Especies Endémicas del Ecuador, se encuentra en estado vulnerable.

#### **4.2.3. Condiciones de vida**

Esta especie se desarrolla en árboles forestales como pinos, encinos, eucaliptos entre otros; se las puede encontrar principalmente sobre los troncos y ramas laterales debido a que sus raíces solo se adhieren a la planta huésped, sin extraer de la planta hospedera nada, ya que estas se alimentan a través de la lluvia y materia orgánica que se encuentra en las raíces de la misma planta y la corteza del árbol donde habitan. Estas florecen en los meses de marzo, abril y mayo (Bolaños, 2013).

#### **4.2.4. Importancia de la especie *Tillandsia emergens* al ecosistema**

En una investigación realizada por Labus y Abel, (2011) mencionan de un estudio ecofisiológico del género *Tillandsia* en el Ecuador, en donde estas plantas son de gran importancia para el ecosistema ya que contribuyen a sostener las cadenas tróficas de organismos, bacterias, algas, musgos, plantas vasculares protozoos, hongos, invertebrados y algunos vertebrados. Orozco, (2011) dice que esto se da debido a que estas *Tillandsias* poseen unos tanques de almacenamiento de agua y nutrientes que proporcionan el principal medio de nutrición para todos los organismos que están con esta especie.

#### **4.3. Evaluación ecológica rápida**

Es una técnica de evaluación rápida, que se lleva a cabo en el menor tiempo posible, para evaluar la diversidad biológica existente; con el fin de obtener datos reales y aplicables según el propósito de estudio (Iñiguez, 2010).

Monterrosa, (2009) en una investigación de epífitas del género *Tillandsia* realizó una evaluación ecológica rápida, con el fin de obtener información cualitativa y cuantitativa de las

especies en estudio, por lo cual se determinó realizar 5 transectos de 50x2 metros cada 100 msnm en el Parque Nacional San Diego.

#### **4.4. Clave dicotómica**

Al hablar de una clave dicotómica Vilches y Legarralde, (2012) dicen que es un esquema de caracterización preciso de distintos organismos que ayuda a distinguir la familia, género, especie a la que pertenece el espécimen en estudio, esta clave consta de diversos ítems en los cuales tienen diferentes opciones a escoger, solo elige una opción de manera ordenada y secuencial, de esta manera se identifica al organismo que se está analizando.

#### **4.5. Transecto**

Es un método de muestreo, observación y registro de datos, que se utiliza para hacer un análisis detallado de ciertos parámetros a medirse dentro de una línea recta que contenga un mismo tipo de vegetación. Generalmente en este método se miden parámetros como altura de la planta, DAP (diámetro a la altura del pecho), abundancia y frecuencia (Gutierrez y Mostacedo, 2012).

Pacheco y Bernal, (2012) describen un muestreo de epífitas en la Reserva Natural Palmarí, en la cual se realizó 4 transectos cada 10 x 100 m en un bosque secundario, además dicen que para cada uno de los transectos muestreados se registró el CAP (Circunferencia a la altura del Pecho), categoría taxonómica de cada uno de los individuos encontrados, cuantificación de la cantidad e identificación de epífitas vasculares encontradas.

Se encontraron 423 individuos epífitos de los cuales las familias de epífitas más abundantes fueron Aracaceae, Pteridaceae y Marcgraviaceae (Vergara y Flores, 2010).

En una investigación de muestreo de epífitas Mendoza, (2010) realizó 4 transectos de 2x50 m cada 200 m con el fin de cuantificar la cantidad de bromelias epífitas existentes en el Parque

Nacional Cueva de los Guácharos se registró datos como el DAP (Diámetro a la Altura del Pecho), altura de la planta, abundancia y frecuencia de las bromelias epífitas.

Magurrán, (2011) indicó que se encontró un total de 1597 bromelias epífitas de las cuales en menor abundancia son las del género *Tillandsia*.

#### **4.6. Propagación in vitro**

Es un método excelente y eficaz para propagar plántulas de cualquier tipo de especie; con el propósito de desarrollar un individuo completo a partir del aislamiento de órganos, tejidos o células vegetales con el fin de obtener respuestas fisiológicas o morfológicas de dichos explantes (Zamora y Juárez, 2008).

A nivel mundial existen pocos trabajos de propagación in vitro del género *Tillandsia* por lo cual Sandoval, (2011) propuso germinar in vitro tres especies de este género a partir de semillas durante 13 meses, en los cuales se produjeron múltiples brotes. Estos medios de cultivo se realizaron con diferentes concentraciones de MS (Murashige y Skoog) completo y a la mitad de sus concentración, suplementados con diferentes combinaciones de BAP (Bencil amino purina) y ANA (Ácido naftalénico acético) que son hormonas reguladoras de crecimiento), agregando de  $0,5 \text{ g.l}^{-1}$  o  $1 \text{ g.l}^{-1}$ . En cambio en un ensayo realizado de cultivo in vitro para propagar especies de *Tillandsia cyanea* a partir de semillas Cueva, (2011) menciona que esta germinación dio resultados a los dos meses de su siembra in vitro, aquí utilizaron sales de MS en diferentes concentraciones, además de hormonas reguladoras de crecimiento (BAP y ANA), suplementados con sacarosa al 3% y agar gel ( $7 \text{ g.l}^{-1}$ ), por lo cual en el medio de cultivo con sales de MS ( $4,3 \text{ g.l}^{-1}$ ) completas se obtuvo 88,9 % de germinación del hipocótilo y en el medio de MS ( $2,15 \text{ g.l}^{-1}$ ) con la mitad de concentración tuvo el 100% de la germinación del hipocótilo en la especie de *Tillandsia cyanea*.

Labus y Abel, (2011) realizaron una investigación de propagación in vitro con el fin de conservar especies nativas del género *Tillandsia spp* para evitar su extinción, por lo cual se

empleó embriones inmaduros que fueron sembrados posteriormente en un medio de cultivo in vitro.

Esta técnica fue exitosa al momento de conservar especímenes del género *Tillandsia*, ya que trajo una alta tasa de multiplicación de plantas regeneradas en el transcurso de seis meses.

En las últimas décadas esta técnica de propagación in vitro ha ganado especial interés para muchos científicos al momento de producir cultivos más sanos con características genéticas específicas. Según Sandoval, (2011) existen diferentes tipos de respuestas de la propagación in vitro para formar los diferentes órganos o tejidos que se desee obtener, los cuales son:

**Organogénesis o embriogénesis directa.-** Es una respuesta morfogénica que consiste en la formar directamente órganos o embriones (Albarrán, 2012).

**Organogénesis o embriogénesis indirecta.-** Es una desdiferenciación celular que da lugar al crecimiento de una masa amorfa de células llamada callo, la cual en condiciones favorables es capaz de generar órganos o embriones somáticos, denominados de esta manera debido a que son estructuras semejantes a un embrión pero estas no son originadas por la unión de gametos (Albarrán, 2012).

La preparación del medio cambia según el propósito deseado, sea un tejido diferenciado (órganos o embriones) o desdiferenciado (callo), con el fin de que las células recuperen su estado meristemático (Bolaños, 2013).

En estudios realizados acerca de organogénesis Calderón, Restrepo, y Urrea, (2011) han determinado que para tener éxito en el ensayo va a depender principalmente de cuatro factores: elección de los explantes, características físicas del medio de cultivo, la composición química y control del ambiente del cultivo, por lo cual el factor determinante para la organogénesis es la composición del medio de cultivo, los compuestos esenciales de este medio son: sales minerales, azúcares, vitaminas, reguladores de crecimiento.

#### **4.7. Medio de cultivo**

El medio de cultivo Murashige y Skoog fue utilizado por primera vez en 1962 por los científicos Murashige y Skoog, en una investigación para obtener callos de tabaco (*Nicotiana tabacum*), logrando conseguir resultados superiores en comparación a otros medios elaborados, a partir de estos resultados se ha utilizado de manera frecuente en todo tipo de propagación in vitro (Huertas, 2014).

Los medios de cultivo constituyen un factor elemental en el desarrollo de la propagación in vitro, debido a que están formados de una serie de componentes, cuya concentración y presencia depende del fin que se persiga conseguir con la utilización de estos. Estos medios pueden ser semisólidos o sólidos, los cuales tienen sustancias minerales, vitaminas, aminoácidos, azúcares, hormonas, etc. (Orozco, 2011).

##### **4.7.1. Soporte utilizado en el medio de cultivo**

Un medio de cultivo para propagación in vitro de *Tillandsias* puede ser semisólido o sólido, según la concentración del soporte que presente el medio de cultivo, estarán compuestos de distintos componentes que funcionan como solidificantes y mantienen el material propagado en la superficie. Existen varias sustancias que se utilizan en este proceso pero la más conocida es el agar (Orozco, 2011).

Según Cuadra, (2010) El agar es un compuesto que solidifica el medio dando un aspecto sólido o semisólido dependiendo de la cantidad que se utilice, esta sustancia tiene una composición variable, por la cual podría aportar oligoelementos esenciales para el crecimiento de cualquier explante sembrado en un medio de cultivo in vitro.

Las concentraciones de agar utilizadas en un medio de cultivo en la siembra de explantes del género *Tillandsia* varían entre 7 a 12 g.l<sup>-1</sup>, con la finalidad de obtener un medio que brinde soporte (Aragón, 2015).

#### **4.7.2. Componentes minerales**

Los minerales esenciales para el desarrollo de la vida de especies vegetales se dividen en macroelementos (carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo, calcio, magnesio, potasio, azufre) y los microelementos (hierro, cobre, zinc, manganeso, molibdeno, cobalto y boro) utilizados en pequeñas cantidades (Bolaños, 2013).

Según Calderón, Restrepo, y Urrea, (2011) dicen que el requerimiento de minerales varía según la naturaleza del tejido, el estado fisiológico de la especie, el método de cultivo empleado y el tipo de organogénesis que se desea estudiar; por lo cual se debe aportar en un medio de cultivo grandes cantidades de macro y microelementos.

Por esta razón con el transcurso del tiempo dos científicos desarrollaron un medio de cultivo ya preparado que contenía todos los elementos esenciales que debía tener un medio de cultivo al que denominaron MS (Murashige y Skoog), medio de cultivo eficaz a otros medios utilizados anteriormente, el cual ayuda a comenzar la organogénesis del explante cultivado de forma *in vitro* (González y Mollogón, 2013).

- **Medio MS (Murashige y Skoog)**

Este medio de cultivo ha sido muy eficiente en cultivos *in vitro* de bromelias, el cual al utilizarse conjuntamente con fitohormonas adecuadas (auxinas, citoquininas) lleva a conseguir el éxito que requiere el método de cultivo *in vitro* de multiplicar masivamente especies vegetales a partir de sus explantes (Tierrafría y Cruz, 2012).

Este medio está compuesto por diferentes cantidades de macro y micronutrientes, como se puede observar la Tabla 2.

Tabla 2

*Compuestos que forman el medio de cultivo Murashige y Skoog*

<b>Macronutrientes</b>	
Nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	1650 $\text{mg.l}^{-1}$
Cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	440 $\text{mg.l}^{-1}$
Sulfato de magnesio pentahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	370 $\text{mg.l}^{-1}$
Fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	170 $\text{mg.l}^{-1}$
Nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ )	1900 $\text{mg.l}^{-1}$
<b>Micronutrientes</b>	
Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	6.2 $\text{mg.l}^{-1}$
Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	0.025 $\text{mg.l}^{-1}$
Sulfato cúprico pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.025 $\text{mg.l}^{-1}$
Sulfato ferroso heptahidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	27.8 $\text{mg.l}^{-1}$
Sulfato de manganeso tetrahidratado ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	22.3 $\text{mg.l}^{-1}$
Yoduro de potasio (KI)	0.83 $\text{mg.l}^{-1}$
Molibdato de sodio dihidratado ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.25 $\text{mg.l}^{-1}$
Sulfato de zinc heptahidratado ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	8.6 $\text{mg.l}^{-1}$
EDTA disódico dihidratado ( $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	37.2 $\text{mg.l}^{-1}$

Nota. Recuperado de “Regeneración de especies del género *Tillandsia* a través del cultivo in vitro”, Labus y Abel, (2011)

#### 4.7.3. Componentes orgánicos

En un medio de cultivo se utilizaba diferentes componentes orgánicos como pueden ser los azúcares, vitaminas, y hormonas reguladoras de crecimiento (Huertas, 2014).

### a) Azúcares

Los azúcares son indispensables en un medio de cultivo, entre los más utilizados Los azúcares tenemos a la sacarosa y la glucosa. La cantidad de azúcar que puede tener un medio de cultivo en bromelias puede variar de 20 a 50 g. l<sup>-1</sup>, depende de la especie vegetal y el tipo de cultivo; estos azúcares poseen una acción metabólica y energética (Aragón, 2015).

### b) Vitaminas

Son compuestos que contribuyen con el crecimiento de los tejidos en una propagación in vitro; las cuales tenemos a la tiamina, ácido ascórbico y ácido cítrico (Cuadra, 2010).

- **Tiamina.**- Es una vitamina que ayuda al desarrollo de células vegetales, además contribuye en la síntesis de citocininas (Labus y Abel, 2011).
- **Ácido ascórbico y ácido cítrico.**- Estos compuestos en la mayoría de los medios de cultivos son empleados como antioxidantes no como vitaminas, que impiden el oscurecimiento de los tejidos (Labus y Abel, 2011).

### c) Hormonas reguladoras de crecimiento

Según Bolaños, (2013) manifiesta que estas hormonas son esenciales para el crecimiento óptimo de la planta en cultivo in vitro, las cuales actúan como comunicadores intercelulares de las plantas, ya que los receptores que tienen las células se utilizan para enviar información de cada proceso de diferenciación celular.

Estas hormonas se dividen en 5 grandes grupos los cuales son: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno. En ensayos realizados de cultivo in vitro se utiliza principalmente auxinas y citoquininas, ya que son las primordiales para que la planta realice el proceso de organogénesis (Mroginski y Roca, 2010).

- **Auxinas.-** Son compuestos que se sintetizan a partir del triptófano que es un aminoácido, estas hormonas regulan el crecimiento, la división celular y la diferenciación de las raíces en los cultivos in vitro (Bolaños, 2013).  
Según Calderón, Restrepo, y Urrea, (2011) dicen que la principal auxina utilizada en propagación in vitro de *Tillandsias* es el ácido naftalénico acético (ANA), que es una hormona fuerte que se emplea para inducir la rizogénesis, además existen otras auxinas pero débiles que se utilizan en cultivos in vitro *Tillandsias* de igual manera, como el ácido 3-indolacético (AIA), o como el ácido 3-indol propiónico (AIA)
- **Citoquininas.-** Estas hormonas se derivan de la adenina, intervienen en la división celular en tejidos vegetales, además estimulan a la formación de órganos en cultivos in vitro de cualquier especie vegetal (Albarrán, 2012). Las citoquininas usadas con mayor frecuencias en propagación in vitro de Bromelias son la kinetina (KIN), bencil amino purina (BAP), la 2-isopenteniladenina (IP). La principal citoquinina que se utiliza en cultivo in vitro de *Tillandsias* es el BAP, debido a que es de bajo costo en comparación de las demás hormonas (Aragón, 2015).

#### **4.8. Importancia de la conservación de especies en un herbario**

En un herbario se conservan plantas, partes de plantas secas o herborizadas con su debida información de cada una de las especies encontradas, por lo cual en un herbario se encuentra semillas, frutos, pétalos y fotografías, esto ayudará para posteriores estudios e investigaciones de la sociedad, de esta manera se contribuye a mantener una amplia variabilidad genética de diferentes especies in vivo para diversas investigaciones de caracterización morfológica y molecular, con el fin de preservar estas plantas a través de los años en estado natural (SAGARPA, 2016).

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS.-**

Esta investigación tuvo dos fases una de campo y otra de laboratorio. La fase de campo se realizó en la provincia de Imbabura, Cantón Antonio Ante, Parroquia de San Roque entre las comunidades de Cerotal, Pucará, Jatun Rumi y La Esperanza, mientras que la fase de laboratorio se hizo en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra.

### **5.1. Materiales de campo**

- Flexómetro
- GPS
- Clinómetro
- Piola
- Estacas
- Martillo
- Fundas de papel
- Cooler
- Libreta de apuntes
- Registro clave dicotómica

### **5.2. Materiales y equipos laboratorio**

#### **Material botánico (insumos)**

- Especímenes de la especie *Tillandsia emergens*.

#### **Materiales**

- Vasos de precipitación

- Cajas petri
- Tijeras
- Bisturí
- Pinzas
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Parafilm
- Guantes
- Mascarillas
- Gorro quirúrgico
- Calibrador

### **Equipos**

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Cámara germinadora de semillas
- Balanza analítica

### **Reactivos**

- Ácido naftalénico acético (ANA)
- Bencil amino purina (BAP)
- Agar
- Sacarosa
- Murashage y Skoog
- Tween 20
- Hipoclorito de sodio
- Alcohol
- Fungicida Benlate

- Agua destilada

### **5.3. Metodología**

#### **5.3.1. Metodología para la fase de campo**

Esta investigación se realizó en el cantón Antonio Ante, parroquia de San Roque entre las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y La Esperanza; con el fin de georeferenciar la zona de estudio y obtener especímenes de la especie *Tillandsia emergens*.

