



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES

DISEÑO DE UNA METODOLOGÍA EN PROPAGACIÓN *IN VITRO*
DE *Prunus serotina spp capulí Ehrh*, A PARTIR DE SEGMENTOS
NODALES DE ÁRBOLES ÉLITE PARA EL APROVECHAMIENTO
SOSTENIBLE DEL PATRIMONIO NATURAL EN LA PROVINCIA
DE TUNGURAHUA

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

AUTORA:

ESTHEFANNY MICHELLE SANAGUANO CAJAS

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES

DISEÑO DE UNA METODOLOGÍA EN PROPAGACIÓN *IN VITRO*
DE *Prunus serotina ssp capulí Ehrh* A PARTIR DE SEGMENTOS
NODALES DE ÁRBOLES ÉLITE PARA EL APROVECHAMIENTO
SOSTENIBLE DEL PATRIMONIO NATURAL EN LA PROVINCIA
DE TUNGURAHUA

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

AUTORA: ESTHEFANNY MICHELLE SANAGUANO CAJAS

DIRECTOR: ING. JUAN CARLOS CARRASCO BAQUERO

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Esthefanny Michelle Sanaguano Cajas

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Esthefanny Michelle Sanaguano Cajas, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 31 de mayo de 2024

Esthefanny Michelle Sanaguano Cajas

0604073809

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **DISEÑO DE UNA METODOLOGÍA EN PROPAGACIÓN IN VITRO DE *Prunus serotina ssp capulí Ehrh* A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES DE ÁRBOLES ÉLITE PARA EL APROVECHAMIENTO SOSTENIBLE DEL PATRIMONIO NATURAL EN LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA**, realizado por la señorita: **ESTHEFANNY MICHELLE SANAGUANO CAJAS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

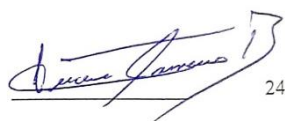
FECHA

Ing. Alex Vinicio Gavilanes Montoya. PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



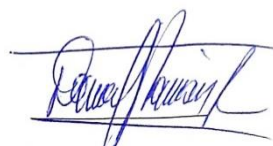
24-05-31

Ing. Juan Carlos Carrasco Baquero.MSc
DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



24-05-31

Ing. Daniel Arturo Román Robalino.MSc
ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



24-05-31

DEDICATORIA

Quiero dedicar esta investigación a todas las personas que han sido parte de este apasionante viaje científico. A mis colegas y colaboradores, cuyo incansable esfuerzo y dedicación han hecho posible alcanzar nuestros objetivos. A nuestros mentores y guías, cuya sabiduría y orientación nos han inspirado a explorar nuevos horizontes en el campo de la micropropagación. A mi madre, Isaura, fuente inagotable de amor y apoyo, quien me ha brindado fuerza y aliento en cada paso de este camino. A mis abuelitos, Rodolfo y Fabiola, que viven en mi corazón, y a mi querido abuelito Marco, quien aún me acompaña y ha sido testigo de mi crecimiento. También, mi gratitud a mi familia materna y mis queridos tíos. Y, sobre todo, a la naturaleza misma, fuente inagotable de maravillas y conocimiento, que nos motiva a seguir investigando y preservando la diversidad vegetal. A mis fieles compañeros en casa, Copito mi gato y Beto mi perro, cuya presencia serena ha sido un constante recordatorio de la belleza y la simplicidad de la vida. Esta investigación está dedicada a todos aquellos que creen en el poder de la ciencia y trabajan incansablemente por un futuro sostenible y próspero.

Esthefanny

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido de manera directa e indirecta en el desarrollo de esta investigación. Agradezco a mis compañeros de equipo por su valiosa colaboración, a mis asesores y profesores por su orientación y apoyo constante, y a todas las instituciones y laboratorios que nos brindaron los recursos y las instalaciones necesarias. Además, quiero agradecer a los participantes del estudio por su disposición y voluntad para formar parte de este proyecto, sin su participación, esta investigación no hubiera sido posible. Por último, pero no menos importante, quiero expresar mi gratitud a mi familia, incluyendo a mi querido padre, y amigos por su inquebrantable apoyo y aliento a lo largo de este proceso, su amor y comprensión fueron fundamentales para superar los desafíos y lograr los resultados obtenidos.

Esthefanny

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY / ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo General.....	3
1.2.2 Objetivos Específicos	4
1.3 Justificación.....	4
1.4 Hipótesis.....	5
CAPÍTULO II	6
2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	6
2.1 Cultivo <i>in vitro</i> Taxonomía Morfología y Reproducción	6
2.1.1 <i>Definición</i>.....	6
2.1.2 <i>Fases del cultivo in vitro</i>	6
2.1.3 <i>Ventajas y Desventajas</i>	9
2.2 <i>Prunus serotina</i>.....	10
2.2.1 <i>Definición</i>.....	10
2.2.2 <i>Clasificación taxonómica</i>	10
2.2.3 <i>Especie</i>	11

2.2.4 Tipos	11
2.2.5 Características	12
2.2.6 Usos y conocimientos tradicionales asociados	13
2.2.7 Importancia de su cultivo	15
2.3 Propagación de <i>Prunus serótina</i>	15
2.3.1 Métodos tradicionales de propagación o cosecha	15
2.4 Micropropagación <i>in vitro</i>	17
2.4.1 Definición	17
2.4.2 Categorías en el desarrollo de cultivo <i>in vitro</i>	18
2.5 Tipos de cultivo <i>in vitro</i>	18
2.6 Metodologías de propagación <i>in vitro</i>	19
2.6.1 Micropropagación	19
2.6.2 Embriogénesis somática	19
2.6.3 Organogénesis	19
2.6.4 Cultivo de tejidos	19
2.7 Medios de cultivo <i>in vitro</i>	20
2.7.1 Componentes de los medios de cultivo <i>in vitro</i>	20
2.8 Segmentos nodales.....	22
2.8.1 Definición	22
2.8.2 Estructura.....	23
2.8.3 Relevancia ecológica de los segmentos nodales.....	24
2.9 Árboles Selectos	25
2.9.1 Definición	25
2.9.2 Características	25
2.9.3 Importancia de los árboles élite para la biodiversidad	26
2.10 Aprovechamiento sostenible del patrimonio natural	27
2.10.1 Importancia de la conservación de las especies autóctonas	27
2.10.2 Relación entre el aprovechamiento del patrimonio cultural de <i>Prunus serotina</i> y el desarrollo económico y social	28

CAPÍTULO III.....	29
3. MARCO METODOLÓGICO	29
3.1 Enfoque	29
3.1.1 Enfoque epistemológico	29
3.1.2 Enfoque científico	29
3.2 Alcance	30
3.3 Tipo.....	30
3.4 Diseño	31
3.5 Características del lugar	32
3.6 Materiales y Equipos.....	33
3.7 Métodos	34
3.7.1 Fase de establecimiento	34
3.7.2 Fase de multiplicación	36
CAPITULO IV	38
4. RESULTADOS	38
4.1 Objetivo específico 1: Establecer las condiciones de cultivo para el establecimiento de segmentos nodales	38
4.1.1 Fase 1 de Establecimiento	38
4.2 Objetivo específico 2: Determinar el medio de cultivo para la multiplicación y el enraizamiento in vitro de brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879</i> , 1879.....	42
4.2.1 Fase 2 de Multiplicación (30 días)	42
4.2.2 Fase 3 de Enraizamiento	46
4.3 Discusión	47
CAPÍTULO V.....	50
5. PROPUESTA	50

5.1 Procedimientos Generales	50
5.1.1 <i>Material vegetal</i>.....	50
5.1.2 <i>Medio de cultivo</i>	50
5.2 Condiciones de cultivo.....	50
5.3 Análisis de costos	51
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Ventajas y Desventajas del cultivo <i>in vitro</i>	9
Tabla 2-2: Clasificación taxonómica del <i>Prunus serotina</i>	10
Tabla 2-3: Usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí para la alimentación y medicina en García Moreno	13
TTabla 2-4: Usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí en relación a servicios ambientales en García Moreno.	14
TTabla 2-5: Otros usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí en García Moreno.	14
Tabla 2-6: Recolección de capulí.....	15
Tabla 2-7: Métodos tradicionales de propagación	16
Tabla 2-7: Tipos de cultivo <i>in vitro</i>	18
Tabla 2-8: Principales fuentes de carbono para cultivo <i>in vitro</i>	21
Tabla 2-10: Estructura de los segmentos nodales	23
Tabla 2-11: Características de un árbol élite de <i>Prunus serotina</i>	26
Tabla 3-1: Componentes del medio base	36
Tabla 4-1: Análisis de varianza de las medias obtenidas del nro de Brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879</i>	42
Tabla 4-2: Cuadro de análisis de varianza de las medias obtenidas para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879 , 1879</i> (SC tipo III).	42
Tabla 4-3: Test de Tukey para la varianza de las medias obtenidas en el nro de Brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879</i>	43
Tabla 4-4: Análisis de varianza de las medias obtenidas de la longitud de brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879</i>	44
Tabla 4-5: Cuadro de análisis de varianza de las medias obtenidas de longitud de brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de <i>Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879 , 1879</i> (SC tipo III).	44
Tabla 6-1: Análisis de costos	51

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1: Fases de cultivo <i>in vitro</i> vegetal.....	6
Ilustración 2-2: Fase 0: Selección de la planta madre.	7
Ilustración 2-3: Fase I: Introducción al medio.	8
Ilustración 2-4: Fase II: Multiplicación.....	8
Ilustración 2-5: Fase III: Enraizamiento.....	9
Ilustración 2-6: Tipos de <i>Prunus serotina</i>	12
Ilustración 2-7: Características de <i>Prunus Serotina</i>	12
Ilustración 2-8: Ejemplo de obtención de segmento nodal de lima ácida-variedad Tahití.....	23
Ilustración 2-9: Estructura de un segmento nodal	24
Ilustración 2-10: Representación esquemática del método de explantes nodales	24
Ilustración 3-1: Mapa de ubicación del laboratorio de la ESPOCH de donde se tomaron las muestras	33
Ilustración 4-1: Variable Contaminados.....	38
Ilustración 4-2: Variable Vivos.....	39
Ilustración 4-3: Variable Brotados	40
Ilustración 4-4: Variable Fenolizados	41

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: FOTOGRAFÍAS.....	58
----------------------------------	-----------

RESUMEN

El problema de investigación se centra en la deficiente germinación de *Prunus serotina*, crucial para su propagación y viabilidad comercial, amenazando su diversidad genética. El objetivo fue diseñar una metodología para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina ssp. capulí Ehrh* a partir de segmentos nodales de árboles élite. La metodología involucró un enfoque cuantitativo y experimental, utilizando técnicas de desinfección y cultivo *in vitro*, y evaluando variables como número y longitud de brotes. Los resultados mostraron que un tratamiento de 10 minutos era óptimo para la brotación y fenolización, con variabilidad significativa en la eficiencia de brotación *in vitro* entre segmentos nodales de diferentes árboles élite. La fase 2 de multiplicación se caracterizó por el uso de tratamientos para optimizar el número y longitud de los brotes de *Prunus serotina* en 30 días, destacando el tratamiento 4 como el más eficaz. Sin embargo, la imposibilidad de completar la fase 3 de enraizamiento por restricciones temporales dejó una parte crucial del estudio incompleta. En conclusión, los resultados indican que un tratamiento de 10 minutos es óptimo para propagar *Prunus serotina ssp. capulí Ehrh*, equilibrando la reducción de contaminación y la mejora de la viabilidad, brotación y fenolización, pero la imposibilidad de completar la fase de enraizamiento subraya la necesidad de futuras investigaciones para llenar este vacío crítico.

Palabras clave: < *Prunus serotina* >, < Propagación *in vitro* >, < Diversidad genética >, < Eficiencia >, < Conservación >, < Conservación >, < Desarrollo sostenible >.



SUMMARY / ABSTRACT

The objective was to design a methodology for the in vitro propagation of *Prunus serotina* ssp. *capulí* Ehrh from nodal segments of elite trees. The methodology involved a quantitative and experimental approach, using disinfection and in vitro culture techniques, and evaluating variables such as shoot number and length. The results showed that a 10-minute treatment was optimal for sprouting and phenolization, with significant variability in in vitro sprouting efficiency between nodal segments of different elite trees. Phase 2 of multiplication was characterized using treatments to optimize the number and length of *Prunus serotina* shoots in 30 days, with treatment 4 standing out as the most effective. However, the impossibility of completing phase 3 of rooting due to time constraints left a crucial part of the study incomplete. In conclusion, the results indicate that a 10-minute treatment is optimal for propagating *Prunus serotina* ssp. *capulí* Ehrh, balancing contamination reduction and improved viability, budding and phenolization, but the failure to complete the rooting phase underscores the need for future research to fill this critical gap.

Keywords: < *Prunus serotina* >, < IN VITRO PROPAGATION >, < GENETIC DIVERSITY >, < EFFICIENCY >, < CONSERVATION >, < SUSTAINABLE DEVELOPMENT >.



Lic. Lorena Cecilia Hernández Andrade MSc.
180373788-9

INTRODUCCIÓN

Descubierto en 1879, el capulí, también conocido como *Prunus serotina* subsp. *capuli* Ehrh, se ha convertido en un elemento destacado en la historia y la diversidad botánica de Norteamérica. A lo largo de los siglos, ha ganado un lugar especial en el corazón de varias culturas antiguas, que han encontrado en sus frutos, semillas, hojas y madera recursos valiosos para una amplia gama de prácticas culturales (Guzmán, et al., (2020). El capulí es una planta famosa por su alta resistencia a los climas severos como la sequía y los suelos poco nutritivos, aunque sus raíces son débiles. A pesar de que se haya trasladado por razones decorativas y forestales a Europa y Sudamérica lo que ha dado lugar a controversias, esta es una planta que se encuentra adaptada a casi todos los giros biológicos. Aparte de esto, el capulí suele ser muy popular entre los europeos (Chalán, 2019).

La fascinación por el capulí trasciende su utilidad práctica, extendiéndose hacia su diversidad botánica y su rica historia en la medicina tradicional. Desde el siglo XVI, esta especie ha sido reverenciada por sus propiedades medicinales, documentadas en obras históricas y farmacológicas (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Su papel como anti prurítico, tratamiento para problemas oculares y sedante, entre otros usos, ha dejado una marca indeleble en la herencia cultural y científica.

Sin embargo, el capulí enfrenta desafíos contemporáneos. Estudios recientes en Ecuador, por ejemplo, han alertado sobre la disminución alarmante de su abundancia y diversidad genética (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022). Este deterioro genético ha catalizado esfuerzos de investigación para preservar y valorar su diversidad genética y sus usos tradicionales. A pesar de los avances en conservación y propagación *in vitro*, persisten lagunas en nuestro entendimiento sobre sus aplicaciones y los factores que limitan su establecimiento y valorización (Carrasco, et al., 2022). En la provincia de Tungurahua, situada en el corazón de Ecuador, el capulí juega un papel destacado en la biodiversidad local y en la vida de las comunidades. Su importancia como recurso natural y cultural ha motivado la investigación y el desarrollo de estrategias para su conservación y aprovechamiento sostenible (Baquero et al., (2023).

En este entorno, la propagación tradicional del capulí enfrenta ciertas limitaciones, particularmente en términos de diversidad genética y la eficiencia del proceso. La técnica de cultivo *in vitro* de *Prunus serotina* se presenta como una alternativa prometedora para generar plantas con características genéticas homogéneas. No obstante, esta metodología aún debe superar obstáculos vinculados a su eficiencia y costos antes de ser considerada factible para la producción comercial de plantas (Guzmán, Almaguer, & Segura, 2020).

La investigación consta de cinco capítulos: el primero establece el problema y los objetivos, el segundo revisa el marco teórico, incluyendo antecedentes y teorías sobre la propagación *in vitro* de *Prunus serotina*. El tercer capítulo describe la metodología, desde la selección de los árboles élite hasta la propagación *in vitro* de los segmentos nodales. El cuarto capítulo presenta y analiza los resultados del estudio. Por último, el quinto capítulo contiene las conclusiones y recomendaciones, resaltando los hallazgos y sugiriendo futuras investigaciones en el tema.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El capulí *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879* es una especie arbórea de gran importancia en la provincia de Tungurahua, Ecuador, tanto desde el punto de vista económico como cultural y ambiental. Sin embargo, en los últimos años se ha observado una disminución en la abundancia y diversidad genética de esta especie, lo que representa una amenaza para su persistencia a largo plazo y para los ecosistemas que dependen de ella (Moncayo, 2017).