##### **a) Caracterización de la zona de estudio**

Se inició realizando una evaluación ecológica rápida en la cual se recogió datos de la flora existente en el lugar a partir de los 2500 a 3100 msnm. Tierrafría y Cruz, (2012) mencionan que en estos pisos altitudinales se desarrolla esta especie.

Esta evaluación ecológica rápida se hizo en base a la metodología propuesta por Cerón, (2014) que realizó una “Evaluación de epífitas en bosques andinos del Ecuador a través de transectos”, por la cual se comenzó recorriendo toda la zona evaluando los sitios de mayor incidencia de la especie y se tomó puntos de muestreo de referencia con el GPS cada 100 msnm a partir de los 2500 msnm hasta donde haya rastro de la especie dentro de la zona de estudio.

Cerón, (2014) Posteriormente se elaboró un mapa de ubicación de la parroquia de San Roque, luego se tomó tres puntos principales de incidencia de la especie dentro de esta zona, se realizó en estos puntos tres transectos de los cuales se hizo diferentes mapas de representación del área de estudio fue un mapa base, mapa de puntos de muestreo, mapa de vegetación y otro

mapa de uso de suelo. Estos mapas fueron elaborados con el fin de identificar la zona de estudio y a la vez saber específicamente donde se encontró la especie *Tillandsia emergens*, el tipo de vegetación, suelo y cuál fue la incidencia en esta zona.

#### **b) Transectos**

Para realizar los transectos en la investigación se basó en la metodología propuesta por Foster y Hernández, (2014) mediante la cual según los datos obtenidos en campo a través de la evaluación ecológica rápida, se procedió a realizar 3 transectos en línea recta de 50x2 m, cada 200 metros a partir de los 3000 msnm, esta medida de los transectos y la distancia que se tomó para cada uno de ellos, fue debido a que según estudios realizados por estos autores es una muestra representativa para dar a conocer la biodiversidad de especies, que en este caso fue conocer si la especie *Tillandsia emergens* es abundante o no y en que cantidad se encuentra la especie en esta zona, estos transectos fueron localizados entre las comunidades de Cerotal, Jatun Rumi, Pucará y La Esperanza. En cada transecto se censaron las especies forestales existentes, de las cuales se tomaron datos como: diámetro a la altura del pecho (DAP), altura máxima de la especie, distancia de separación entre especies, registro de las especies forestales encontradas y conteo de la planta epífita en estudio *Tillandsia emergens*.

Estos datos se tomaron con el fin de saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie *Tillandsia emergens* en cada uno de los transectos realizados, por la cual primeramente se basó en la metodología realizada por Artigas y Díaz, (2013) acerca de un “Muestreo en transecto de formaciones vegetales de fanerófitos y epífitas en la Reserva Comunal el Sira”, a partir de esta investigación se desarrolló la metodología para tomar los datos en cada uno de los transectos, por la cual se detalla a continuación:

## Toma de datos

- Se inició tomando los datos en el transecto 1, con la identificación de cada una de las especies forestales existentes mediante catálogos de herbario, otro investigador como Cerón, (2014) que hizo un “Manual de botánica sistemática” concuerda con Artigas y Díaz, (2013) que es la mejor manera de identificar las especies.
- Para obtener la altura de cada individuo se midió con un clinómetro, este instrumento se sostuvo con la mano (la persona se colocó perfectamente recta en un punto definido en dirección hacia el árbol a medirse, en este caso la separación fue de 5 m), se colocó a la altura de los ojos y se miró en dirección hasta la copa del árbol, aquí se formó un ángulo de elevación entre el árbol y el suelo, se ajustó la burbuja del clinómetro y se leyó la pendiente en una escala graduada es decir los resultados se obtuvo en grados (Artigas y Díaz, 2013).
- Luego se procedió a transformar los datos en metros, para esta transformación se aplicó la siguiente fórmula  $h=d + b \times \tan (a)$ .  
Donde d es la altura de la persona que midió, b es la distancia entre en línea recta de la persona y el árbol en este caso 5 m y la letra a simboliza al ángulo tomado con el clinómetro (Cerón, 2014).
- Seguidamente se tomó las medidas del DAP (Diámetro a la altura del pecho) en cada uno de los individuos censados; para eso con una cinta diamétrica se midió alrededor del tronco a una altura tomada desde la base del suelo hacia arriba de 1,3 m, para facilitar este proceso se elaboró una estaca de esta medida (1,3m), con la cual se fue midiendo a cada uno de los individuos y se tomó la medida del DAP a esa altura (Foster y Hernández, 2014).

- Según Foster y Hernández, (2014) este dato es utilizado para calcular el área basal y volumen del tronco de los árboles, pero este autor nos dice que también mediante el DAP promedio se puede tener la edad aproximada de los árboles, si va desde 0,25 a 0,50 tendrán una edad promedio de 50 años, por lo cual tomando en cuenta la metodología aplicada por este autor conjuntamente con una investigación realizada por Artigas y Díaz, (2013) se decidió basarse en estas metodologías para la presente investigación, por lo cual el DAP fue medido con el fin de tener la edad promedio de los individuos censados que tienen de hospedero a la especie *Tillandsia emergens*.
- Finalmente con una cinta métrica se midió la distancia de separación entre individuos; y por último se hizo un conteo de la especie *Tillandsia emergens* en cada uno de los individuos censados para saber cuantas especies existieron y en que parte de la planta se encontraron. Este proceso se realizó de igual manera para el transecto 2 y 3.

### c) **Identificación taxonómica de la especie *Tillandsia emergens***

Para la identificación taxonómica de la especie *Tillandsia emergens* se basó en información bibliográfica de diferentes autores como Bogh, (2011), revisión de catálogos de plantas vasculares de Iñiguez, (2010), además se llevó a campo fotografías de la especie en estudio y una hoja denominada clave dicotómica, esta tuvo un código de identificación Herbario-ECAA N° 0000702, en la cual se encontraron diversos ítems, con los caules se describió a todas las partes de la planta y en que sitios se encontró, esta fue elaborada por el herbario de la PUCE-SI.

Los ítems que se detallan en la clave dicotómica se observan a continuación:

#### **Datos del hábitat**

- País, Provincia, Cantón, Parroquia
- Localidad, Nombre del predio, Propietario
- Localidad del sitio (km)- Norte/Sur

- Latitud, longitud
- Temperatura, Humedad, Luz
- Vegetación de los alrededores

### **Datos de la especie**

- Descripción Vegetativa de la planta
- La población está aislada de otras: Si..... No.....
- Estado fenológico de la población
- Uso del material
- Parte de la planta utilizada
- Fotografía: Si..... No.....
- Ejemplar de herbario: Si..... No.....
- Método de muestreo

Todos estos datos fueron recopilados en campo, con el fin de la identificación taxonómica de la especie *Tillandsia emergens* (Bogh, 2011).

### **d) Colecta de las especies**

Según Cuadra, (2010) para realizar un cultivo in vitro del género *Tillandsia* a partir de cualquier explante de estas especie, recomienda recolectar de 3 a 5 individuos debido a que la mayoría de estas plantas se encuentran en estado vulnerable, como es el caso de nuestra especie en estudio, y además considera que estas muestras son suficientes para realizar ensayos de cultivo in vitro y conseguir el éxito que se espera, por lo cual para esta investigación se recolectó cinco individuos de la especie *Tillandsia emergens*, estos fueron encontrados en el tronco o ramas laterales de especies de pino, eucalipto, molle y jacaranda, cada uno de los individuos fueron puestos en una funda de papel y sellados.

### **e) Muestra de Herbario**

Para obtener la muestra de herbario se basó en la metodología realizada por SAGARPA, (2016) que habla de la importancia de los herbarios y las colecciones de trabajo para especies ornamentales y Mendoza, (2010) que menciona una investigación acerca de un manual de métodos para el desarrollo de la biodiversidad, mediante la cual se realizó los siguientes pasos que se detallan a continuación:

- **Prensado**

Se colocó con mucho cuidado la muestra de una planta completa de la especie *Tillandsia emergens* entre hojas de papel periódico, se aseguró que las hojas de la planta estén en un sentido haz-envés, con el fin de observar de ambos lados las formas de las hojas, luego se puso encima una hoja de papel absorbente y cartón; todo esto fue colocado entre dos láminas de madera y se amarró fuertemente con un cordón, de esta manera se tuvo lista la prensa (SAGARPA, 2016).

- **Secado**

Este prensado fue llevado al herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra, en la cual se lo colocó en un horno de secado a una temperatura promedio de 50 a 70 °C por 2 horas (Mendoza, 2010).

- **Montaje**

Luego de obtener ya la muestra seca se procedió al montaje de esta; se puso sobre una cartulina blanca formato A3 (29,7 x 42cm), se sujetó con pequeñas puntadas con hilo

blanco teniendo cuidado de no dañar la cartulina, además se la fijó a esta con pequeñas tiras de papel engomado (Mendoza, 2010).

- **Etiquetado**

Para identificación de la especie se elaboró una etiqueta de herbario, la cual se describieron datos representativos de la especie como:

- Nombre científico
- Nombre común
- Nombre de quién colectó
- Descripción general de la especie
- Fecha de colecta
- Sitio de colecta

Es etiqueta fue colocada en la parte inferior izquierda de la cartulina; además se colocó un sobre de papel boom de 8 x 9 cm en la parte inferior derecha de esta, el cual sirve para guardar semillas de la especie (Mendoza, 2010).

- **Codificación**

Lista la muestra de herbario se procedió a colocar un código para identificación de la misma; este fue asignado según la secuencia que tiene el Herbario certificado de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra; para que conste en la base de datos de la institución (SAGARPA, 2016).

- **Transporte de los explantes para realización de la fase de laboratorio**

Las muestras colectadas (muestras en fundas de papel), fueron colocadas dentro de un cooler de plástico, las cuales se las llevó al sitio de estudio que en este caso es el laboratorio de biotecnología de la PUCESI (Artigas & Díaz, 2013).

### **5.3.2. Metodología para la fase de laboratorio**

#### **a) Desinfección de los explantes**

Este ensayo se inició con la desinfección de los explantes (hojas jóvenes, yemas, semillas); los cuales tuvieron diferentes procesos que se detallan a continuación:

- **Desinfección de las hojas jóvenes y semillas**

Para la desinfección de los explantes se basó en la metodología de Labus y Abel, (2011) que realizaron “Regeneración de especies del género *Tillandsia* a través de propagación in vitro” por la cual se comenzó realizando un lavado superficial con jabón yodado y agua potable; luego en condiciones asépticas se preparó una solución con fungicida Benlate ( $1\text{g.l}^{-1}$ ), donde fueron introducidos los explantes a una agitación continua por 30 minutos; después fueron puestos en una solución de etanol al 70% por 25 segundos; seguido se los colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 1% con cuatro gotas de Tween por 15 minutos; y por último se les hizo tres enjuagues con agua destilada estéril. Posteriormente en el caso de las hojas jóvenes fueron cortadas de 3 a 5 mm y las semillas fueron sacadas de la cápsula donde se encontraban realizando un corte con ayuda de bisturí estéril; dejándolos listos para la siembra in vitro.

- **Desinfección de las yemas**

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

- b) Preparación del medio de cultivo**

Este medio de cultivo se preparó en base a la metodología empleada por Sagastume, (2013) en una investigación de “Propagación in vitro de 3 géneros de *Tillandsias* en vías de extinción y de potencial uso sostenible”. Para la preparación del medio cultivo se utilizó agar ( $7\text{g.l}^{-1}$ ), sacarosa ( $30\text{g.l}^{-1}$ ), Murashige y Skoog ( $4,3\text{g.l}^{-1}$ ), hormonas reguladoras de crecimiento ANA y BAP ( $10\text{mg.l}^{-1}$ ); suplementados con antioxidantes ácido cítrico y ácido ascórbico ( $100\text{mg.l}^{-1}$ ); esto se colocó en un frasco ámbar de 250 ml con agua destilada. Posteriormente se esterilizó este medio y todos los materiales de laboratorio que se utilizó para la siembra in vitro, se colocó en el auto clave a una temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$  con 1,5 atmósferas de presión, por 1h15min para su total esterilización.

- c) Siembra in vitro**

Para la siembra in vitro de los explantes se tomó en cuenta la metodología empleada por Aragón, (2015) que realizó un estudio de la “Propagación in vitro de la especie *Tillandsia spp* en sistemas de inmersión temporal”, mediante la cual se procedió a colocar los materiales ya previamente esterilizados en la cámara de flujo laminar por 10 minutos sometidos en UV para su esterilización completa; luego de esto en condiciones asépticas se puso 2 lámparas de alcohol encendidas dentro de la cámara de flujo laminar.

Se esparció 5ml de medio de cultivo sobre las cajas petri para la siembra de los explantes (yemas, semillas y hojas jóvenes). Se esperó 15 minutos para la solidificación del medio y se procedió a la siembra in vitro. Esta siembra in vitro se hizo en condiciones asépticas, tanto de los materiales como de la persona que sembró, pues esto garantizó gran parte el éxito del ensayo (Sagastume, 2013).

Para la siembra de las hojas se colocó 5 segmentos de 3 a 5 mm en el medio de cultivo de las cajas petri, esto se hizo en un total de 3 repeticiones, luego con las yemas ya preparadas rápidamente se procedió a colocar 5 de estas en cada caja petri, de igual manera se hizo tres repeticiones y finalmente se realizó la siembra de las semillas, donde se tomó 5 de estas con la ayuda de una pinza estéril, luego cada una fue sembrada en las cajas petri, de igual forma se hizo tres repeticiones de la siembra; todas las cajas petri fueron selladas con parafilm, todo esto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar (Calderón, Restrepo, y Urrea, 2011).

Finalmente todos estos medios de cultivo fueron colocados dentro de una germinadora con temperatura de 25°C, fotoperiodo de 16 horas luz, 8 oscuridad y un porcentaje de humedad del 55% durante un periodo de 30 días. Transcurrido este tiempo se los llevó al cuarto de tejidos vegetales, encontrado en el laboratorio de biotecnología de la PUCESI, aquí se los colocó en un stands con luces de encendido automatizado (16 horas luz-8horas oscuridad), este stands se lo cubrió en su totalidad con plástico que evitó la contaminación del ambiente, además se colocó un termómetro de mercurio que midió la temperatura ambiente la cual estuvo de 25 a 27°C; además se puso dos vasos de precipitación de 1000 ml con agua destilada para mantener un ambiente húmedo en un periodo de dos meses (Aragón, 2015).

## 5.4. Métodos

### 5.4.1. Diseño experimental

En esta investigación se realizó el Diseño Experimental Completamente al Azar con nueve unidades experimentales, tres tratamientos y tres repeticiones.

Por la cual se procedió probando los supuestos del análisis de la varianza, en este caso se realizó la normalidad de los errores por medio de la prueba de Shapiro-Wilk, la cual demostró un desvío importante del supuesto de normalidad. Ante esta situación se procedió a realizar transformaciones, manteniéndose el mismo resultado, es decir aun con el uso de transformaciones no hubo normalidad promedio detectada por la prueba de Shapiro-Wilk, es por ello que se decidió utilizar la prueba no paramétrica para de Kruskal-Wallis.

Para la obtención de las unidades experimentales se hizo la propagación in vitro utilizando tres tipos de explantes diferentes que son; hojas jóvenes, semillas y yemas; de los cuales se determinó cual es el mejor explante midiendo la longitud, sobrevivencia y número de brotes.

### 5.4.2. Variables Independientes o Tratamientos

Los tratamientos empleados en la siguiente investigación fueron los siguientes:

Tabla 3

*Descripción de los tratamientos realizados en la investigación*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>
Tratamiento 1	Yemas
Tratamiento 2	Semillas
Tratamiento 3	Hojas jóvenes

Nota. Datos obtenidos por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Como indica la Tabla 3 se tuvo tres variables independientes o tratamientos, los cuales fueron de yemas, semillas y hojas jóvenes de la especie *Tillandsia emergens*, que se detallan a continuación:

- **Tratamiento 1 (Yemas)**

Este tratamiento es un explante de la especie *Tillandsia emergens*, se tomó en un total de 15 yemas de dicha planta, debido a que este tratamiento constó de 3 unidades experimentales y cada unidad se formó de 5 yemas sembradas in vitro en frascos de 50 ml. Para la medición de este tratamiento se basó en la metodología realizada por González y Mollogón, (2013) que habla del “Efecto del medio de cultivo in vitro y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento de bromelias“, por la cual a partir de la siembra in vitro se esperó 90 días , finalizado este tiempo a cada una de las unidades experimentales se midió el número de brotes, longitud del explante y sobrevivencia, los datos obtenidos fueron comparados con los demás explantes con el fin de saber cual fue el tratamiento que tuvo los mejores resultados.