En Tungurahua, no se cuenta con métodos efectivos y sostenibles para reproducir y conservar el "capulí". Aunque se han adoptado algunas medidas para preservarlo, como la reserva de algunos de los lugares donde crece naturalmente, así como la creación de bancos de germoplasma; los medios convencionales de propagación presentan dificultades por su eficacia y uniformidad genética. (Jaramillo et al., (2023).

La propagación *in vitro*, mediante la técnica de micropropagación, se presenta como una alternativa prometedora para superar estas limitaciones y contribuir al aprovechamiento sostenible del patrimonio natural en la provincia de Tungurahua. Sin embargo, la falta de una metodología adecuada y específica para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879* a partir de segmentos nodales de árboles élite constituye un obstáculo importante que limita el desarrollo de esta técnica en la región (Baquero et al., (2023).

Por lo tanto, es necesario diseñar una metodología precisa y eficiente para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*, que permita aprovechar al máximo el potencial genético de la especie y garantice la producción de plantas sanas y vigorosas para su reintroducción en el medio natural y su uso sostenible por parte de las comunidades locales.

1.2 Objetivos

1.2.1 *Objetivo General*

Diseñar una metodología para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879* a partir de segmentos nodales de árboles élite.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Establecer las condiciones de cultivo para el establecimiento de segmentos nodales desde plantas madres.
- Determinar el medio de cultivo para la multiplicación y el enraizamiento *in vitro* de brotes de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*.
- Establecer los costos de producción para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*.

1.3 Justificación

El estudio sobre el capulí, científicamente conocido como *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*, tiene como finalidad combatir la reducción de la diversidad biológica de este valioso recurso. Procede de diferentes zonas. Este árbol es muy importante en los ecosistemas locales, ya que contribuye a la diversidad de especies y a mejorar la salud del medio ambiente. Es primordial para la existencia de este árbol en cuanto a tener consecuencias negativas sobre las especies autóctonas, así como sobre los servicios ecosistémicos si desaparece debido a posibles procesos de extinción. Su capacidad para florecer en tierras áridas y en condiciones de sequía lo convierte en un buen candidato para iniciativas de rehabilitación de suelos y restauración ecológica (Carrasco, et al., 2022). La importancia del capulí en los ecosistemas y la promoción de estrategias de conservación ante la inquietante pérdida de su biodiversidad son algunos de los puntos destacados en la investigación.

Por otro lado, el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales de *Prunus serotina* es crucial para producir plantas uniformes y de alta calidad; un elemento vital para su cultivo a gran escala. Asegura que la estabilidad genética de las plantas y la calidad filogenética son necesarias para mantener la diversidad genética de las especies; de este modo; asegurando su supervivencia en el tiempo (Salazar, et al., 2021). Es fundamental perfeccionar las técnicas de cultivo *in vitro* para asegurar la viabilidad y el desarrollo sostenible de los frutales, en particular de la maracuyá morada. Los objetivos abarcan determinar las condiciones ideales de crecimiento, seleccionar el medio de cultivo más eficaz para la multiplicación y enraizamiento de los brotes y evaluar los costes de producción para reducirlos promoviendo así su uso en cultivos masivos. Los hallazgos de esta investigación podrían ser transferibles a otras especies forestales y agrícolas, ayudando así a mejorar la producción vegetal y al mismo tiempo conservar la biodiversidad.

1.4 Hipótesis

Hipótesis nula: No hay variación estadísticamente significativa en la tasa de brotación y enraizamiento *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*.

Hipótesis alternativa: Existe una variabilidad estadísticamente significativa en la eficiencia de brotación y enraizamiento *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

2.1 Cultivo *in vitro* Taxonomía Morfología y Reproducción

2.1.1 Definición

El cultivo *in vitro* es un método que implica tomar una parte de una planta, como el ápice, la hoja, el tallo o la semilla, y colocarla en un medio nutritivo estéril en el que se regenerará una o varias plantas. Esta técnica ha sido cada vez más utilizada en las últimas décadas para establecer plantas con características genéticas específicas o para producir compuestos, y para obtener cultivos más saludables (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.1.2 Fases del cultivo *in vitro*

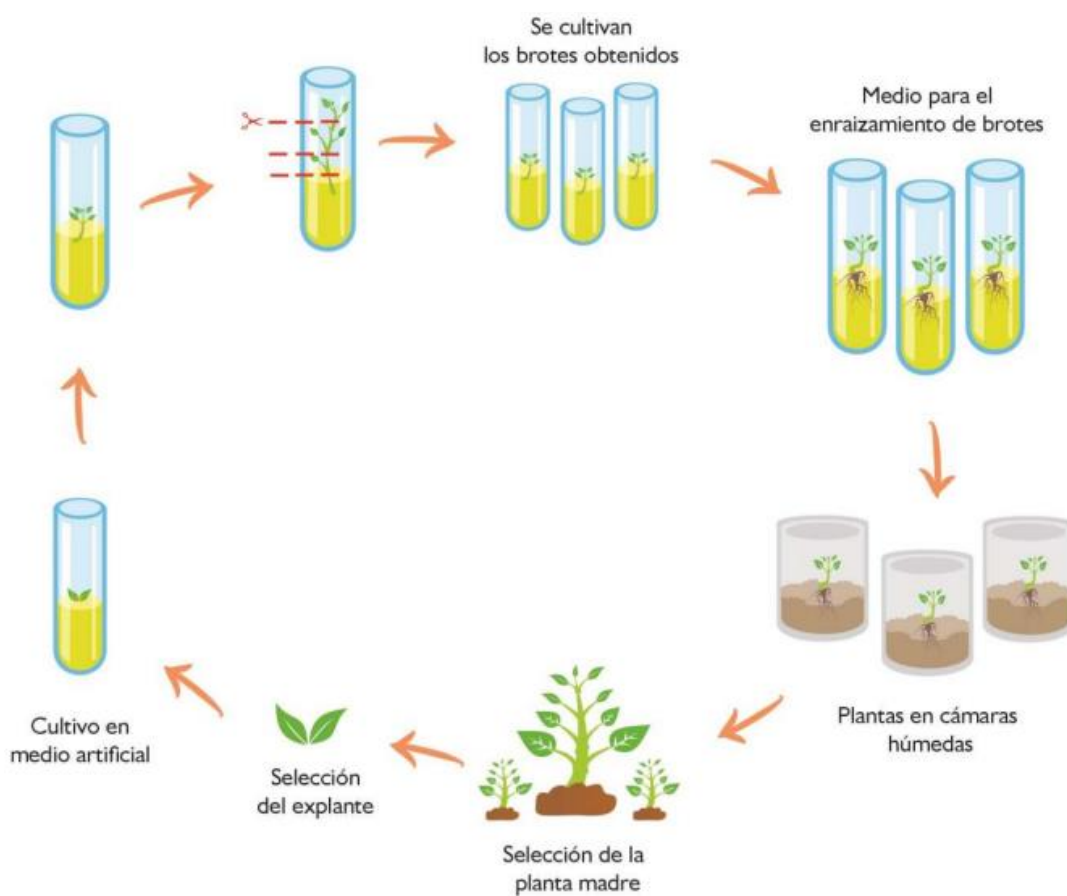


Ilustración 2-1: Fases de cultivo *in vitro* vegetal.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.1.2.1 Fase 0: selección de la planta madre.

El inicio del proceso de multiplicación de plantas in vitro implica una cuidadosa selección de las plantas parentales, las cuales deben estar en condiciones óptimas de nutrición y crecimiento. Es fundamental cultivar estas plantas en un entorno controlado, como un invernadero, bajo estrictas normas de limpieza para garantizar que estén libres de patógenos. Al seleccionar la planta madre se deben tener en cuenta varias consideraciones. Éstas incluyen; su edad, estado durante la cosecha, tamaño y sanidad general. La edad y la fisiología de la planta son importantes para garantizar una respuesta eficaz al método de multiplicación in vitro. Generalmente se prefieren los tejidos jóvenes que no han sufrido mucha diferenciación para reducir las posibilidades de enfermedades (Alvarez & Pozo, 2021).