- **Tratamiento 2 (Semillas)**

Este tratamiento fue de semillas de la especie *Tillandsia emergens*, se tomó en un total de 15 semillas de dicha planta, debido a que este tratamiento de igual manera constó de 3 unidades experimentales y cada una de estas constó de 5 semillas sembradas in vitro en cajas petri. Para la medición de este tratamiento se basó en la metodología realizada por González y Mollogón, (2013). Por la cual a partir de la siembra in vitro se esperó 90 días , finalizado este tiempo a cada una de las unidades experimentales se midió el número de brotes, longitud del explante y sobrevivencia, los datos obtenidos de igual manera fueron comparados con los demás explantes con el fin de saber cual fue el tratamiento que tuvo los mejores resultados.

- **Tratamiento 3 (Hojas jóvenes)**

Este tratamiento es un explante de la especie *Tillandsia emergens*, se tomó en un total de 15 trozos de hojas jóvenes que tuvieron una medida de 3 a 5 mm, de igual forma este tratamiento constó de 3 unidades experimentales y cada unidad se formó de 5 trozos de hojas sembradas in vitro en cajas petri. Para la medición de este tratamiento se basó en la metodología realizada por González y Mollogón, (2013) por la cual a partir de la siembra in vitro se esperó 90 días, acabado este tiempo a cada una de las unidades experimentales se midió el número de brotes, longitud del explante y sobrevivencia, los datos obtenidos fueron comparados con los demás explantes con el fin de saber cual fue el tratamiento que tuvo los mejores resultados.

#### **5.4.3. Unidades experimentales**

Cada uno de los tratamientos (yemas, semillas y hojas jóvenes) constó de tres unidades experimentales, por la cual se utilizó 9 cajas petri, en todas las cajas petri se colocó 5ml de medio de cultivo, con la diferencia que en la tres primeras cajas se puso 5 pequeños trozos de yemas, luego en las tres cajas siguientes, se colocó 5 semillas en cada una de estas y finalmente en las tres últimas cajas se puso 5 pequeños trozos de hojas jóvenes en cada una. De esta manera se conformó cada unidad experimental que se tuvo en tu total de 9.

#### **5.4.4. Variables dependientes**

Durante el transcurso de la investigación se tomó en cuenta tres variables dependientes (número de brotes, longitud del explante y sobrevivencia) que ayudaron a comprobar cuál fue el mejor tratamiento utilizado, por cual se detalla a continuación (Tabla 4):

Tabla 4

*Descripción de las variables dependientes*

<b>Variable Dependiente</b>	<b>Unidades</b>
Longitud el explante	mm (milímetros)
Sobrevivencia	Unidad
Número de Brotes	Unidad

Nota. Datos obtenidos por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

**Descripción de las variables dependientes**

Las variables en estudio dentro de esta investigación se detallan a continuación:

- **Longitud del explante**

Para la medición de la longitud del explante se basó en la metodología empleada por González y Mollogón, (2013) que habla del “Efecto del medio de cultivo in vitro y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento de bromelias “, por estos fundamentos presentados esta variable se decidió medir a los 3 meses de su siembra in vitro, que es lo que recomienda estos autores ya que el explante se encuentra en etapa de crecimiento. Esta variable se midió a cada unidad experimental de yemas, hojas jóvenes y semillas, para esta medición se utilizó un calibrador, el cual se colocó a lo largo del brote formado, es decir desde donde inició el brote hasta su final; esto no se lo realizó en las hojas debido a que no se obtuvo ningún resultado.

- **Sobrevivencia**

Esta variable de igual manera se midió a los 90 días de la siembra in vitro, debido a que se basó de igual forma en la metodología utilizada por González y Mollogón, (2013) en donde para medir la sobrevivencia de los explantes se cogió con una pinza a cada una de la unidades experimentales y se fue observando cuales estaban vivas, es decir se hizo un conteo de forma manual en cada unidad experimental de yemas, hojas jóvenes y semillas.

- **Número de brotes**

Para la medición de la variable número de brotes se basó en la metodología realizada por Labus y Abel, (2011) acerca de la “Regeneración de especies del género *Tillandsia* a través de propagación in vitro”. Por la cual esta variable fue medida transcurrido 90 días a partir de la siembra in vitro, en donde se hizo un conteo de todos los brotes formados en cada una de las unidades experimentales de yemas, hojas jóvenes y semillas.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-**

### **6.1. Fase de campo**

Los resultados de la fase de campo fueron obtenidos en la provincia de Imbabura, cantón Antonio Ante, parroquia de San Roque en las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y la Esperanza; en donde se realizó diferentes procesos investigativos para cumplir con el objetivo de esta fase, de la cual se detallan a continuación:

#### **6.1.1. Descripción general de la zona de estudio**

Según la investigación realizada en campo y con la información que proporcionó Ramírez, (2014) que indicó el POT (Plan de Ordenamiento Territorial) de la Parroquia de San Roque perteneciente a la Provincia de Imbabura, Cantón Antonio Ante, se pudo afirmar que se encuentra ubicada a 4 kilómetros de la Capital Cantonal (Atuntaqui) y a la 18 km de la Capital Provincial (Ibarra); por lo cual se realizó un mapa base para identificación de la zona de estudio (Figura 1), el cual fue utilizado en la fase de campo de la investigación.

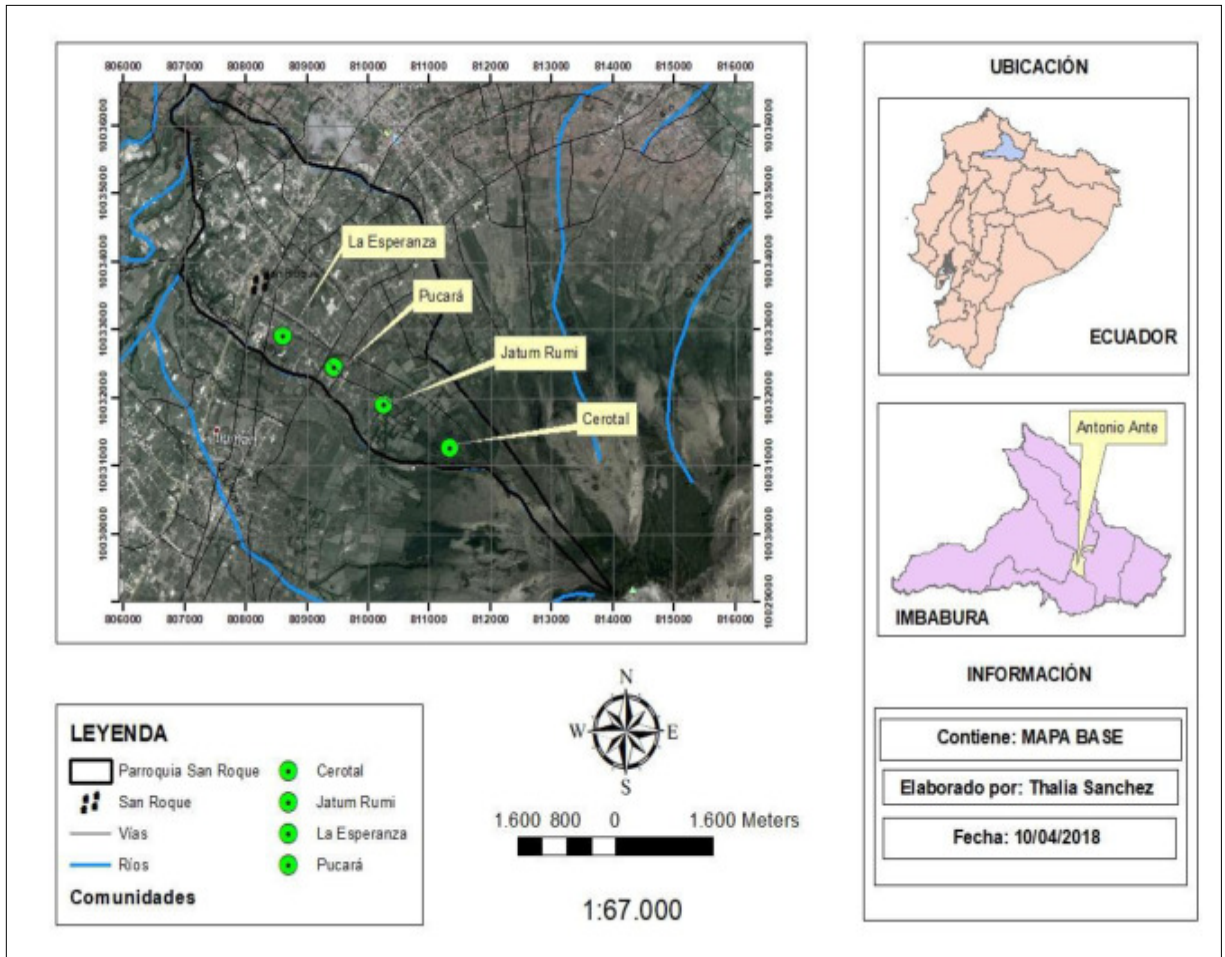


Figura 1. Mapa base para la identificación de la parroquia de San Roque. Fuente: (GAD Antonio Ante, 2018)

### 6.1.2. Características de la zona de estudio

Según los datos obtenidos en la fase de campo y fundamentados con información bibliográfica Ramírez, (2014) menciona la caracterización general de la parroquia de San Roque; mediante esto se corroboró los resultados logrados los cuales manifestaron que San Roque presenta un clima templado cálido en la parte baja que va desde los 2230 msnm hasta los 3120 msnm y un clima frío húmedo que va desde los 3120 msnm hasta los 4621 msnm en la parte alta; por la cual tiene una temperatura promedio entre 8 a 16°C; además tiene una pluviosidad de 850 a 1150 mm/mes.

Además los datos conseguidos a través de la evaluación ecológica rápida dieron a conocer que desde los 3100 a 2500 msnm, donde se localizó las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y La Esperanza, presentan una biodiversidad de flora y fauna nativa del lugar, en la cual habitan una variedad de especies de plantas epífitas debido a las características abióticas adecuadas (temperatura 8-15 °C, pluviosidad 850-1150 mm/mes) y favorables que tiene este sitio; por lo que se observó la existencia de la especie *Tillandsia emergens* durante el recorrido de esta zona, esta es una planta en estado vulnerable de la familia de las bromelias que por diversas causas se ha ido perdiendo con el transcurso del tiempo en la Parroquia de San Roque.

### **6.1.3. Transectos**

En los tres transectos realizados se tomó diferentes datos como fue la altura de la especie forestal, DAP (Diámetro a la altura del pecho), distancia entre especies y número de especies encontradas de *Tillandsia emergens*; estos resultados obtenidos se detallan a continuación en la Tabla 5, 6 y 7.

Tabla 5.

*Datos tomados en el transecto Transecto 1 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie Tillandsia emergens*

<b>N°</b>	<b>Altura de los individuos de <i>Pinus radiata</i> (m)</b>	<b>DAP de los individuos de <i>Pinus radiata</i> (m)</b>	<b>Distancia entre especies (m)</b>	<b>N° de Individuos encontrados de la especie <i>Tillandsia emergens</i></b>
1	20	0,30	2,5	1
2	30	0,38	1,5	0
3	25	0,35	2	0
4	20	0,32	2	1
5	35	0,51	1,8	0
6	35	0,53	2,4	2
7	35	0,53	1,5	0
8	15	0,19	2,5	3
9	20	0,29	2	0
10	30	0,45	2	1
11	30	0,46	1,5	1
12	30	0,45	1,8	0
13	30	0,45	1	1
14	25	0,35	1,5	0
15	20	0,32	1,5	0
16	20	0,33	1,5	0
17	35	0,54	2,3	0
18	35	0,53	0,9	3
19	40	0,57	1,1	0
20	40	0,59	1,6	0
21	35	0,53	1	0
22	35	0,51	1,6	0
23	35	0,51	2	2
Total	752,00	9,97	35,80	15
Promedio	29,35	0,43	1,28	

Nota. Datos obtenidos en campo por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Los resultados del Transecto 1, manifestaron que existieron 23 individuos de la especie *Pinus radiata*, los cuales presentaron una altura promedio de 29,35 m; un DAP de 1,36 m; y una distancia promedio entre especies de 1,72 m; en todo este transecto se encontró en un total de 11 especímenes de la planta *Tillandsia emergens*, se fue localizándose en el tronco de estos árboles. Los datos antes mencionados dieron a conocer que la especie *Tillandsia emergens* habitó en árboles de pino que tuvieron más 50 años de edad según los datos de altura y DAP, también se indicó que la especie *Tillandsia emergens* tiene poca incidencia en este hábitat debido a que está en estado vulnerable.

Comparando los resultados obtenidos con una investigación realizada por Gutierrez y Mostacedo, (2012) en un análisis de *Tillandsias* a través de transectos en una fracción de la Sierra Madre Oriental en árboles de pino-encino se dio a conocer que tomaron datos como el DAP, altura de especies forestales, incidencia de la especie *Tillandsia emergens* la cual fue en un 5% en comparación a otras especies del mismo género, por lo cual se afirmó que los resultados alcanzados son reales ya que de igual manera esta especie no fue abundante en esta zona debido a que se encuentra en estado vulnerable por los catástrofes naturales y por acción antrópica del hombre.

Tabla 6.

*Datos tomados en el transecto Transecto 2 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie Tillandsia emergens*

<b>N°</b>	<b>Altura de los individuos de <i>Eucalyptus globulus</i> (m)</b>	<b>DAP de los individuos de <i>Eucalyptus globulus</i> (m)</b>	<b>Distancia entre Especies (m)</b>	<b>N° de Individuos Encontrados de la especie <i>Tillandsia emergens</i></b>
1	33	0,38	1,2	0
2	15	0,19	0,5	0
3	20	0,25	0,8	0
4	20	0,25	1,5	3
5	27	0,35	9	0
6	25	0,29	1,2	0
7	30	0,32	1,5	2
8	35	0,40	0,5	0
9	38	0,45	0,6	0
10	25	0,29	1,5	0
11	30	0,32	1,5	0
12	15	0,16	0,8	1
13	15	0,16	0,9	0
14	15	0,16	0,9	0
15	35	0,38	1,5	0
16	33	0,38	1,5	0
17	35	0,38	1,2	2
18	34	0,38	1,5	0
19	25	0,29	1,2	0
20	20	0,24	0,6	3
21	15	0,19	1,5	0
22	30	0,32	1,1	0
23	25	0,29	0,7	1
24	23	0,27	0,9	0
25	31	0,32	0,5	0
26	34	0,38	1,2	0
Total	683,00	7,79	32,80	12
Promedio	26,26	0,29	1,28	

Nota. Datos obtenidos en campo por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Los resultados del Transecto 2, manifestaron que existieron 26 individuos de la especie *Eucalyptus globulus*, por lo cual presentaron una altura promedio de 26,26 m; un DAP de 0,29 m; y una distancia promedio entre especies de 1,26 m; se encontró en un total de 12 especímenes de la planta *Tillandsia emergens* localizándose en el tronco de estos. Los datos antes mencionados del transecto 2 indicaron que la especie en estudio se encontró en árboles de eucalipto que tuvieron un edad aproximada de 50 años según los datos de altura y DAP. Además que esta especie *Tillandsia emergens* no se encuentra en abundancia debido a que está en estado vulnerable; por los desastres naturales y por acción antrópica del hombre, ya que como esta en estado silvestre no hay control ninguno de la esta especie.

Se comparó los datos conseguidos con una investigación realizada por Hurtado y Orozco, (2017) acerca de la caracterización y distribución vertical de bromelias en ecosistemas de la selva sur de Perú a través de transectos, en la cual se manifestó que se tomaron datos del DAP, altura de la especie, listado de bromelias con su respectivo nombre científico, cuantificación de cada especie y por familia, donde se indicó que solo el 3% respresentó la incidencia de la especie *Tillandsia emergens* del total de las bromelias censadas localizadas sobre árboles de eucalipto y pino, de esta manera se corroboró los resultados obtenidos ya que de igual forma se da a conocer que esta especie no se encuentra en abundancia debido a que está vulnerable.

Tabla 7.

*Datos tomados en el transecto Transecto 3 para saber en qué clase de árboles habita y cuál es la incidencia de la especie Tillandsia emergens*

Nº	Especie	Altura (m)	DAP (m)	Distancia entre Especies (m)	Nº de Individuos encontrados de la especie <i>Tillandsia emergens</i>
1	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	10	0,35	3,5	3
2	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	12	0,45	4	2
3	<i>Schinus molle</i>	5	0,17	4,5	2
4	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	18	0,59	8	4
5	<i>Schinus molle</i>	15	0,48	4	2
6	<i>Schinus molle</i>	14	0,39	5	3
7	<i>Schinus molle</i>	17	0,58	4	4
8	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	12,5	0,29	3	2
9	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	10	0,24	5	2
10	<i>Schinus molle</i>	4	0,13	4	3
11	<i>Schinus molle</i>	5	0,16	5	2
Total	<i>Jacaranda</i>	62,5	1,92	23,5	13
Promedio	<i>mimosifolia</i>	12,5	0,38	4,7	
Total	<i>Schinus molle</i>	60	1,91	26,5	16
Promedio		10	0,32	4,42	

Nota. Datos obtenidos en campo por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Los resultados del Transecto 3, manifestaron que habitan dos especies diferentes en esta zona, por la cual existieron 5 individuos de la especie *Jacaranda mimosifolia* y 6 individuos de la especie de *Schinus molle* ; de esta manera la especie Jacaranda presentó una altura promedio de 12,5 m; un DAP de 0,38 m; y una distancia promedio entre especies de 4,7 m; y se encontró en un total de 19 especímenes de la planta *Tillandsia emergens* entre estos individuos; en cambio en la especie de Molle presentó una altura promedio de 10 m; un DAP de 0,32 m; y una distancia promedio entre especies de 4,42 m; y se encontró en un total de 22 especímenes de la planta *Tillandsia emergens* entre estos individuos.

La especie *Tillandsia emergens* se encontró en el tronco y ramas laterales en cada uno de los árboles que conformaron este transecto. Los datos antes mencionados manifestaron que la especie *Tillandsia emergens* se encontró en árboles de jacaranda y molle, en el caso de la especie Jacaranda fueron sembrados hace aproximadamente 50 años y los de molle de igual manera según los datos obtenidos de altura y DAP; además se afirmó que la especie *Tillandsia emergens* no se encuentra en abundancia debido a que está en estado vulnerable por los catástrofes naturales y por acción antrópica del hombre, ya que como se encuentra en estado silvestre no hay control ninguno de esta especie.

Se comparó los datos obtenidos con una investigación realizada por Imaña, (2015) acerca de un inventario de bromelias del género *Tillandsia* por medio de método de transectos se manifestó que se tomaron datos del DAP, altura de la especie, listado de *Tillandsias* con su respectivo nombre científico, cuantificación de cada especie y por familia, donde se indicó que solo el 7% representó la incidencia de la especie *Tillandsia emergens* del total de las bromelias censadas localizadas sobre árboles de jacaranda, molle, acacia de esta manera se corroboró los resultados obtenidos ya que de igual forma se da a conocer que esta especie no se encuentra en abundancia debido a que está vulnerable.

En la Figura 2 se muestra un gráfico explicativo de la incidencia que existe de la especie *Tillandsia emergens* en cada uno de los transectos realizados; mediante el cual mayor incidencia de esta especie tiene el transecto 3; esto quiere decir que la especie se desarrolla mejor a una altura de 2600 msnm con una temperatura promedio de 18°C, en especies forestales de jacaranda y molle sobre el tronco y ramas laterales.

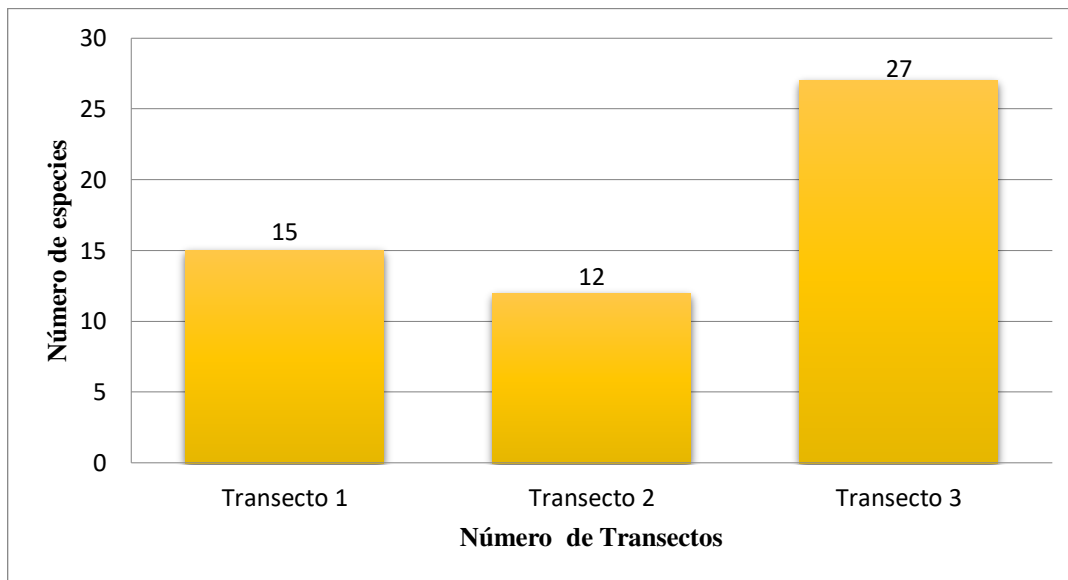


Figura 2. Incidencia de la especie *Tillandsia emergens*. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

#### 6.1.4. Puntos de muestreo

Estos puntos de muestro fueron elegidos debido a que se encontraron dentro de los 2500 a 3000 msnm; pisos altitudinales donde existe una inmensa biodiversidad de epífitas endémicas del Ecuador, de la cuales habita la especie en estudio *Tillandsia emergens* hallada específicamente en las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y La Esperanza de la parroquia de San Roque.

En la Figura 3, se representa los puntos de muestreo, de cada transecto dentro de la zona de estudio que es la parroquia de San Roque, estos puntos están ubicados cada 200 msnm a partir de los 3000 msnm; por lo cual el primer punto se localiza a los 3000 msnm; el segundo está ubicado a los 2800 msnm y el tercero está situado a los 2600 msnm.

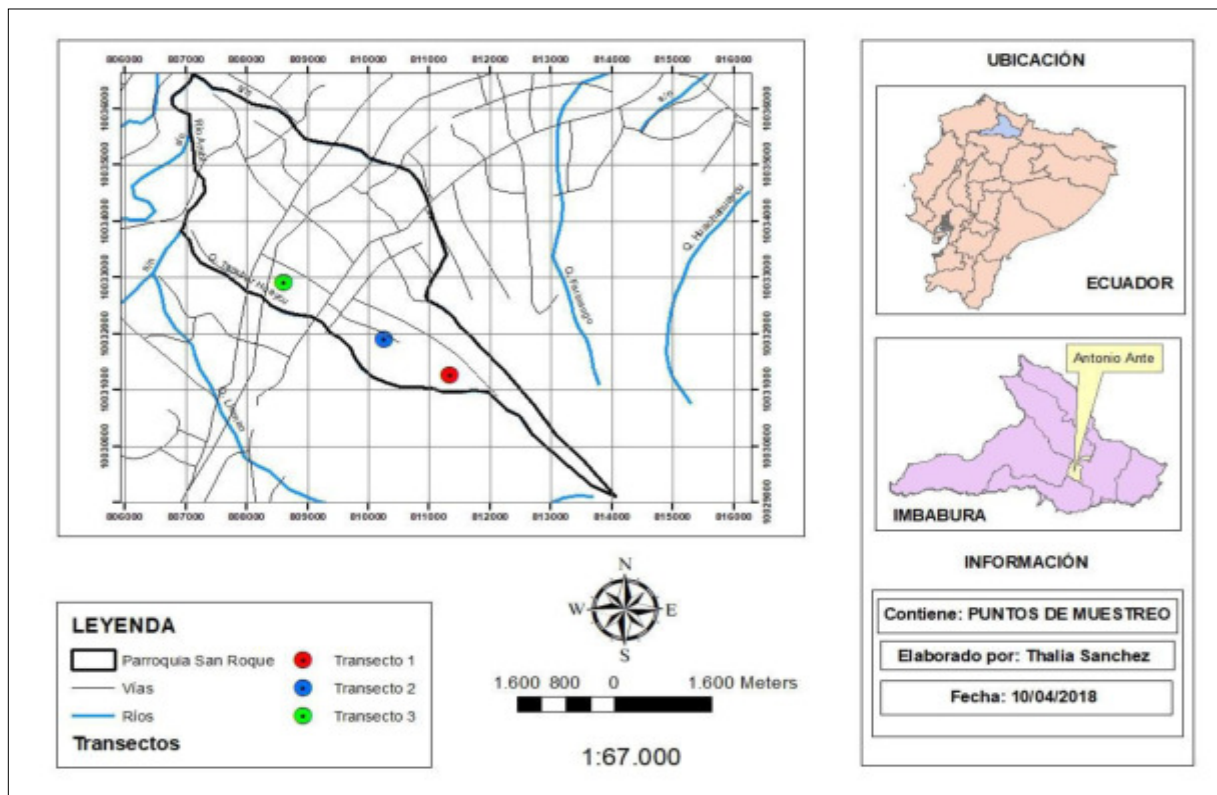


Figura 3. Puntos de muestreo de cada uno de los transectos. Fuente: (GAD Antonio Ante, 2018)

En este mapa de vegetación (Figura 4) se representa los diferentes tipos de cultivos que se encuentran dentro de los transectos realizados; por la cual se da a conocer que las especies de árboles donde se encuentra al especie en estudio *Tillandsia emergens*, pueden encontrarse en cultivos de ciclo corto, áreas erosionadas, vegetación arbustiva; debido a que es una especie silvestre no cultivada.

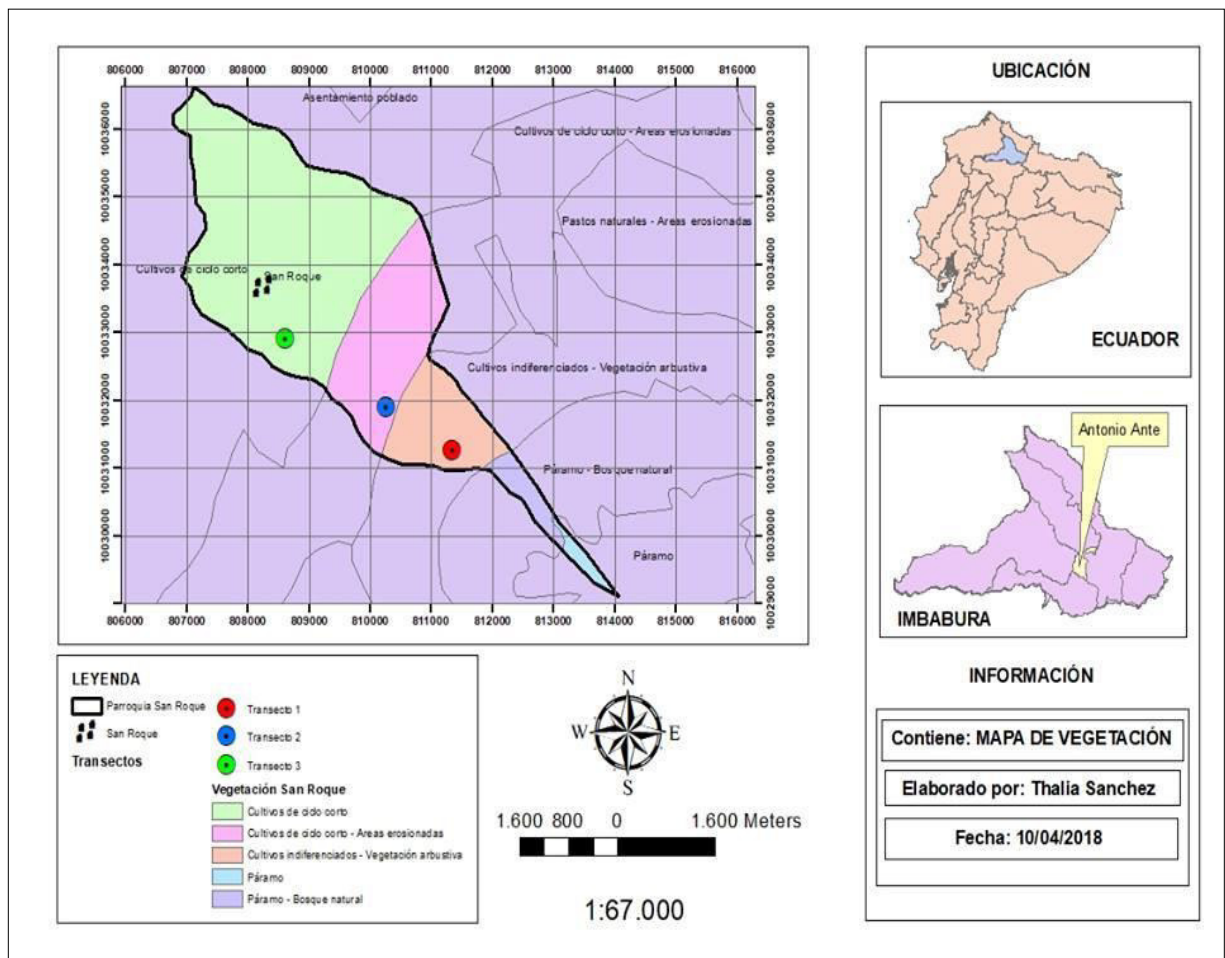


Figura 4. Mapa de vegetación de la parroquia de San Roque. Fuente: (GAD Antonio Ante, 2018)

La figura 5 representa al mapa de suelos de la parroquia de San Roque, en la cual describe los transectos realizados en diferentes pisos altitudinales; indicando que los árboles que tienen esta especie *Tillandsia emergens*, se desarrollan en dos tipos de suelos como son los inceptisoles y los molisoles.

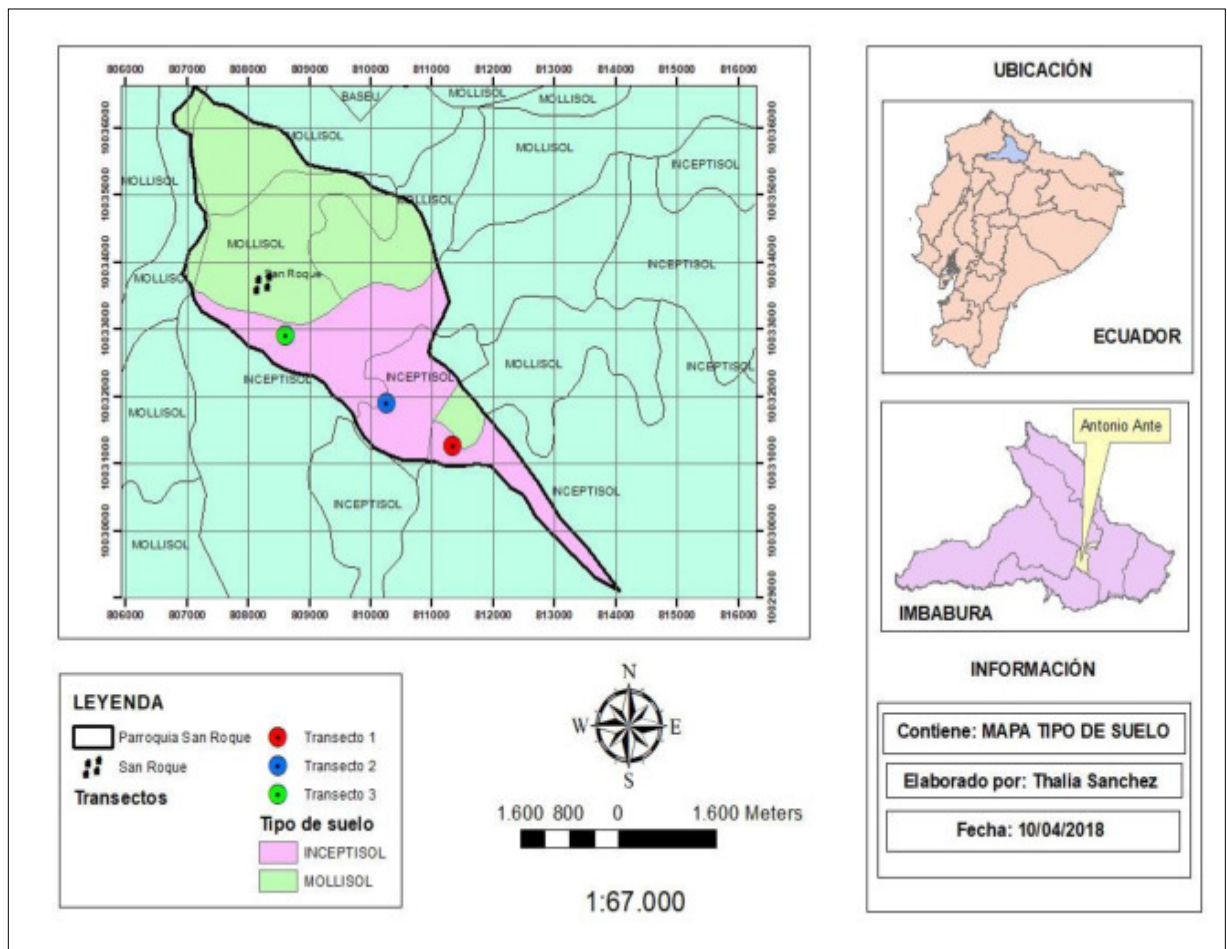


Figura 5. Mapa de tipos de suelos en la parroquia de San Roque. Fuente: (GAD Antonio Ante, 2018)

### **6.1.5. Identificación de la especie *Tillandsia emergens***

Basándonos en investigaciones bibliográficas y con la información levantada en campo a través de la clave dicotómica hecha de la especie *Tillandsia emergens* se obtuvo los siguientes resultados en campo:

#### **a) Descripción general de la especie**

Según la investigación realizada en la parroquia de San Roque y basándonos en estudios acerca de la especie *Tillandsia emergens*, se puede dar a conocer que esta es una planta epífita de la familia de las bromelias endémica de este lugar, esta se encuentra en estado natural y vulnerable; crecen generalmente sobre otras plantas en la corteza del tronco y ramas laterales de árboles forestales principalmente de pino, eucalipto, entre otras. Esta especie se localizó desde los 2500 a 3100 msnm.