Ilustración 2-2: Fase 0: Selección de la planta madre.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.1.2.2 Fase I: introducción al medio.

Es esencial sostener una limpieza estricta durante la fase de desinfección y cuando se introduce el tejido en el medio de cultivo inicial para promover la morfogénesis de las plantas en condiciones de laboratorio. Al escoger el tejido apropiado para comenzar, su tamaño es un elemento clave. Un tejido más grande puede facilitar un crecimiento y regeneración mayores, pero aumenta el riesgo de contaminación. En contraste, los tejidos más pequeños pueden disminuir este riesgo, aunque su manejo resulta más difícil y podrían necesitar medios de cultivo más avanzados. Así, la selección del tamaño del tejido representa una decisión crucial que requiere un equilibrio meticuloso entre mantener la esterilidad y asegurar un proceso de cultivo efectivo (Alvarez & Pozo, 2021).



Ilustración 2-3: Fase I: Introducción al medio.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.1.2.3 Fase II: multiplicación

En esta fase, el objetivo es inducir la producción de brotes axilares o adventicios en los explantes que se establecieron en la fase anterior. A partir de los segmentos nodales, se puede obtener una nueva planta mediante la regeneración de un nuevo vástago. Para lograr un mayor número de brotes en un menor tiempo, es necesario realizar este proceso en ambientes asépticos y en equipos especiales como la cámara de flujo laminar. La cantidad de explantes obtenidos dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo, así como de la eliminación de factores que retrasen el crecimiento. Los explantes se subcultivan constantemente para obtener un aumento exponencial (Alvarez & Pozo, 2021).



Ilustración 2-4: Fase II: Multiplicación.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.1.2.4 Fase III: enraizamiento

La fase de enraizamiento es fundamental en la producción de plantas en el laboratorio. Este paso garantiza que las plantas desarrollen la capacidad de absorber nutrientes y agua de manera efectiva, preparándolas para su trasplante al medio natural. Durante este proceso, las raíces

emergen de los brotes que se han generado en la etapa de multiplicación previa. En algunos casos, el enraizamiento puede ocurrir simultáneamente con la multiplicación (Araque et al., 2018).

Para favorecer la formación de raíces, es posible incluir sustancias como auxinas (como AIA e IBA), modificar los ciclos de luz y emplear compuestos fenólicos. Además, la aplicación de carbón activado también puede estimular el desarrollo de raíces, así como el crecimiento de hojas y tallos (Alvarez & Pozo, 2021).



Ilustración 2-5: Fase III: Enraizamiento.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.1.3 Ventajas y Desventajas

Tabla 2-1. Ventajas y Desventajas del cultivo *in vitro*

Ventajas	Desventajas
Reproducción rápida: el cultivo <i>in vitro</i> permite la reproducción rápida de células, tejidos y organismos, lo que permite obtener grandes cantidades de material en poco tiempo.	Costoso: el cultivo <i>in vitro</i> puede ser costoso debido a la necesidad de equipos especializados y medios de cultivo específicos.
Control de las condiciones de crecimiento: en el cultivo <i>in vitro</i> , las condiciones de crecimiento se pueden controlar con precisión, lo que permite un	Contaminación: el cultivo <i>in vitro</i> es vulnerable a la contaminación microbiana y fúngica, lo que puede ser difícil de controlar y afectar negativamente los resultados.

Ventajas	Desventajas
crecimiento óptimo de las células y tejidos.	
Investigación y desarrollo: el cultivo <i>in vitro</i> es una herramienta importante en la investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, terapias y técnicas de ingeniería genética.	Estrés: las células y tejidos cultivados <i>in vitro</i> pueden experimentar estrés debido a las condiciones artificiales de cultivo, lo que puede afectar su función y comportamiento.
Propagación de plantas: el cultivo <i>in vitro</i> también se utiliza para propagar plantas de manera eficiente, lo que puede ayudar a preservar especies en peligro de extinción	Falta de variabilidad genética: el cultivo <i>in vitro</i> puede resultar en una pérdida de variabilidad genética, lo que puede ser un problema para la conservación de la biodiversidad.

Fuente: (Garzón & Ramírez, 2018).

2.2 *Prunus serotina*

2.2.1 Definición

La subespecie capulí de *Prunus serotina* es un tipo de árbol que suele alcanzar una altura de entre 5 y 10 metros al llegar a su plena madurez. Originario de América del Norte, el capulí se extiende desde México hasta Bolivia, creciendo en altitudes que varían entre los 1000 y 3200 metros sobre el nivel del mar; en Ecuador específicamente, se encuentra en la región del callejón interandino de la sierra, abarcando desde la provincia de Carchi en el norte hasta Loja en el sur (Chalán, 2019).

2.2.2 Clasificación taxonómica

Tabla 2-2. Clasificación taxonómica del *Prunus serotina*

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsysda</i>
Subclase	<i>Monocotiledónea</i>

Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Rosaceae</i>
Género	<i>Prunus</i>
Especie	<i>Prunus serotina Ehrh.</i>

Fuente: (Guzmán, Almaguer, & Segura, 2020).

2.2.3 *Especie*

Conocido también como capulí es un árbol que pertenece a la familia *Rosaceae*, género *Prunus* y especie serótina (*Prunus serotina* Ehrh). Es nativo de América del Norte, específicamente de México, pero se ha extendido a lo largo del continente americano. Algunas personas creen que es una especie forestal autóctona de la región andina, mientras que otros afirman que los mejores cultivares se encuentran en suelo ecuatoriano (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

2.2.4 *Tipos*

2.2.4.1 *Coral o coralito*

Caracterizado por la coloración en sus frutos que es de un tono rojo-píton, este tipo de fruto es el más apetecido por la población ecuatoriana, sin embargo, es muy escasa (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

2.2.4.2 *Negro*

Caracterizado por la coloración de sus frutos es de color negro, se encuentra con mayor facilidad en el Ecuador (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).



Ilustración 2-6: Tipos de *Prunus serotina*

Fuente: (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022)

2.2.5 Características

El capulí es una especie arbórea perenne que puede alcanzar alturas superiores a los diez metros. Tiene hojas lanceoladas simples que se conectan a las ramas mediante un peciolo corto. Las flores se presentan en racimos y son de tamaño pequeño y color blanco. Los frutos son drupas que cambian de color de negro a rojizo cuando están maduros, y contienen una sola semilla rodeada por el endocarpio (Salazar, et al., 2021).



Ilustración 2-7: Características de *Prunus Serotina*

Fuente: (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022)

Más allá de los atributos mencionados, el capulí se manifiesta por su resistente tronco y una amplia copa de hasta quince metros de diámetro. La especie, sin embargo, exhibe una fuerte adaptación y resistencia, ya que consigue desarrollarse en una serie de terrenos y climas que van desde los bosques tropicales húmedos hasta las áreas secas y semiáridas (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

El sabor del fruto del capulí es dulce y zumoso, es una de las cualidades más atractivas de este árbol. No sólo es sabroso, sino que posee beneficios de alto valor nutritivo. Por ello es una opción beneficiosa y nutritiva (Chalán, 2019).

2.2.6 Usos y conocimientos tradicionales asociados

Tabla 2-3. Usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí para la alimentación y medicina en García Moreno

Usos reportados del capulí a nivel global	Usos identificados	Conocimientos tradicionales asociados
1. Alimento fresco o procesado (mermeladas y bebidas fermentada) a base de frutos.	Alimento humano	Preparación de bebida denominada "jcucho" (cocción conjuntamente con durazno y cebada).
2. Alimentación animal (frutos).	Alimento para cerdos	Recolección de frutos caídos en suelo.
3. Alimentación animal (ramas tiernas y hojas).	Alimento para cuyes	Dar en brotes tiernos. Evitar proporcionar en hora de sol para evitar torzón (hinchamiento de estómago). Los bovinos no toleran este alimento.
4. Prácticas de conservación del fruto por periodos prolongados.	Ninguno	Poner en soberado para secado (parte alta de cuarto de cocina) y posterior rehidratación para consumo. Actualmente ya no se realiza.
5. Uso medicinal (corteza, hojas y frutos). Expectorante, sedante estimulante y antiespasmódico.	Medicina contra heridas	Masticar hojas y colocar en lastimado para cicatrizar heridas. La población local desconoce otros usos medicinales.
6. Parto, enfriamientos, mal aire, hechizos, enfermedades de los huesos y fiebres.	Ninguno	Los campesinos desconocen estos usos.