#### **b) Descripción de la especie a través de la clave dicotómica**

Los resultados conseguidos por medio de esta clave dicotómica manifiestan que la especie *Tillandsia emergens* es una hierba epífita endémica del Ecuador perteneciente al grupo de las angiospermas y es monocotiledónea; posee hojas fasciculadas con nervaduras radicales que tienen una posición opuesta entre ellas; al hablar de sus flores, esta es una inflorescencia compuesta en forma de espiga, bisexual y actinomorfa. Su fruto es una cápsula septicida que dentro de esta se encuentran almacenados alrededor de 100 a 150 semillas dependiendo de su estado de madurez. Dentro de las comunidades en estudio esta planta es utilizada como ornamental para adorno de sus viviendas por la hermosa inflorescencia que posee; encontrándose en bosques nativos de la parroquia de San Roque entre los 2500 a 3100 msnm a una temperatura promedio de 8 a 16°C.

### c) Importancia de la especie *Tillandsia emergens* al ecosistema

Para analizar la importancia de las *Tillandsias* en el ecosistema se basó en la investigación realizada por Bolaños, (2013) acerca del establecimiento de un cultivo in vitro en la *Tillandsia plagiotrópica* , por lo cual se analizó las características de la zona de estudio afirmando que este autor corroboró los resultados obtenidos ya que estas especies son fitotelmatas, es decir son capaces de almacenar agua y nutrientes que sirven para el crecimiento de varios grupos de organismos asociadas a esta planta bacterias, algas, musgos, plantas vasculares, protozoarios, hongos, invertebrados y algunos vertebrados.

### d) Muestra de herbario

Se obtuvo un muestra de herbario de la especie *Tillandsia emergens* con el código 4888, la cual permanecerá en el Herbario de la PUCE-SI, como constancia de la investigación realizada.

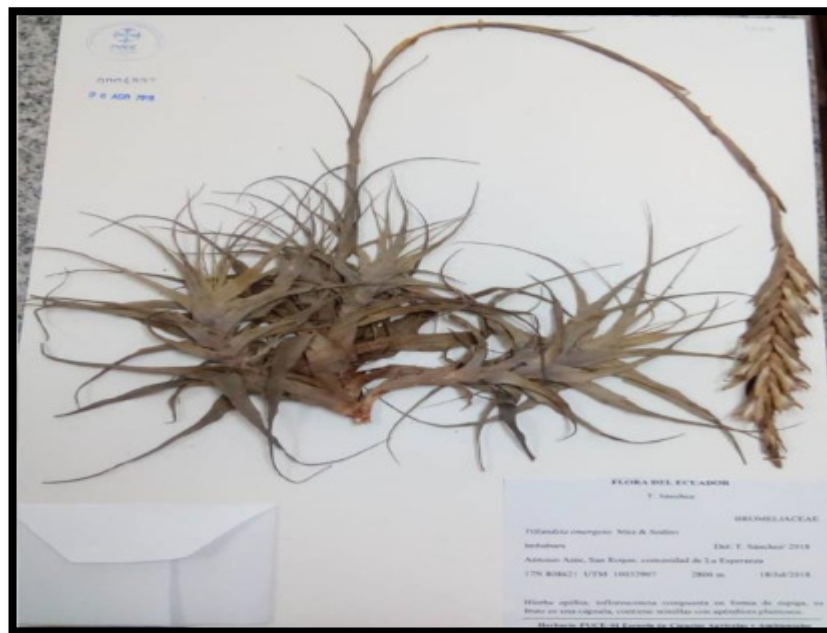


Figura 6. Muestra de herbario. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

## 6.2. Fase de laboratorio

La fase de laboratorio se realizó en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra, específicamente en el Laboratorio de Biotecnología, en el cual se hizo distintos ensayos de cultivo in vitro de la especie *Tillandsia emergens*, se utilizó tres tratamientos (yemas, semillas y hojas jóvenes) y tres variables en estudio (número de brotes, longitud del explante, sobrevivencia).

Además se hizo diferentes pruebas estadísticas a través del programa Statistix; para cada una de las variables en estudio; por lo cual se procedió probando los supuestos del análisis de la varianza, en este caso se realizó la normalidad de los errores por medio de la prueba de Shapiro-Wilk, la cual demostró un desvío importante del supuesto de normalidad. Ante esta situación se procedió a realizar la prueba de Levene donde dio a conocer que si existió homogeneidad de varianzas. Luego se procedió hacer transformaciones, aun con el uso de transformaciones no hubo normalidad promedio detectada por la prueba de Shapiro-Wilk, es por ello que se decidió utilizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Tabla 8.

*Comparación del valor (P) en cada una de las pruebas estadísticas, que demostraron porque se realizó la prueba de Kruskal-Wallis*

Pruebas estadísticas	Variables en estudio		
	Número de brotes (Valor de P)	Longitud del explante (Valor de P)	Sobrevivencia (Valor de P)
Shapiro-Wilk	0,0030	0,0030	0,0030
Levene	0,0787	0,0878	0,0787

Nota. Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Como se puede observar en la Tabla 8, los resultados obtenidos de la Prueba de Shapiro-Wilk (P-valor) dieron a conocer que en todas las variables en estudio se obtuvo un valor inferior a 0,05, por lo cual Bolaños, (2013) indicó que si P-valor resultante es inferior a un cierto nivel de significación (0,05), es decir el valor tiende a cero no existirá normalidad, por la cual según nuestros datos no lo existe. Además los resultados de la Prueba de Levele manifestaron estar en un P-valor resultante mayor a 0,05 por lo cual Albarrán, (2012) manifestó que si el P-valor obtenido es superior a un cierto nivel de significancia (0,05) se debe cambiar a pruebas no paramétricas, por la cual se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para cada una de las variables dependientes (número de brotes, longitud del explante y sobrevivencia).

### 6.2.1. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de brotes

Debido a que no existió normalidad se procedió a realizar la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, mediante la cual se definió cual fue el mejor tratamiento empleado para la formación de brotes, además el valor de P es de 0,0149, el cual indica que existieron significancias entre los tratamientos, como se puede observar en la Tabla 9.

Tabla 9.

*Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de brotes*

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

Nota. Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

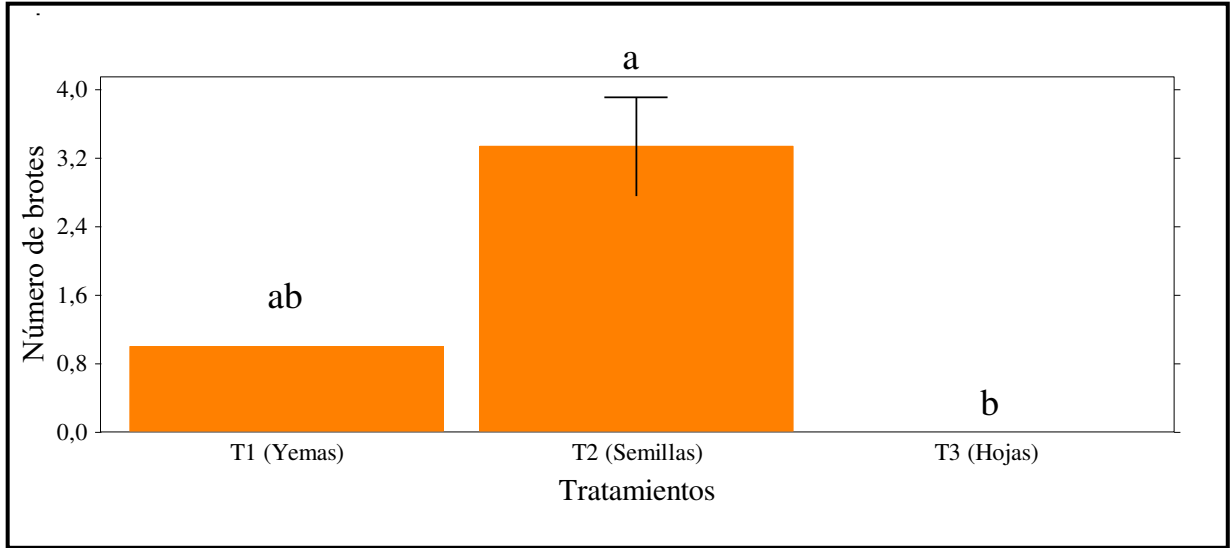


Figura 7. Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Se puede observar (Figura 7) que existen tres grupos representativos a, ab, y b, donde el grupo a de las semillas (T2) posee el mayor rango promedio (3,33) entre los tratamientos, seguido el grupo ab de las yemas (1) y finalmente el grupo b de hojas jóvenes (0), es decir que el mejor tratamiento transcurrido los 90 días de su siembra fue el de las semillas debido a que existió mayor formación de número de brotes en comparación con las otras variables en estudio.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Mroginski y Roca, (2010) acerca de cultivo in vitro en *Tillandsias*, se afirma que los resultados alcanzados son reales, debido a que de igual manera a los 3 meses de la siembra in vitro evaluaron sus tratamientos, indicando que el mejor explante fue el de las semillas, en lo que respecta al número de brotes formados superando al segundo tratamiento que fueron yemas.

### 6.2.2. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable longitud del explante

Debido a que no existió normalidad, se procedió a realizar la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, mediante por la cual se definió el mejor tratamiento utilizado con respecto a la Longitud del explante, además el valor de  $p$  fue de 0,0212, el cual mostró que existieron significancias entre los tratamientos como lo indica la Tabla 10.

Tabla 10.

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

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

Nota. Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

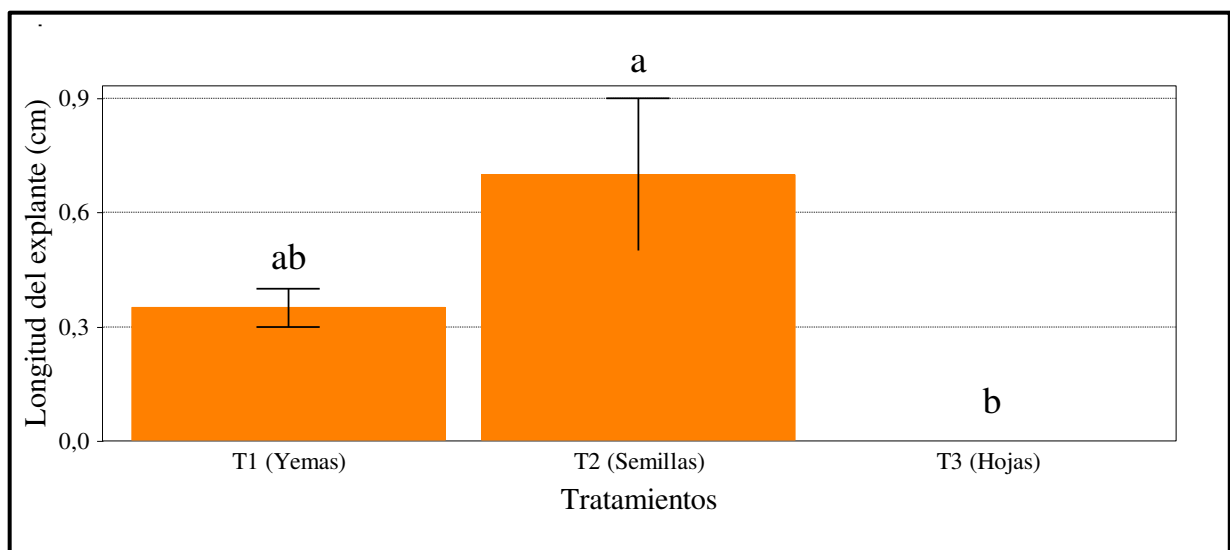


Figura 8. Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Se puede observar en la Figura 8 que existen tres grupos representativos a, ab y b, donde el grupo a fue el de las semillas (T2), el cual tuvo el mayor rango promedio (0,7) en comparación de las yemas (0,35) y hojas jóvenes (0), indicando mediante esto que el mejor tratamiento a los 90 días de su siembra fue de las semillas debido a que tuvieron un mayor crecimiento longitud de los explantes en comparación a los otro tratamientos utilizados.

Comparando los datos obtenidos con una investigación realizada por Cuadra (2010), acerca de cultivo in vitro de la especie *Tillandsia pruinosa*, se afirma que los resultados alcanzados son reales debido a que en esta investigación de igual manera a mes y medio de su siembra se dio a conocer que el mejor explante fue de las semillas, en donde se midió el crecimiento (Longitud del explante) de cada uno de los tratamientos empleados, para lo cual se realizó un análisis de varianza, este dio a conocer que existen una diferencia significativa entre los tratamientos  $p= 1,9\%$ , debido a que existió interacciones entre T1 (meristemas apicales) y T2 (semillas), además se realizó una prueba de Tukey por cada interacción donde se encontró que presentan diferencias significativas entre tratamientos.

### **6.2.3. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable sobrevivencia**

Debido a que no existió normalidad se procedió a realizar la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, por medio de esta prueba se demostró cual fue el mejor tratamiento empleado para la variable sobrevivencia, indicando que el valor de p es de 0,0149, el cual mostró que existieron significancias entre los tratamientos como lo indica la Tabla 11.

Tabla 11.

*Prueba de Kruskal-Wallis para la variable sobrevivencia*

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

Nota. Datos obtenidos a través del programa estadístico Statistix por Sánchez, T. 2018 (La Autora)

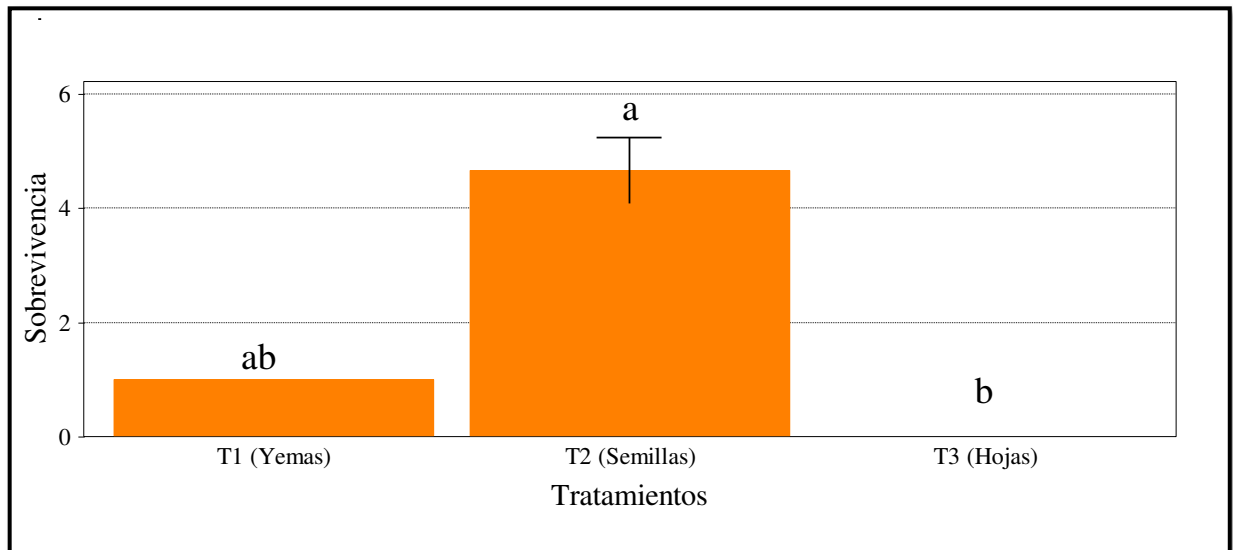


Figura 9. Representación gráfica de la Prueba de Kruskal-Wallis. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

Se puede observar en la Figura 9 que existen tres grupos representativos a, ab y b, donde el grupo a de las semillas (T2) posee el mayor rango promedio (4,67) entre los tratamientos, seguido el de las yemas (1) y finalmente el grupo b de hojas jóvenes (0), por medio de esto se determinó a los 90 días de su siembra que el mejor tratamiento fue de las semillas (T2), ya que alcanzó un 100% de sobrevivencia, en cambio las yemas tuvieron el 80% de sobrevivencia y en el caso de las hojas el 0% de sobrevivencia.

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

### **6.3. Socialización**

La socialización fue realizada en la II Feria Ambiental organizada por la Universidad Técnica del Norte por el día del ambiente, donde participaron instituciones gubernamentales y no gubernamentales de renombre, además de proyectos investigativos, en la cual se dio a conocer los resultados preliminares de este proyecto de investigación a todo el público presente que fueron estudiantes y docentes de la PUCESI y UTN, Instituciones educativas, además de representantes de las distintas organizaciones; esto se llevó a cabo en el antiguo cuartel militar de la ciudad de Ibarra.

Mediante el tema expuesto a cada uno de los participantes se les entregó una encuesta para saber su criterio acerca de la investigación realizada, por lo cual se obtuvo los siguientes resultados que se detallan a continuación.

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

Según las personas encuestadas nos dan a conocer (Figura 1) que el 50% indican que el lugar donde se desarrolló tiene un nivel muy alto siendo que el evento brindó las comodidades óptimas. Sin embargo ninguna persona catalogó con un nivel bajo o nulo el lugar donde se expuso la investigación.

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

En esta pregunta los encuestados nos dan a saber que el 72% dicen que el material audiovisual tiene un nivel muy alto para exponer el tema de investigación; en cambio el 6% de ellos según su punto de vista manifiestan que los materiales utilizados tienen un nivel medio; mientras que ninguno manifiesta que tiene un nivel bajo o nulo.

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

Al hablar del dominio del tema las personas encuestadas manifiestan que el expositor tuvo un dominio muy alto al exponer el tema de investigación, lo que representa el 97% y solo el 3% dice que el expositor tuvo un dominio alto; dando a conocer que ninguna de las personas encuestadas dijo que tiene un nivel medio, bajo o nulo.

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

En esta pregunta el 93% de los encuestados dicen que el manejo del auditorio por parte del expositor fue muy alto, mientras que el 4% manifiestan que tuvo un manejo alto y solo el 3% dio a conocer que tuvo un manejo medio; pero nadie de los participantes dieron a conocer que el manejo del auditorio por parte del expositor fue bajo o nulo.

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

Al analizar el criterio de los encuestados acerca de la facilidad de expresión que tuvo el expositor, el 87% dicen que tuvo un nivel muy alto de facilidad de expresión; en cambio el 13% manifiestan que existió un nivel alto; en cambio ninguno manifestó que tiene un nivel bajo o nulo.

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

Al consultar a los participantes la relevancia del proyecto de investigación para algún actor y/o sector de la sociedad, el 69% nos dicen que posee una relevancia muy alta, el 28% manifestó que la relevancia de la investigación es alta y para el 3% que la relevancia de este tema es media; además ninguno dijo que tiene un nivel bajo o nulo.

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

Al preguntar a los participantes de las perspectivas que posee esta investigación para estudios complementarios posteriores, el 90% de ellos indicó que tiene un nivel muy alto, para el 7% tiene un nivel alto y el 3% manifestó que tiene un nivel medio; en cambio ninguno dio a conocer que tiene un nivel bajo o nulo.

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

Esta pregunta manifestó que el 78% de los participantes dicen que el tema investigado genera un nivel muy alto, debido a que actualmente o a futuro traerá un beneficio concreto, en cambio el 3% dijo tener un nivel medio; pero ningún encuestado manifestó que tiene un nivel bajo.

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

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

## 7. CONCLUSIONES.-

- A través de la evaluación ecológica rápida realizada en esta investigación se dio a concluir que la especie *Tillandsia emergens*, dentro de la parroquia de San Roque no es muy abundante, debido a que actualmente según la UICN se encuentra en estado vulnerable. La especie descrita se localizó en esta zona a partir de los 2500 a 3100 msnm entre las comunidades de Cerotal, Jatum Rumi, Pucará y la Esperanza; encontrándose sobre los troncos y ramas laterales de los árboles de pino, eucalipto, jacaranda y molle.
- Según el inventario realizado en cada uno de los transectos se dio a conocer, que mayor incidencia de la especie *Tillandsia emergens* se encuentra en el transecto 3 (Comunidad La Esperanza) a comparación de los otros, es decir que esta especie se desarrolla mejor a una altura de 2600 msnm con una temperatura promedio de 18°C, en especies forestales de jacaranda y molle.
- A los 90 días de la siembra in vitro se mostró que el mejor tratamiento en la medición de la variable número de brotes fue el de las semillas, debido a que existió mayor formación de estos, porque hubo mayor desdiferenciación celular a comparación de los otros tratamientos.
- La medición de la variable longitud del explante en cada uno de los tratamientos empleados (semillas, yemas, hojas jóvenes), manifestó a los 90 días que el tratamiento (T2) de las semillas obtuvo los mejores resultados en comparación a los otros tratamientos; esto se dio ya que este explante alcanzó la mayor desdiferenciación celular.

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

## 8. RECOMENDACIONES.-

- Para la identificación de la especie *Tillandsia emergens* en campo se debe llevar fotografías, catálogos de herbario, además de una guía de clave dicotómica, para así describir la especie que se busca en campo.
- Al momento de recolectar la especie *Tillandsia emergens* se recomienda coger solo 3 individuos de esta especie, ya que son suficientes para realizar los diversos ensayos de cultivo in vitro; se los lleva a cada uno en fundas de papel dentro de un cooler para prevenir cualquier contaminación al momento de su transporte.
- Para saber la incidencia de plantas epífitas que se localizan sobre árboles como es el caso de la especie en estudio *Tillandsia emergens* se recomienda hacer transectos en los cuales se debe tomar datos de DAP, altura de la especie forestal con su respectivo nombre científico, conteo por cada árbol de la epífita buscada; para así de esta manera saber dónde se encuentra la planta para su fácil recolección.
- En la desinfección de los explantes hay que tener mucho cuidado con las yemas debido a que son muy frágiles a quebrarse, por lo cual se debe sumergirlas por 5 segundos en cada una de las soluciones descritas en la metodología antes de su siembra in vitro.
- Para llegar a tener éxito en cultivos in vitro de especies vegetales especialmente de Tillandsias, se debe realizar el protocolo correspondiente tomando en cuenta las condiciones ambientales del lugar (temperatura, humedad y fotoperiodo) y la asepsia de materiales, equipos, medio de cultivo y del lugar.

- En estudios posteriores de *Tillandsias* de cultivo in vitro se recomienda evaluar las dosis de las hormonas reguladoras de crecimiento (ANA y BAP), para ver si en aumento se podrá conseguir más cantidad de brotes, mayor longitud y sobrevivencia de los explantes.
- Para obtener mejores resultados con los explantes de las yemas, se recomienda sembrarlos con abundante tejido joven que ayudará a su rápida propagación in vitro.
- Se recomienda para las hojas jóvenes modificar el medio de cultivo, con hormonas que ayuden a estimular una respuesta rápida de crecimiento del explante en un periodo de 90 días.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.-

- Albarrán, J. (2012). *Propagación clonal rápida de variedades comerciales de yuca mediante técnicas biotecnológicas*. Venezuela: Ceniap.
- Álvarez, M. (2013). *Manual de Métodos Para el Desarrollo de Inventarios de Biodiversidad*. Loja: Universidad Técnica de Loja.
- Aragón, C. (2015). Propagación in vitro de la especie *Tillandsia* spp. en sistemas de inmersión temporal. *Biotecnología Vegetal*, pag. 30-37.
- Artigas, R., y Díaz, F. (2013). Muestreo en transecto de formaciones vegetales de fanerófitos y epífitas (I): fundamentos metodológicos. *Estudios Geográficos*, 67-88.
- Bogh, A. (2011). Composición y distribución de la flora epífita vascular en el Ecuador. *Selbyana*, pag. 20-24.
- Bolaños, P. (2013). *Evaluación de los ácidos indolbutírico y naftalenacético para el enraizamiento de Tillandsia plagiotropica Rohweder (Bromeliaceae) en cultivo in vitro*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Buitrón, F. (2014). *Plan de Ordenamiento Territorial de la Parroquia de San Roque*. Atuntaqui: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Antonio Ante.
- Calderón, A., Restrepo, A., y Urrea, A. (2011). Morfogénesis in vitro a partir de yemas apicales y base de hojas de la especies de Bromelias *Aechmea veitchii* y *Racinaea crispa*. *Interciencia*, pag.17-33.
- Cerón, C. (2014). *Manual de Botánica Sistemática, Etnobotánica y Métodos de Estudio en el Ecuador*. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Cuadra, J. (2010). *Evaluación de diferentes medios de cultivo para el establecimiento in vitro de Tillandsia xerographica Rohweder*. Guatemala: Universidad Rafael Landívar.
- Cueva, A. (2011). Morfogénesis in vitro a partir de yemas apicales y bases de hojas de la especie *Tillandsia cyaena*. *SciELO*, pag. 15-21.

- Foster, B., y Hernández, E. (2014). *Un método de transectos variables para la evaluación rápida de comunidades de plantas en los trópicos*. Chicago: Field Museum of Natural History.
- GAD Antonio Ante. (2018). *Shapes de la parroquia de San Roque (Mapa base, Mapa de tipos y uso del suelo, Mapa de Vegetación)*. Atuntaqui.
- García, A. (2014). Generalidades del género *Tillandsia*. *CEPAL*, pag. 90-105.
- González, M., y Mollogón, S. (2013). Efecto del medio de cultivo in vitro y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento de bromelias. *Scielo*, 15-20.
- Gutierrez, D., y Mostacedo, B. (2012). *Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal*. Bolivia, Santa Cruz de la Sierra: Proyecto de Manejo Forestal Sostenible (BOLFOR).
- Huertas, G. (2014). *Manual de Identificación de 22 especies guatemaltecas del género Tillandsia de potencial uso sustentable*. Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala.
- Hurtado, H., y Orozco, J. (2017). Caracterización y distribución vertical de epífitas vasculares -orquídeas y bromelias- y hospederos en ecosistema de selva en sur de Perú. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, pag. 25-31.
- Imaña, J. (2015). *Inventario forestal por transectos en bosques de la sabana de Brasilia*. Brasil, DF: Universidad de Brasilia.
- Iñiguez, P. (2010). *Directrices para la evaluación ecológica rápida de la biodiversidad de las zonas costeras, marinas y de aguas continentales*. Suiza: Secretaria de la Convención Ramsar.
- Jiménez, S. (2009). *Análisis de Sistema de Gestión del Riesgo de Desastres*. Quito: FAO.
- Labus, S., y Abel, W. (2011). *Regeneración de Especies del Género Tillandsia a través de Propagación In Vitro*. México: Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal.

- León, S., Valencia, R., y Pitman, N. (2011). *Libro rojo de especies endémicas del Ecuador*. Quito: Imprenta Mariscal.
- Magurrán, A. (2011). *Diversidad ecológica y su medición*. España: Ediciones Vendra.
- Manzanarez, J. (2009). *Lista Roja de Especies Amenazadas: Tillandsia emergens*. Quito: UICN.
- Mendoza, H. (2010). Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. En *Plantas* (págs. 79-94). Bogotá, Colombia: Instituto Alexander von Humboldt.
- Monterrosa, J. (2009). *Evaluación ecológica rápida de la flora del Parque Nacional San Diego La Barra*. El Salvador: CEPRODE.
- Mroginski, L., y Roca, C. (2010). *Cultivo de Tejidos In Vitro de Tillandsias, Fundamentos y Aplicaciones*. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT.
- Orozco, C. (2011). *Propagación in vivo e in vitro de cinco especies del género Tillandsia en vías de extinción y de potencial uso sustentable*. Guatemala: FODECYT.
- Ortiz, J. (2010). *Plan de Ordenamiento Territorial de la Cabecera Parroquial de San Roque*. Atuntaqui: Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial de San Roque.
- Pacheco, N., y Bernal, S. (2012). *Patrones de diversidad de epífitas en bosques de tierras bajas y subandinas*. Bogotá, Colombia: Universidad de los Andes.
- Ramírez, J. (2014). *Caracterización General de la Parroquia de San Roque*. Atuntaqui: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Antonio Ante.
- SAGARPA. (2016). *La importancia de los herbarios y las colecciones de trabajo para especies ornamentales*. México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas.
- Sagastume, H. (2013). Propagación in vitro de tres especies del género Tillandsia en vías de extinción y de potencial uso sustentable. *Revista Tikalia*, pag.17-22.
- Salgado, A. (2016). *Informe de la situación actual de incendios forestales ocurridos en el Ecuador hasta el año 2016*. Samborondón, Ecuador: Sistema de Gestión de Riesgos.

- Sandoval, F. (2011). *Biotecnología aplicada para la micropropagación de banano y plátano*. La Habana: Puebla y Educación.
- Tierrafría, H., y Cruz, E. (2012). *Establecimiento de un cultivo in vitro de Bromelia hemisphaerica*. México: Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional.
- Vergara, C., y Flores, A. (2010). Preferencia y limitación de epífitas vasculares en un bosque tropical seco del centro de México. *Revista de Ecología Tropical*, pag. 563-570.
- Vilches, A., y Legarralde, T. (2012). *Elaboración y uso de claves dicotómicas en clase de biología* . Buenos Aires: Universidad Nacional de la Plata.
- Zamora, A., y Juárez, D. (2008). *Micropropagación en piña (Ananas comosus (L.) Merr.)* . Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria.

## 10. ANEXOS.-



*Figura 10.* Medición del transecto (50x2) de *Pinus radiata*. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 11.* Medición del DAP de los individuos de la especie de *Pinus radiata*. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 12* . Medición del DAP de los individuos de la especie *de Eucaliptus globulus*. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 13*. Medición de la altura a los individuos de la especie *de Pinus radiata*. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

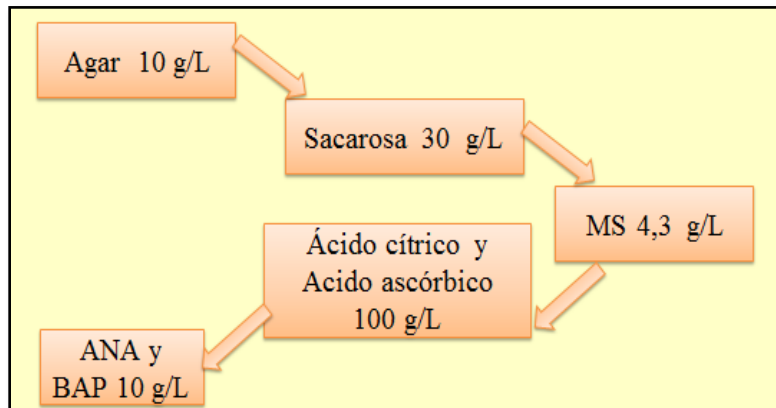


Figura 14. Dosis de los reactivos utilizados para el medio de cultivo. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



Figura 15. Preparación del medio de cultivo. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

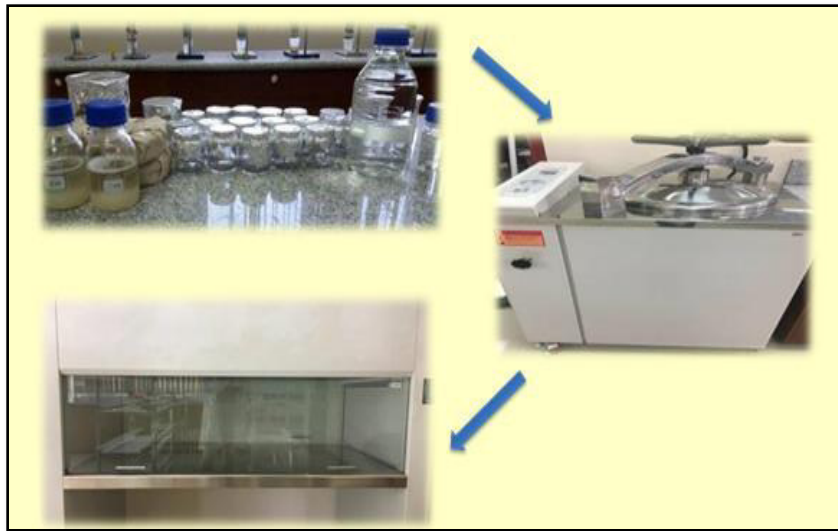


Figura 16. Esterilización de los materiales y medio de cultivo. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

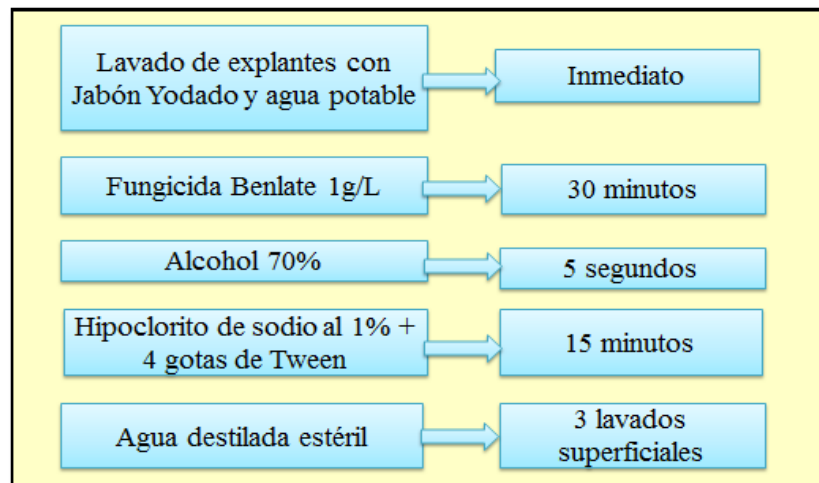
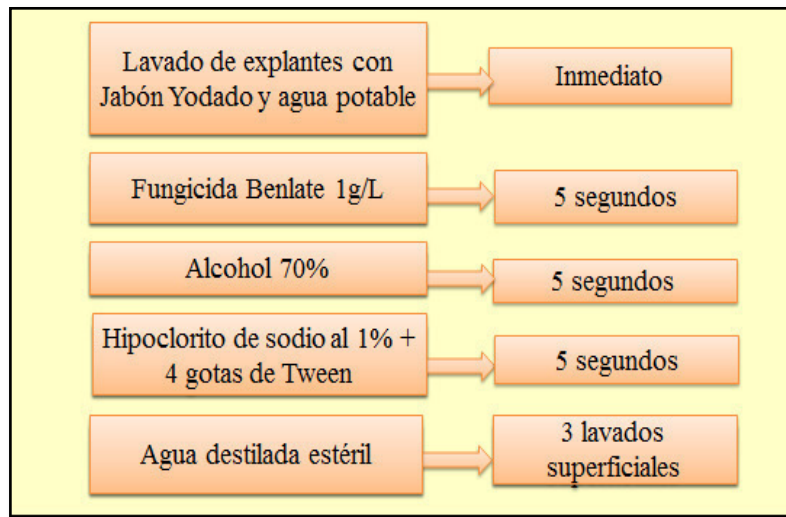