Fuente: Tamayo et al. (2022).

Tabla 2-4. Usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí en relación a servicios ambientales en García Moreno.

Usos reportados a nivel global	Usos identificados a nivel local	Conocimientos tradicionales asociados
Recuperación de terrenos degradados.	Ausente	Desconocen este tipo de uso.
Control de la erosión.	Escaso	Conocimiento parcial de esta bondad.
Barrera rompevientos.	Presente	Existe la creencia que atrapa viento. En función de la ubicación en un lote, se asigna propiedad del árbol.
Cercas vivas.	Utilizado parcialmente	-
Sombra.	Presente	Ubicar alimento para animales (pasto) bajo los árboles y resguardo en épocas muy calurosas.
Refugio para aves.	Presente	Varias especies de aves habitan en estos árboles.
Alimento para especies silvestres.	Presente	Varias aves lo consumen.
Siembra en ambientes contaminados.	Ausente	Desconocen este tipo de uso.

Fuente: Tamayo et al. (2022).

Tabla 2-5. Otros usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí en García Moreno

Usos reportados del capulí a nivel global	Usos identificados a nivel local	Conocimientos tradicionales asociados
1. Música y aspectos culturales.	Presente	Sonidos y canciones en base al contacto y paso de aire entre labios y hojas.
2. Combustible (madera).	Limitado	Para asar el cuy. Creencia que el carbón de la madera de capulí tiene mayor duración que otro tipo de combustible vegetal.

Usos reportados del capulí a nivel global	Usos identificados a nivel local	Conocimientos tradicionales asociados
3. Construcción y carpintería.	Ausente	Los campesinos destacan al árbol de capulí como fuente de buena madera.
4. Industria de jabones y pinturas.	Ausente	Los agricultores desconocen este tipo de uso.
5. Insecticida (hojas y semillas tiernas).	Ausente	Los agricultores desconocen este tipo de uso.

Fuente: Tamayo et al. (2022).

2.2.7 Importancia de su cultivo

El capulí es fundamental en contextos ecológicos y económicos. Sus frutos son muy demandados y utilizados para elaborar jugos, jaleas y otros productos comestibles. Las hojas y la corteza de capulí son apreciadas por muchos porque tienen efectos curativos naturales, lo que las hace importantes en la medicina tradicional debido a sus propiedades curativas, que incluyen antioxidantes útiles en el tratamiento de afecciones como la diabetes o la hipertensión (Chalán, 2019). Además, es muy adecuado para plantar en zonas degradadas y puede crecer hasta 25 m, por lo que también es una excelente fuente de sombra y frutos (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

2.3 Propagación de *Prunus serótina*

2.3.1 Métodos tradicionales de propagación o cosecha

Tabla 2-6. Recolección de capulí

Aspecto	Descripción
Método de recolección	Manualmente o con la ayuda de palos largos
Desafíos	Dificultad para alcanzar frutos en las ramas altas Especialmente duro para personas mayores
Participación de jóvenes	Más frecuente debido a su agilidad y habilidad para trepar y alcanzar frutos difíciles de encontrar

Fuente: Carrasco, et al. (2022).

En lo que respecta a la cosecha del capulí, esta se realiza una vez al año, durante un periodo de dos meses aproximadamente. Es importante destacar que la cosecha es progresiva, es decir, los

frutos no maduran todos al mismo tiempo, por lo que se requiere un seguimiento constante para recolectar los frutos en su punto óptimo de madurez (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

En cuanto a la recolección, la selección y clasificación de la fruta primero se retira toda la fruta dañada o podrida y se escoge la que está en buen estado para venderla o procesarla, así se asegura el control de calidad (Guzmán, Almaguer, & Segura, 2020).

Tabla 2-7 Métodos tradicionales de propagación

Obtención y manejo de la semilla	
Fuente de semilla	En la producción de semillas de Capulí, se recomienda llevar a cabo la cosecha en huertas familiares o en su zona de distribución para evitar problemas de consanguinidad. Es importante seleccionar cuidadosamente los árboles que se utilizarán para obtener las semillas. Se prefieren aquellos que tienen una edad suficiente para producir semillas fértiles, además de ser dominantes y tener un buen crecimiento tanto en diámetro como en altura. También es importante que los árboles seleccionados tengan fustes rectos y sin deformaciones, una copa compacta y que estén libres de plagas y enfermedades.
Período de recolección	Agosto-Septiembre
Recolección	Se pueden recoger directamente del árbol o del suelo debajo del árbol. Se recomienda recolectar las semillas antes de que caigan al suelo para evitar que se pudran o se contaminen. Es importante utilizar herramientas adecuadas para recolectar las semillas, como ganchos afilados o cuchillas para empujar, jalar o cortar ramillas. Se debe tener cuidado al escalar el árbol y al recolectar las semillas para evitar dañar tanto el árbol como las semillas; el número de semillas por kilogramo puede variar según la especie y la región geográfica. En el caso del Capulí, se ha observado que hay aproximadamente 4.000 semillas por kilogramo
Recomendaciones	Para obtener semillas de calidad, es importante realizar la extracción lo más pronto posible para evitar que el fruto se fermente y dañe las semillas. Si es necesario almacenar los frutos, se recomienda secarlos en capas delgadas y ventilarlos bien. Para separar el pericarpio de la semilla, es necesario macerar los frutos, ya sea de manera manual o

Obtención y manejo de la semilla	
	mecánica. Después, se pasan por tamices con aberturas de mayor a menor para obtener semillas limpias, y se puede usar agua para facilitar la limpieza. En promedio, hay alrededor de 4.000 semillas por kilogramo
Producción de la planta	
Período de siembra	Verano
Tratamientos pregerminativos	Las semillas de capulí deben ser remojadas en agua durante un periodo de 6 a 9 días y luego secadas antes de su siembra. Otra opción es quitar el endocarpio o hueso leñoso, para lo cual se pueden dejar expuestas al sol y la lluvia para que se ablande la sutura en un periodo de 8 días. Si se elimina el hueso, se puede obtener una tasa de germinación cercana al 100% en un plazo de 8 a 10 días.
Método de siembra	El proceso de siembra de <i>Prunus serotina spp. capuli</i> implica sembrar las semillas en almácigos o directamente en contenedores, a una profundidad de 1.5 cm en un medio estéril que provea buena aeración y humedad. Se recomienda el uso de Captán como fungicida, con aplicaciones semanales durante 4 semanas. El trasplante se debe hacer cuando las plántulas tengan de 4 a 5 cm de altura, preferiblemente en la tarde o temprano por la mañana. Para evitar la formación de musgo, se puede poner una capa de tezontle fino desinfectado en la parte superior del sustrato. El sustrato debe tener buena textura, drenaje y capacidad para retener la humedad, y se pueden agregar fertilizantes orgánicos e inorgánicos para mejorar la nutrición de la planta. Se recomienda agregar arena y suelo de bosque para lograr la micorrización y, si es necesario, una solución de ácido fosfórico para ajustar el pH del sustrato.

Fuente: (Carrasco, et al., 2022).

2.4 Micropropagación *in vitro*

2.4.1 Definición

La micropropagación *in vitro* es también llamada “clonación *in vitro* de plantas, es una de los instrumentos de la biotecnología vegetal que más progreso ha tenido en los últimos años” (Castillo, Moreno, & García, 2020). Es una técnica de cultivo de tejidos vegetales que permite la propagación asexual de plantas mediante la generación de múltiples clones de una planta madre.

En el laboratorio, las plantas se producen en un entorno rigurosamente protegido. Emplean procedimientos que garantizan que todo esté limpio y sea inocuo. Eligen partes de las plantas y las cultivan en un medio especial que les ayuda a crecer mejor. Es como proporcionarles un entorno perfecto para que crezcan vigorosas y sanas (Moreno, et al., 2020).