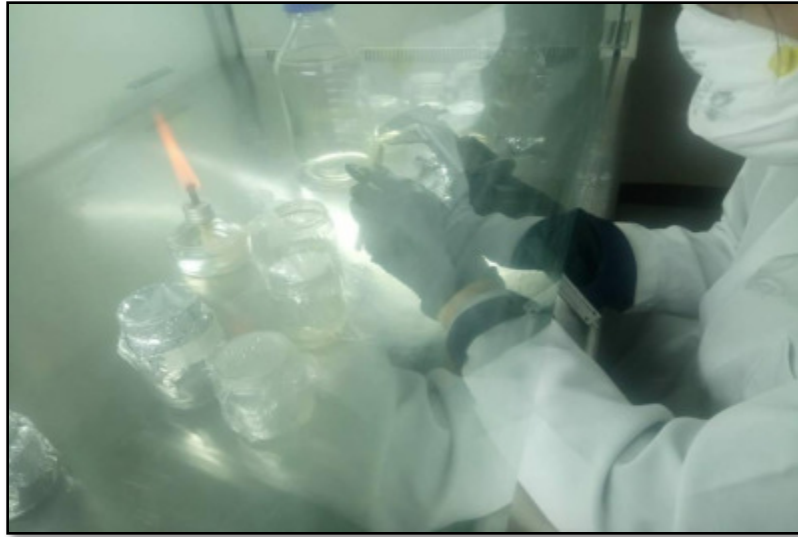
Figura 17. Protocolo para la desinfección de hojas y semillas. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 18.* Protocolo para la desinfección de yemas. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 19.* Siembra in vitro de los explantes. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



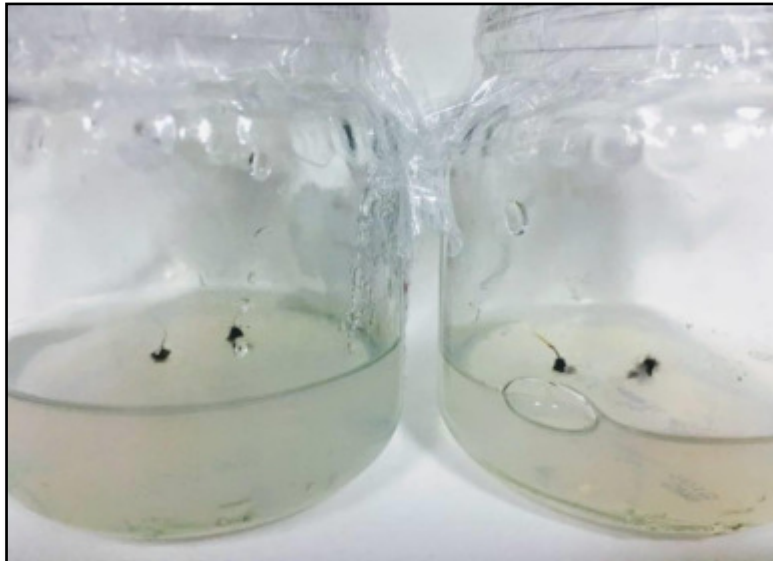
*Figura 20. Medición de la longitud de cada uno de los explantes. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)*



*Figura 21. Cultivo in vitro de semillas transcurrido los 90 días de su siembra Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)*



*Figura 22.* Cultivo in vitro de hojas jóvenes transcurrido los 90 días de su siembra. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 23.* Cultivo in vitro de yemas transcurrido los 90 días de su siembra. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 24.* Socialización del tema de investigación. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



*Figura 25.* Encuestas realizadas por los participantes en la socialización. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)



Figura 26. Entrevista durante la socialización por parte de la radio municipal. Tomado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

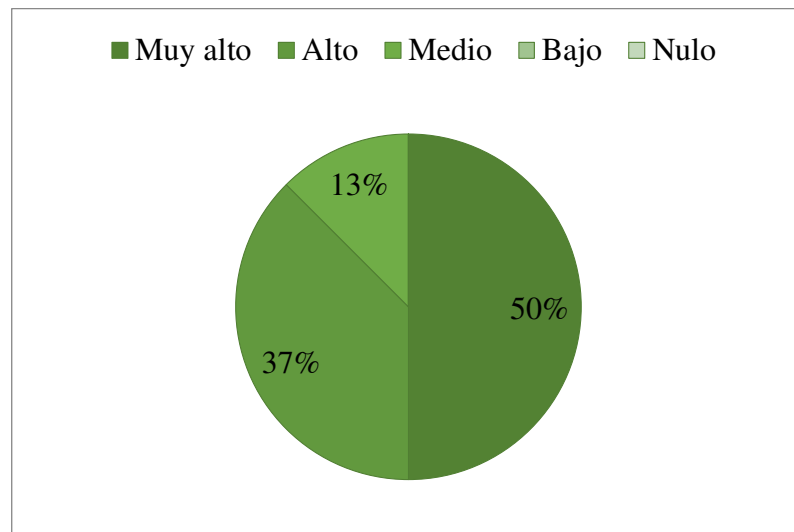


Figura 27. Gráfico del sitio donde se desarrolló el evento. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

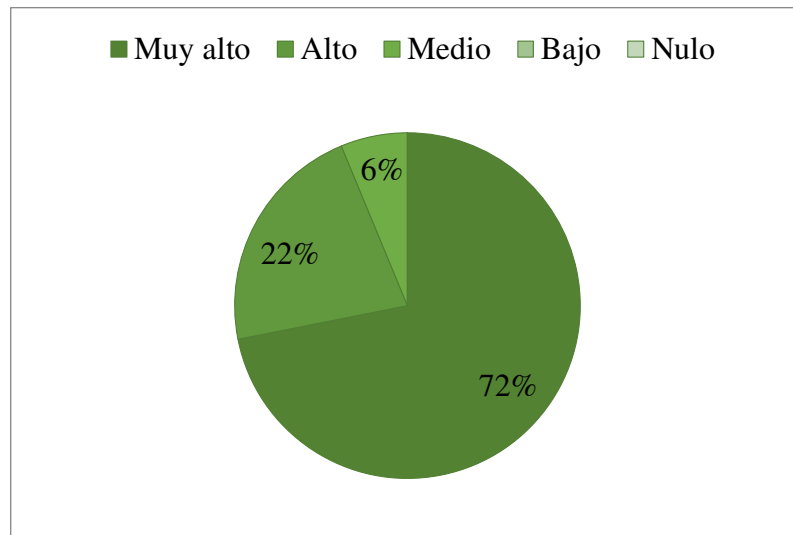


Figura 28. Gráfico del material audiovisual utilizado en la exposición. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

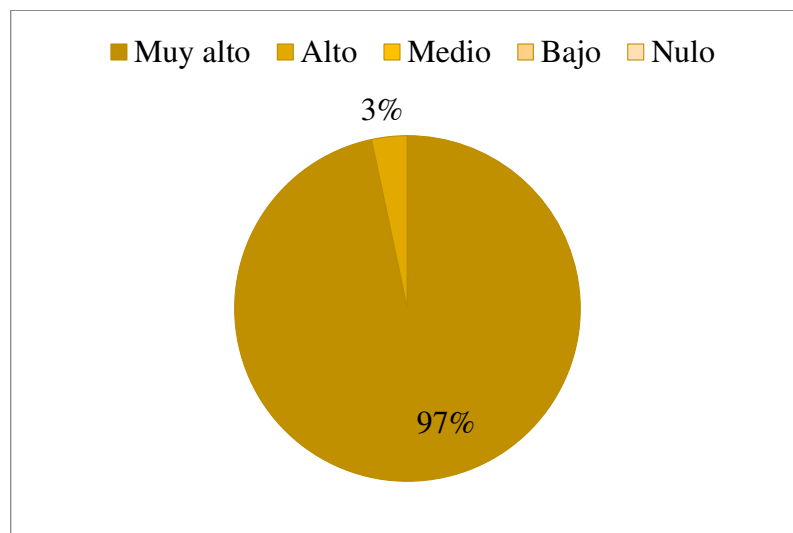


Figura 29. Gráfico del dominio del tema por parte del expositor. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

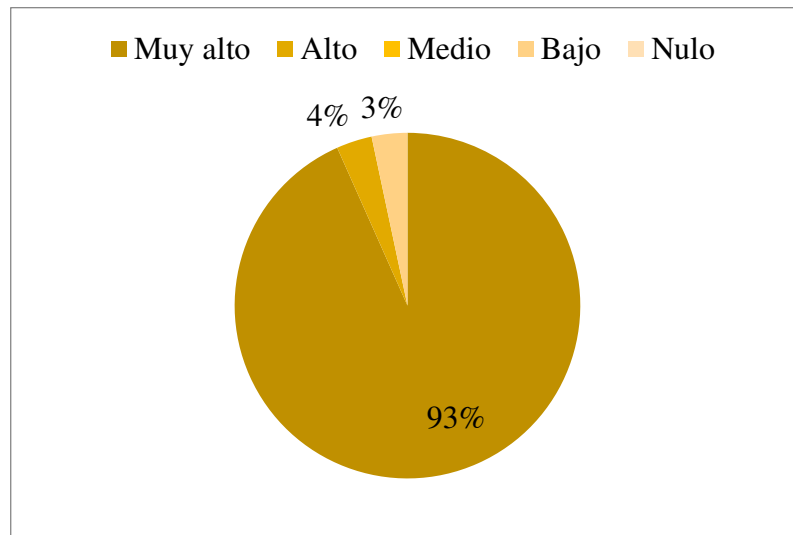


Figura 30. Gráfico del manejo del auditorio por parte del expositor. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

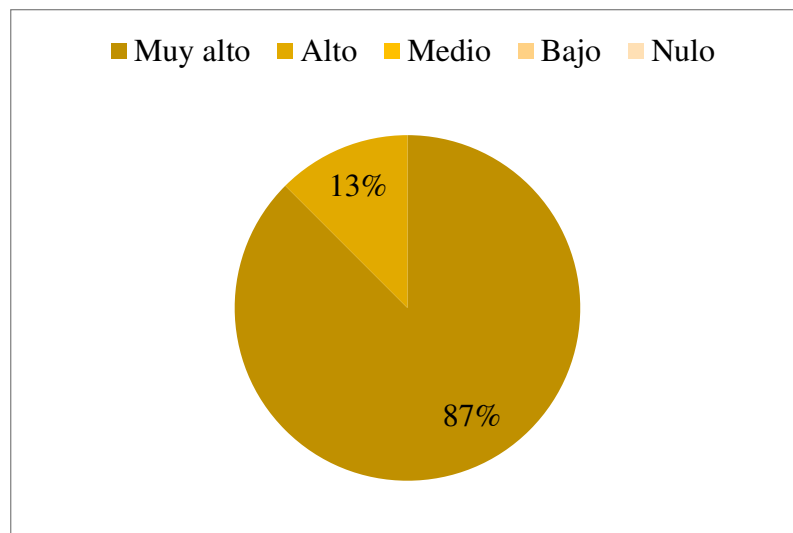


Figura 31. Gráfico de la facilidad de expresión que tuvo el expositor durante la exposición. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

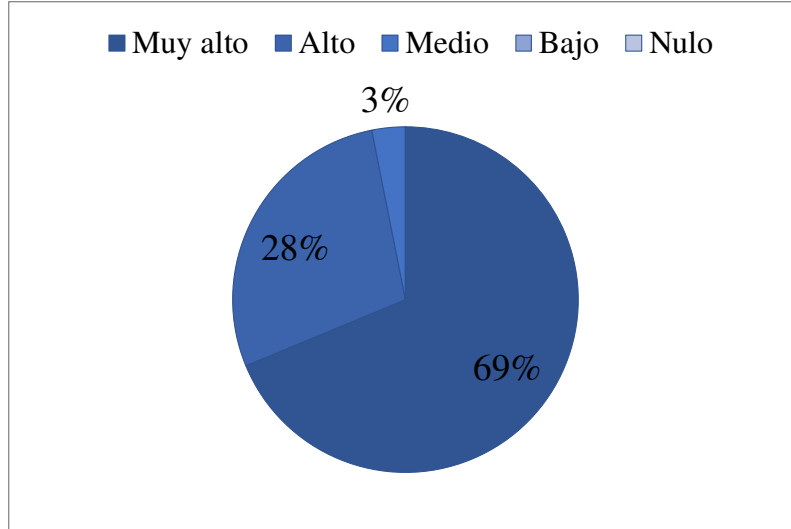


Figura 32. Gráfico de la relevancia que tiene el tema investigado para la sociedad. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

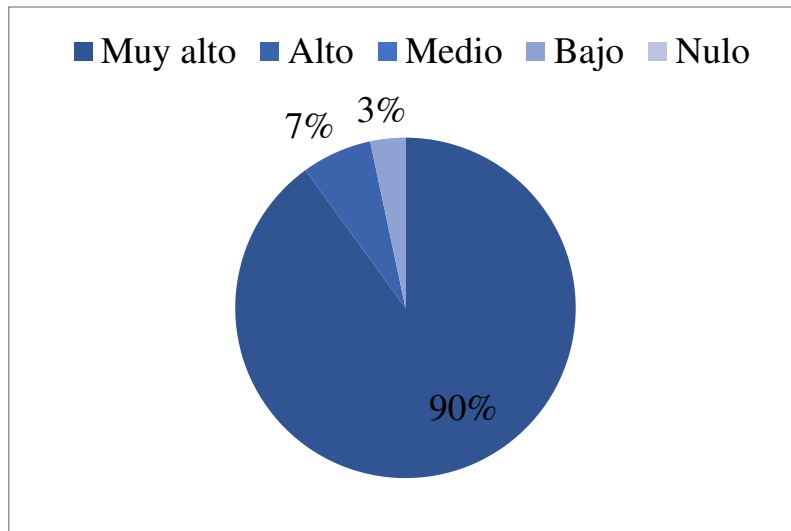


Figura 33. Gráfico sobre si la investigación posee perspectiva para estudios posteriores. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

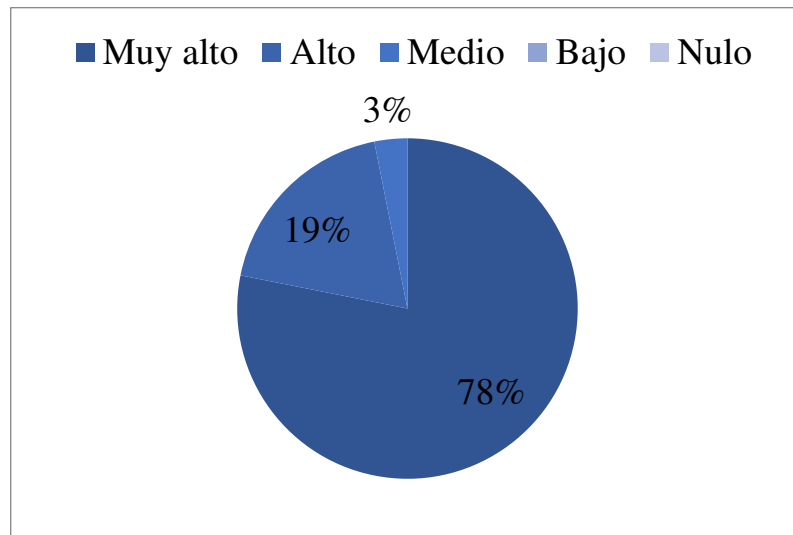


Figura 34. Gráfico acerca si el tema investigado genera actualmente o a futura un beneficio. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