2.4.2 Categorías en el desarrollo de cultivo *in vitro*

2.4.2.1 Organizado

Este tipo de cultivo se basa en la manipulación de tejidos vegetales que ya tienen una estructura y organización clara. Las áreas de crecimiento específicas incluyen frutos pequeños, nudos, meristemas apicales de tallos y raíces, botones florales y cultivos de embriones. Estos tejidos organizados continúan su desarrollo cuando se cultivan en el laboratorio manteniendo su forma original; esto hace posible clonar plantas usándolas o preservar material genético para uso futuro. Se mantienen en un medio que contiene todos los nutrientes y hormonas vegetales necesarios para ayudarles a crecer.

2.4.2.2 Desorganizado

En contraste, todavía el cultivo desorganizado afirma su atención en la multiplicación de partes de tejidos vegetales sin algún tipo de asistencia, como células individuales, suspensiones de células o callos. Estos fragmentos se cultivan en un medio enriquecido también por nutrientes y hormonas vegetales, lo que permite su crecimiento y la división celular (Castillo, Moreno, & García, 2020).

A diferencia del cultivo organizado, el tejido desorganizado puede cultivarse continuamente *in vitro* y expandirse en gran medida mediante subcultivos sucesivos. Estos tejidos se utilizan principalmente para la fabricación de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides y terpenos, que se utilizan en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética.

2.5 Tipos de cultivo *in vitro*

Tabla 2-8. Tipos de cultivo *in vitro*

Plantas intactas:	Se siembra la semilla <i>in vitro</i>
Cultivos de embriones	Se siembra el embrión aislado
Órgano aislado	Se siembran: meristemas, ápices del vástago, raíces, anteras, etc.

Callo	Se distingue porque una porción de tejido se diferencia <i>in vitro</i>
Células aisladas	Son células que crecen individualmente obtenidas a partir de un tejido, callo o cultivo en suspensión, con la ayuda de enzimas o mecánicamente.
Protoplastos	Se cultiva a través de células, se da el proceso en la pared celular generando una digestión enzimática.

Fuente: (Castillo, Moreno, & García, 2020).

2.6 Metodologías de propagación *in vitro*

2.6.1 *Micropropagación*

Esta técnica se basa en el uso de meristemos apicales, nudos y segmentos nodales para generar plantas con características uniformes y alta tasa de multiplicación, la ventaja de esta técnica es que permite la regeneración de plantas completas en un corto período de tiempo, además de ser útil para la propagación de plantas que tienen problemas de propagación convencional (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.6.2 *Embriogénesis somática*

Esta técnica utiliza la regeneración de embriones a partir de células somáticas de la planta, lo que permite la producción de grandes cantidades de plantas uniformes, se utiliza comúnmente para la propagación de especies de difícil propagación y para la conservación de la biodiversidad (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.6.3 *Organogénesis*

Esta técnica utiliza la regeneración de órganos a partir de explantes vegetales, como las hojas, tallos y raíces; la ventaja de esta técnica es que permite la regeneración de plantas completas con un bajo costo de producción, lo que la convierte en una alternativa viable para la producción comercial de plantas (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.6.4 *Cultivo de tejidos*

Esta técnica utiliza la regeneración de células y tejidos vegetales en un medio de cultivo adecuado, es útil para la propagación de plantas que son difíciles de propagar por otros métodos y también para la producción de plantas transgénicas (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.7 Medios de cultivo *in vitro*

Es importante destacar que cuando se encuentra en la fase de micropropagación *in vitro* bajo el método convencional se emplean diversos medios de cultivo, es así que resulta “de tipo semisólido y líquido como en la fase de establecimiento se utiliza medio sólido, semi-sólido y líquido, fase de multiplicación medio sólido y semisólido, fase de enraizamiento medio sólido y semisólido” (Castillo et al., 2020 pág. 176).

2.7.1 Componentes de los medios de cultivo *in vitro*

2.7.1.1 Sales Minerales

Los macronutrientes y micronutrientes son compuestos inorgánicos que se agregan al medio de cultivo para proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales *in vitro*. Los macronutrientes incluyen elementos como el nitrógeno, el fósforo y el potasio, mientras que los micronutrientes incluyen elementos como el hierro, el zinc y el manganeso. Estos elementos son esenciales para la formación de proteínas, ácidos nucleicos, clorofila y otros compuestos importantes para el crecimiento y desarrollo vegetal (Tejada, Meléndez, Vilca, Huaman, & Oliva, 2022).

2.7.1.2 Vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos esenciales que las plantas no pueden sintetizar por sí mismas, lo que hace necesario su aporte externo, especialmente en entornos controlados como los laboratorios. Se añaden en cantidades muy pequeñas al medio de cultivo para promover el crecimiento y desarrollo saludable de las plantas (Tejada, Meléndez, Vilca, Huaman, & Oliva, 2022).

2.7.1.3 Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento son agentes químicos que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Algunos de estos reguladores son producidos de manera natural por las plantas mismas, mientras que otros son formulados sintéticamente. En el campo de la agricultura y horticultura, se utilizan ampliamente para optimizar la producción de cultivos y manejar el desarrollo de las plantas bajo diversas condiciones ambientales (Araque , et al., 2018).

2.7.1.4 Fuentes de carbono

La fuente de carbono es un compuesto orgánico que se utiliza como fuente de energía y carbono para el crecimiento y la división celular; la sacarosa es una fuente de carbono comúnmente utilizada en los medios de cultivo *in vitro* (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

Las principales fuentes de carbono utilizadas en medios de cultivo *in vitro* son:

Tabla 2-9 Principales fuentes de carbono para cultivo *in vitro*

Fuente	Importancia
Sacarosa	Es el principal azúcar utilizado como fuente de carbono en los medios de cultivo <i>in vitro</i> . Proporciona carbono y energía para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales y microorganismos. La concentración de sacarosa puede variar según el tipo de cultivo, pero generalmente se encuentra en una concentración de 20 a 30 gramos por litro de medio de cultivo.
Glucosa	Es otro azúcar comúnmente utilizado como fuente de carbono en los medios de cultivo <i>in vitro</i> . Proporciona carbono y energía para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales y microorganismos. La concentración de glucosa también puede variar según el tipo de cultivo, pero generalmente se encuentra en una concentración de 10 a 20 gramos por litro de medio de cultivo.
Fructuosa	Es otro azúcar utilizado como fuente de carbono en los medios de cultivo <i>in vitro</i> . Proporciona carbono y energía para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales y microorganismos. La concentración de fructuosa en los medios de cultivo varía según el tipo de cultivo, pero generalmente se encuentra en una concentración de 5 a 10 gramos por litro de medio de cultivo.
Ácido málico	Es un ácido orgánico que se utiliza como fuente de carbono en algunos medios de cultivo <i>in vitro</i> . Proporciona carbono y energía para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales y microorganismos. La concentración de ácido málico puede variar según el tipo de cultivo, pero generalmente se encuentra en una concentración de 2 a 3 gramos por litro de medio de cultivo.

Fuente: (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.7.1.5 *Otros compuestos orgánicos*

Otros compuestos orgánicos que se pueden agregar al medio de cultivo incluyen aminoácidos, antioxidantes, poliaminas, ácidos orgánicos y carbohidratos (Tejada, Meléndez, Vilca, Huaman, & Oliva, 2022).

2.7.1.6 *Otros compuestos de uso específico*

Algunos compuestos, como los herbicidas, se pueden agregar al medio de cultivo para seleccionar o eliminar células específicas (Chávez, Andrade, Juárez, Villegas, & Perdomo, 2019).

2.7.1.7 *Gelificante*

En algunos casos, se puede agregar un gelificante al medio de cultivo para solidificarlo y proporcionar una matriz para el crecimiento de los tejidos vegetales. El agar es un gelificante comúnmente utilizado en los medios de cultivo *in vitro* (Tejada, Meléndez, Vilca, Huaman, & Oliva, 2022).