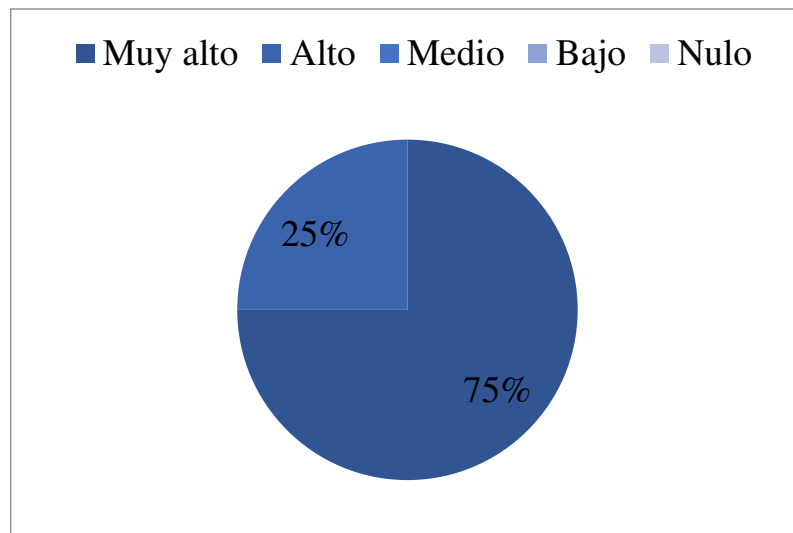


Figura 35. Gráfico sobre si los objetivos de la investigación fueron cumplidos. Elaborado por: Sánchez, T. 2018 (La Autora)

FORMATO DE COLECTA DE MUESTRAS DE HERBARIO – ECAA

No. 0000702

Muestra N° 4  
 INSTITUTO COLECTOR: COLECTOR (ES): Thalia Sánchez FECHA: d. 19 / m. 05 / a. 2018  
 GENERO: Tillandsia ESPECIE: SSP:  
 NOMBRE LOCAL: GRUPO ÉTNICO: Indígena IDIOMA:  
 PAÍS: Ecuador PROVINCIA: Imbabura CANTÓN: Antonio Ante PARROQUIA: San Roque  
 LOCALIDAD: La Esperanza NOMBRE DEL PREDIO: PROPIETARIO: Sin dueño  
 LOCALIZACIÓN DEL SITIO (km)-Norte/Sur: Desde: Hasta:  
 LATITUD: 0°N 080 8621 N/S. LONGITUD: E/W. ALTITUD: 2600msnm.  
 UTM 0032907

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, frutice, 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 translúcidas o no las tienen.
  - e) Si son glabras o pilosas.
  - f) Si tienen estípulas o no las tienen.
  - g) En caso de ser estipuladas, que clases de estípulas tienen.
  - h) Determine la clase de nervadura de la hoja. Radical
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) ¿Cuantos 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 calículo 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

Figura 36. Clave dicotómica parte 1. Elaborado por: Herbario PUCE-SI

5070000

**LA POBLACIÓN ESTA**  
**AISLADA DE OTRAS:** SI..... NO........  
**SE ENCENTRA PARIENTES CULTIVADOS CERCA** SI...... NO.....  
**NÚMERO DE PLANTAS MUESTREADAS:**...1.. en...1. 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...15°C... Humedad...43%  
**LUZ:**  
 1) sombreado  
 2) soleado

Figura 37. Clave dicotómica parte 2. Elaborado por: Herbario PUCE-SI

**AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA**

No. 008-2018-IC-FAU-FLO-DPA/MAE

**FLORA X FAUNA**

El Ministerio del Ambiente, a través de la Dirección Provincial del Ambiente de Imbabura en uso de las atribuciones que le confiere la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre Codificada, autoriza a:

**Investigadores/ Principales**

Investigadores	Nacionalidad	Cedula/ Pasaporte	Título	Registro SENECYT	Función dentro de la Investigación
María Fernanda López Flores	Ecuatoriana	1002509600	Ingeniera		Coordinadora de la Investigación
Mayra Thalia Sánchez Buitrón	Ecuatoriana	1003974191	Tesista		Investigadora

Para que lleve a cabo la investigación científica, "Evaluación de la Reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens*, mediante explantes", de acuerdo a las siguientes especificaciones:

- 1.- **Solicitud de la:** Msc. María Fernanda López, DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR SEDE IBARRA.
- 2.- **Auspicio de Institución Científica Nacional:** PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR SEDE IBARRA.
- 3.- **Auspicio de Institución Científica Internacional:** No aplica
- 4.- **Institución que financia la investigación:** No aplica
- 5.- **Contraparte del Ministerio del Ambiente:** Unidad de Patrimonio Natural y Responsable de Vida Silvestre.
- 6.- **Inicio y final de investigación:** 13 de Abril de 2018 hasta el 13 de Noviembre de 2018.
- 7.- **Entrega de informe final:** 13 de Noviembre de 2018.
- 8.- **Valoración técnica del proyecto:** Ing. Marcelo Pantoja
- 9.- Esta Autorización NO HABILITA EXPORTACIÓN O MOVILIZACIÓN DE FLORA / FAUNA O MICROORGANISMOS, sin el correspondiente permiso competencia de cada una de las direcciones provinciales del MAE, y que deberá gestionarse en cada dependencia.
- 10.- Las muestras no podrán ser utilizadas en cualquier actividad de bioprospección ni ACCESO A RECURSO GENÉTICO, la competencia de Acceso a Recurso genético es exclusiva del MAE, Unidad de Recursos Genéticos.
- 11.- De los resultados que se desprenda de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente.

**Complementos autorizados para llevar a cabo la investigación en campo**

- 12.- **Metodología para realizar el estudio:** "Evaluación de la Reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens*, mediante explantes"
  - Se realizara el cultivo in vitro con la especie *Tillandsia emergens*, ya que es una especie de difícil propagación y ayuda a sostener cadenas tróficas complejas que implican a varios tipos de organismos, como bacterias, algas, musgos, plantas vasculares, protozoos, hongos, invertebrados y algunos vertebrados Feldhoff, U (2009).
  - Se realizaran una serie de ensayos acerca de la reproducción in vitro, ya que el cultivo es parte esencial de una estrategia de conservación e intercambio de recursos genéticos, por lo cual se podrá ofrecer el almacenamiento de un gran número de muestras creadas a partir de brotes y hojas jóvenes de esta planta.

**Obligaciones del investigador**

- 13.- Entregar al Ministerio del Ambiente-Dirección Provincial del Ambiente de Imbabura, (02) dos copias del informe final impreso en formato PDF, (incluyendo una versión digital), de los resultados de la autorización otorgada. (Solicitar formato Informe Final en la Dirección Provincial del Ambiente de Imbabura). Y adjuntar el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las instituciones científicas ecuatorianas como internacionales depositarias de material biológico.
- 14.- Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos científicos el número de Autorización de Investigación Científica otorgada por el Ministerio del Ambiente, con el que se colectó el material biológico.
- 15.- Entregar (2) copias de las publicaciones a la Dirección Nacional de Biodiversidad.
- 16.- Entregar copias del material fotográfico que puedan ser utilizados para difusión. (Se respetara los derechos de autoría).
- 17.- Lista taxonómica de las especies de Flora debidamente identificadas, objeto de la autorización de colecta con sus respectivas coordenadas. (Solicitar Formato en la Dirección del Ambiente de Imbabura).
- 18.- Los holotipos y ejemplares únicos sólo pueden llevarse fuera del país en calidad de préstamo por un período de hasta 12 meses. (En caso de requerir más tiempo se deberá realizar la solicitud y entregar informes preliminares).
- 19.- Depositar Holotipos y ejemplares únicos en una institución ecuatoriana depositaria de material biológico, Centros de Manejo y Tenencia de Vida Silvestre, que el Ministerio del Ambiente tenga acreditado la patente de funcionamiento: Museo de la Fundación Gustavo Orcés, Museo de Ciencias Naturales o en el Museo de la Escuela Politécnica Nacional).
- 20.- Las muestras de Flora, a ser depositadas deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 se responsabilizan a la: Msc. María Fernanda López, DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR SEDE IBARRA.

Figura 38. Permiso de investigación para la recolecta de la especie *Tillandsia emergens*. Elaborado por: Ministerio del Ambiente (2018)



**SE AUTORIZA LA INVESTIGACIÓN EN LAS PROVINCIAS, CANTONES Y ÁREAS PROTEGIDAS:**

Provincia	Cantones	Parroquias o sector
Imbabura	Antonio Ante	San Roque
<b>Áreas Protegidas</b>		
No aplica		

**SE AUTORIZA EL ESTUDIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON EL PROPÓSITO DE:**

Que se realice la investigación: Evaluación de la Reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens*, mediante explantes

21.- Describir los objetivos que se enumeran en el plan de investigación:

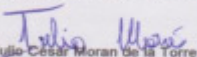
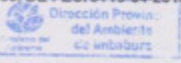
- Evaluar la reproducción in vitro de la especie *Tillandsia emergens* mediante explantes para multiplicarlas masivamente
- Identificar la zona de estudio mediante técnicas de georreferenciación para coleccionar explantes de la especie *Tillandsia emergens*
- Determinar el mejor explante mediante técnica in vitro para su propagación
- Socializar los resultados mediante un día de campo (Plantación) a estudiantes y docentes de la PUCE-SI Ministerio del Ambiente y GAD Parroquial San Roque

**SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA INVESTIGACIÓN.**

Materiales/equipos	Materiales/Equipos	Materiales/Equipos	Materiales/Equipos
GPS	Machete	Vasos de precipitación	Pinzas
Cámara de fotos	Nevera	Cajas petri	Papel absorbente
Computador	Libreta de apuntes	Tijeras	Papel aluminio
Fundas de papel	Frascos iso de 50 ml	Bisturi	Guantes y mascarillas

**OBLIGACIONES Y CONDICIONES PARA LA VIGENCIA DE ESTA AUTORIZACIÓN:**

- 22.- LAS MUESTRAS PRODUCTO DE ESTA INVESTIGACIÓN DEBERÁN SER CATALOGADAS POR INDIVIDUO, DESDE EL NÚMERO 001-007-18- IC-FAU-FLO-DPAI/MAE HASTA N°-000-007-18-IC-FAU-FLO-DPDI/MAE.
- 23.- ESTA AUTORIZACIÓN NO FACULTA LA COLECCIÓN/ MANEJO DE ESPECÍMENES DE FLORA, MISMO QUE NO PODRÁN SER UTILIZADOS COMO MATERIAL PARENTAL PARA MANEJO COMERCIAL.
- 24.- ESTA AUTORIZACIÓN ES EMITIDA BAJO LOS TÉRMINOS EXPRESADOS EN LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN, EN TAL SENTIDO HABILITA EL MANEJO DE FLORA QUE HAYAN ESTADO EXPRESADOS EN LA PROPUESTA TÉCNICA TANTO EN TAXONES COMO EN NUMERO DE INDIVIDUOS.
- 25.- LOS INVESTIGADORES DEBERÁN REALIZAR SUS INTERVENCIONES EN CAMPO BAJO UN MANEJO RESPONSABLE Y ÉTICO CON LOS ESPECÍMENES ASÍ COMO CON LOS EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN.
- 26.- PARA EL INGRESO A ÁREAS DE PROPIEDAD PRIVADA LOS INVESTIGADORES DEBERÁN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN RESPECTIVA DEL PROPIETARIO O GAD-PROVINCIAL, MUNICIPAL O PARROQUIAL.
- 27.- PARA EL INGRESO A ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS LOS INVESTIGADORES DEBERÁN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO RESPONSABLE DE ÁREA Y ACOMPAÑAMIENTO DE UN GUARDAPARQUE.
- 28.- NO SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE ARMAS DE FUEGO, EXPLOSIVOS O SUSTANCIAS VENENOSAS COMO METODOLOGÍA DE ESTA INVESTIGACIÓN.
- 29.- SE PROHÍBE EL INGRESO A LAS ÁREAS NATURALES DEL ESTADO EN ESTADO ETÍLICO, PORTANDO ARMAS, EXPLOSIVOS, TÓXICOS, CONTAMINANTES, MATERIAL VEGETATIVO, ESPECIES ANIMALES Y EN GENERAL TODO AQUELLO QUE ATENTE A LA INTEGRIDAD DEL ÁREA.
- 30.- ESTA AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA PODRÁ SER RENOVADA PREVIO AL CUMPLIMIENTO DE LAS OBLIGACIONES CONTRAÍDAS POR EL INVESTIGADOR, ENTREGA Y APROBACIÓN DE INFORMES PARCIALES O FINALES EN LAS FECHAS INDICADAS.
- 31.- SE SOLICITARÁ PRÓRROGA QUINCE DÍAS ANTES DE LA FECHA DE VENCIMIENTO QUE INDICA ESTE DOCUMENTO.
- 32.- TODO USO INDEBIDO DE ESTA AUTORIZACIÓN, ASÍ COMO EL INCUMPLIMIENTO DE ASPECTOS LEGALES, ADMINISTRATIVOS O TÉCNICOS ESTABLECIDOS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS DE ACUERDO A LA CODIFICACIÓN A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE Y AL TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA, Y DEMÁS NORMATIVAS PERTINENTES.
- 33.- EL INCUMPLIMIENTO DE CUALQUIERA DE ESTAS DISPOSICIONES ASÍ COMO EL USO INDEBIDO DE ESTE DOCUMENTO, O EL INCUMPLIMIENTO DE LAS DISPOSICIONES LEGALES, ADMINISTRATIVAS O TÉCNICAS ESTABLECIDAS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS CONFORME A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE CODIFICADA, TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA Y CON LA SUSPENSIÓN INMEDIATA DE LA PRESENTE AUTORIZACIÓN.
- 34.- TASA POR AUTORIZACIÓN: 40 DÓLARES NO REEMBOLSABLES DEPOSITADOS EN LA CUENTA 0010000785, CÓDIGO SUBLÍNEA 190499, DE BAN ECUADOR, DEPÓSITO NO. 620069798, DE FECHA 13-04-2018.

  
 Mgs. Julio Cesar Moran de la Torre  
  
 COORDINADOR GENERAL ZONAL-ZONAL 1 DIRECTOR PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE IMBABURA

SP.

CC: Coordinadores de Patrimonio Natural

Responsables de Vida Silvestre: Ing. Marcelo Pantoja

Fecha: 13-04-2018

Figura 39. Obligaciones y condiciones que emite el permiso de investigación. Elaborado por: Ministerio del Ambiente (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: Mayra Thalía Sánchez Buitrón  
CARRERA: Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo  
FECHA: 8 de junio de 2018

NOMBRE ASISTENTE	NÚMERO DE CÉDULA	INSTITUCIÓN A LA QUE REPRESENTA	FIRMA
Francisco Hadaña	100082123-4	Radio Municipal	[Firma]
Kevin Guerrero	100412112-3	UTN	[Firma]
Andrés Lima	1004304309	UTN	[Firma]
Galo García	0401864585	UTN	[Firma]
Marcelo Jimenez	870387434-2	Particular	[Firma]
Jorge Alzamora	100070626-5	particular	[Firma]
William Ochoa	100198022-11	Particular	[Firma]
Miguel Vides	1000759298	Particular	[Firma]
César Acas	040168156-4	PUCE-SI	[Firma]
Veronica Mejia	122620877	PUCE-SI	[Firma]
Rosa Munillo	060297173-2	Messe	[Firma]
César Zuleta	100103754-6	PUCE-SI	[Firma]
Rubén del Toro	175254447-1	PUCE-SI	[Firma]
Fernando Martínez	100254189-4	Particular	[Firma]
Cecilia Morata	100753235-5	Particular	[Firma]
Nathalia Herrera	100583881-9	Rosa Munillo	[Firma]

Figura 41. Listado de asistentes a la socialización del tema investigado. Elaborado por: Departamento de vinculación ECAA (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: Mayra Thalía Sánchez Buitrón

CARRERA: Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo

FECHA: 8 de junio de 2018

NOMBRE ASISTENTE	NÚMERO DE CÉDULA	INSTITUCIÓN A LA QUE REPRESENTA	FIRMA
Jenny Portate	100252911-1	Marcel Mantillo	Jenny Portate
Ruth Tenorio	085026423-5	PUCESI	Ruth Tenorio
Milade Lara	100808374-6	PUCE-SI	Milade Lara
Tamara Puentestor	040155188-2	PUCE-SI	Tamara Puentestor
Jhoanna Peña	100458410-6	PUCE-SI	Jhoanna Peña
Joselin Yav	100361959-9	PUCE-SI	Joselin Yav
Elvis Panguatho	100365961-0	PUCE-SI	Elvis Panguatho
Emilio Vargas	1722783758	PUCE	Emilio Vargas
Diego Jawregui	172028207-6	PUCE	Diego Jawregui
Yolanda Dugues	100091516-3	Particular	Yolanda Dugues
Nathaly Yalca Yajez	100462937-8	UTN	Nathaly Yalca Yajez
Tobang Nancy	1725824695	UTN	Tobang Nancy
Janiina Lopez	100321926-6	PUCE	Janiina Lopez
Santiago Bravo	1003594370	PUCE-SI	Santiago Bravo
Guillermo Macha	1002658399	PUCESI	Guillermo Macha
Felipe Muñoz	1003001466	UTN	Felipe Muñoz

Figura 42. Listado de asistentes a la socialización del tema investigado. Elaborado por: Departamento de vinculación ECAA (2018)