2.7.1.8 *Suplementos de composición indefinida*

Los suplementos de composición indefinida son aquellos que no se pueden caracterizar completamente, pero que pueden contener compuestos importantes para el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales *in vitro* (Alvarez & Pozo, 2021).

2.7.1.9 *Agua*

El agua es un componente esencial de cualquier medio de cultivo *in vitro* y se utiliza como solvente para la mayoría de los componentes del medio de cultivo. La calidad del agua utilizada en el medio de cultivo puede tener un impacto significativo en el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales *in vitro* (Tejada, Meléndez, Vilca, Huaman, & Oliva, 2022).

2.8 Segmentos nodales

2.8.1 *Definición*

Los nudos en los tallos de las plantas funcionan como las articulaciones del cuerpo humano, uniendo hojas, ramas y flores al tallo principal. Estas áreas no solo conectan, sino que albergan

meristemos axilares, los centros de crecimiento para ramas laterales y flores. Son vitales para el desarrollo de la planta, permitiéndole expandirse y reproducirse (Guamán, 2022).



Ilustración 2-8: Ejemplo de obtención de segmento nodal de lima ácida-variedad Tahití
Fuente: (Vidal, 2014).

2.8.2 Estructura

Tabla 2-10 Estructura de los segmentos nodales

Partes	Función
Nodo	Es la parte más importante del segmento nodal, ya que es donde se encuentran las yemas, que son estructuras que pueden dar origen a nuevos brotes, ramas y hojas.
Meristemos	Son tejidos que tienen la capacidad de dividirse y diferenciarse en diferentes tipos de células, lo que permite el crecimiento y desarrollo de la planta.
Internodos	Son las secciones de tallo que se encuentran entre los nodos, son importantes para determinar la longitud de los tallos y la distancia entre las hojas y los brotes.
Hojas	Son estructuras que se desarrollan en los nodos y que tienen la función de realizar la fotosíntesis, produciendo energía a partir de la luz solar. Las hojas también pueden ser importantes para la respiración y la transpiración de la planta.
Ramas	Son estructuras que se desarrollan en los nodos y que tienen la función de soportar hojas y otros brotes. Las ramas también pueden ser importantes para la producción de flores y frutos.

Fuente: (Vidal, 2014).

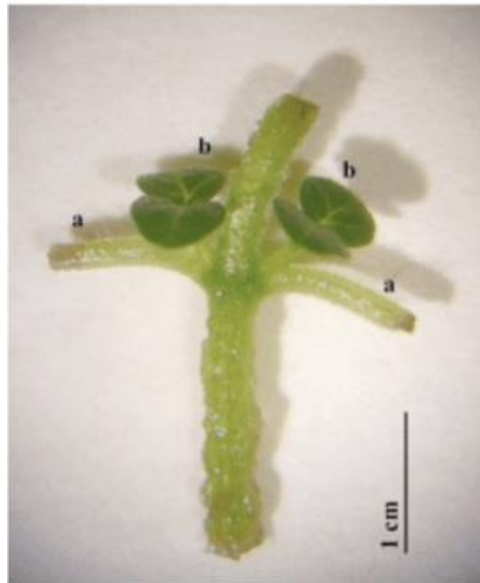


Ilustración 2-9: Estructura de un segmento nodal
Fuente: (Vidal, 2014)

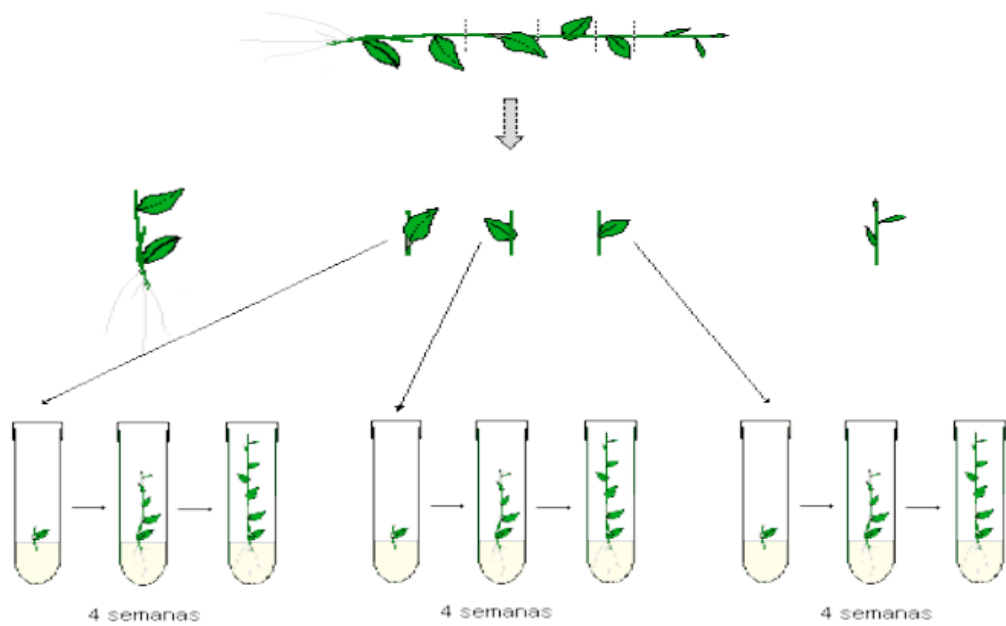


Ilustración 2-10: Representación esquemática del método de explantes nodales
Fuente: (Vences, 2016).

2.8.3 Relevancia ecológica de los segmentos nodales

Los nodos son elementos importantes en la reproducción de las plantas. A través de estos nudos es posible conseguir vástagos de las raíces que reproducen la planta original, creando así nuevos árboles (Díaz, et al., 2020). Esta manera de producción asexual es tan eficiente como económica y de gran importancia en la protección de las especies vegetales.

Sin embargo, las partes donde se unen los tallos ayudan a la planta a rebrotar. Allí, los brotes pueden curar las heridas y desarrollar nuevas ramas y hojas, esto para que las plantas se repongan tras ser dañadas. En medicina, se aprovechan los extractos de estas plantas para tratar dolencias y heridas, aprovechando esta capacidad regeneradora (Rojas, et al., 2021).

Por su parte, los puntos donde se juntan los tallos son vitales para que las matas crezcan y se adapten con tiempo. De estos puntos salen nuevos brotes que se vuelven tallos, ramas y hojas, que ayudan a la misma a esparcirse y adaptarse. Este mecanismo es muy útil para combatir el cambio climático, ya que las plantas absorben CO₂ y lo convierten en materia biológica (Guamán, 2022).

Los segmentos nodales contribuyen significativamente a la función que desempeñan las plantas ecológicamente en los ecosistemas. La fotosíntesis, que sigue siendo esencial para la supervivencia de los organismos vivos, produce oxígeno y secuestra dióxido de carbono. Al mismo tiempo, brindan refugio y apoyo a otros seres vivos, lo que los convierte en esenciales para la preservación de la biodiversidad (Guamán, 2022).

2.9 Árboles Selectos

2.9.1 Definición

Los capulíes de calidad superior, una singular variedad de *Prunus serotina*, son muy apreciados y cultivados por su tronco fuerte y macizo. La gente los elige por su altura, su verticalidad y su madera fuerte y compacta, perfecta para fabricar muebles finos y otros objetos (Carrasco, et al., 2022).

La mayoría de estos árboles crecen en un clima y un suelo favorables para su cultivo. Aunque también se plantan en bosques cultivados, donde se cuidan constantemente para que crezcan con la mejor calidad, generalmente se encuentran en Loja.

2.9.2 Características

Las características que deben cumplir los árboles de *Prunus serotina* para ser considerados élite van a estar definidas por los productores y los compradores de la madera, y pueden variar ligeramente según los criterios específicos de cada uno; sin embargo, a continuación, se presentan algunas características generales que suelen ser usadas para la diferenciación de estos árboles y

por consiguiente la comercialización de los mismos dentro de mercados nacionales como internacionales.

Tabla 2-11. Características de un árbol élite de *Prunus serotina*

Características	Requerimiento
Crecimiento recto	El árbol debe haber crecido en una dirección vertical sin ramificaciones significativas, lo que garantiza la calidad y la uniformidad de la madera.
Tronco grueso	El diámetro del tronco debe ser de al menos 40 centímetros a la altura del pecho, lo que indica una edad suficiente y un crecimiento saludable.
Madera dura y densa	La madera debe ser de alta calidad, dura y densa, con un grano uniforme y sin defectos significativos, como nudos, grietas, manchas o deformaciones.
Sin enfermedades ni plagas	El árbol debe estar libre de enfermedades, plagas o daños significativos, lo que garantiza la calidad y la salud de la madera.
Cuidado y manejo adecuado	El árbol debe haber sido cuidado y manejado adecuadamente durante su crecimiento, incluyendo riego, fertilización y poda, lo que asegura su calidad y su valor comercial.

Fuente: (Guzman, Segura, & Almaguer, 2020).

2.9.3 Importancia de los árboles élite para la biodiversidad

A nivel mundial, los capulíes son muy apreciados por su calidad y constituyen una fuente de ingresos para los agricultores de Ecuador. Sin embargo, su creciente fama y sus elevados precios los han puesto en peligro debido a la tala ilegal y la explotación incontrolada. Esto está provocando un preocupante descenso de sus siembras (Guzman, Segura, & Almaguer, 2020).

El capulí es una planta con diversos usos en la alimentación, como productor de madera y como planta ornamental, también se le atribuyen propiedades medicinales y se están realizando estudios para implementar su uso innovador en nuevas industrias (Chalán, 2019). La almendra del capulí es consumida en algunos países y se ha descubierto que es fuente de aceite para usos especiales, como agente quimioterapéutico contra el cáncer de seno (Guzman, Segura, & Almaguer, 2020). Además, se ha demostrado que el capulí es una excelente fuente de antioxidantes y fenoles totales, lo que lo hace un potencial aditivo en alimentos (Reyes, et al., 2019).

2.10 Aprovechamiento sostenible del patrimonio natural

Es fundamental establecer políticas y estrategias que promuevan la preservación y recuperación de ecosistemas para garantizar un manejo adecuado y duradero de nuestro patrimonio natural. Esto requiere un compromiso con la biodiversidad y un uso prudente de los recursos naturales, junto con la implementación de tecnologías eficaces y menos contaminantes para minimizar el impacto ecológico de nuestras actividades (Santander Fundación, 2020).

El establecimiento de políticas y estrategias que promuevan la preservación y recuperación de los ecosistemas es vital para garantizar una gestión adecuada y sostenible, lo que requiere un compromiso con la biodiversidad, como el uso prudente de los recursos naturales, combinado con tecnologías menos agresivas y eficientes que reduzcan los daños causados por las actividades realizadas.

Para beneficio de las generaciones futuras, es fundamental que los recursos naturales se gestionen de manera responsable para mantenerlos a ellos y a la diversidad biológica. Si queremos lograr este objetivo, se debe promover la educación y la conciencia pública sobre cuestiones ecológicas en estas comunidades y usuarios de recursos, así como fomentar métodos que ofrezcan protección y utilización sostenible de estos recursos (Santander Fundación, 2020).

2.10.1 Importancia de la conservación de las especies autóctonas

Hay varias maneras de proteger las especies locales, pero una de las más importantes es su aportación única a la biodiversidad y al ecosistema. Estas especies son esenciales para la diversidad biológica de cualquier hábitat natural y a la hora de mantenerlos ambientalmente son estables y sanos. Estas especies desempeñan funciones como la polinización y la dispersión de semillas de *Prunus serotina*, que no sólo favorecen la diversidad de la zona, sino que fomentan la estabilidad ecológica a largo plazo (Galarza, 2019).

Además, es esencial preservar las especies locales para gestionar eficientemente los recursos naturales que son importantes en industrias como la alimentaria, la farmacéutica y la manufacturera. Estos recursos, si se gestionan responsablemente, tienen potencial para generar beneficios sostenidos sin efectos adversos para las generaciones futuras. Además, las especies locales tienen un valor cultural y simbólico significativo para las comunidades, potenciando su identidad cultural y sirviendo para sostener su patrimonio cultural. Siendo así, proteger las

especies locales constituye a la vez una responsabilidad ecológica y un compromiso con el patrimonio cultural y natural de nuestra sociedad (Santander Fundación, 2020).

2.10.2 Relación entre el aprovechamiento del patrimonio cultural de *Prunus serotina* y el desarrollo económico y social

El aprovechamiento sostenible del patrimonio natural busca encontrar un equilibrio entre el desarrollo humano y la conservación del medio ambiente, promoviendo la utilización responsable de los recursos naturales y protegiendo la biodiversidad y los ecosistemas, este principio genera que esta especie sea clave en la regeneración natural de los bosques y es una fuente de alimento para muchos animales, incluyendo aves, mamíferos y reptiles. Su madera también es altamente valorada en la industria forestal para la producción de muebles finos, suelos y otros productos de madera su comercialización genera fuentes de trabajo e ingreso al Ecuador (Chalán, 2019).

El *Prunus serotina* es muy valioso en la medicina popular por su poder para tratar diversas dolencias, como la tos, la diarrea y la fiebre. En su cáscara y sus hojas se han encontrado sustancias con propiedades antitumorales y antiinflamatorias. Además, esta especie destaca su resistencia a enfermedades y plagas (Guzman, Segura, & Almaguer, 2020).

El uso sostenido de los recursos naturales y culturales es una forma importante de estimular el desarrollo económico. Por ejemplo, el ecoturismo puede incrementar los ingresos y crear empleo para la población local. Del mismo modo, el uso consciente de la madera de *Prunus serotina* en la producción de artesanía y muebles de alta categoría podría ser un objetivo económico para las comunidades. Asimismo, la investigación científica y la industria farmacéutica podrían beneficiarse del uso de esta planta (Tamayo, Mena, & Dilas, 2022).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Enfoque

3.1.1 *Enfoque epistemológico*

En relación al enfoque epistemológico de esta investigación, se puede identificar su fundamento en el paradigma positivista, el cual se caracteriza por su enfoque en la objetividad, la medición y la búsqueda de leyes generales. Esta investigación se sustenta en la recopilación de información verificable y objetiva, aplicando un método científico riguroso (Arias & Covinos, 2021).

En este caso, el propósito es encontrar una forma de alimentar a las plántulas de *Prunus serotina* en el laboratorio, lo que supone utilizar principios científicos y recopilar información práctica para averiguar si es eficaz y viable económicamente.

El enfoque epistemológico positivista implica que el investigador adopta una posición objetiva y neutral, con el fin de generalizar los resultados utilizando métodos y técnicas científicas rigurosas. El objetivo principal es obtener conclusiones confiables y verificables que contribuyan al progreso del conocimiento y al desarrollo sostenible y rentable de la especie (Hernández & Mendoza, 2018).

3.1.2 *Enfoque científico*

En nuestro estudio, adoptamos el enfoque y método científicos, que ofrecen una forma sistemática y estructurada de investigar un fenómeno. Específicamente, buscamos crear una metodología para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina*. Esto nos lleva a seguir una secuencia de pasos y emplear técnicas científicas para alcanzar los objetivos planteados.

Para ello, formulamos una hipótesis que establece una relación entre variables y que puede ser probada. Planteamos una hipótesis nula que sugiere que no hay una diferencia significativa en el número de brotes y enraizamiento *in vitro* de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*. Por otro lado, proponemos una hipótesis alternativa que sugiere lo contrario.

Realizamos la investigación empleando métodos y técnicas científicas adecuadas, que incluyen la revisión de literatura científica sobre la propagación *in vitro* de especies análogas, la ejecución de experimentos controlados en un ambiente de laboratorio, el análisis de los resultados y la formulación de conclusiones basadas en la evidencia recopilada.

El método científico también implica un compromiso con la neutralidad y la parcialidad en la recopilación y el análisis de los datos. Se aplicaron instrumentos de medición precisos y se registraron cuidadosamente los procedimientos y resultados. Además, se garantizó que los métodos fueran replicables y verificables, para que otros científicos pudieran repetir el estudio y ratificar los resultados.

3.2 Alcance

El alcance de esta investigación se centra en el diseño de una metodología para la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879*, a partir de segmentos nodales de árboles élite. El objetivo principal es mejorar la eficiencia y rentabilidad del proceso de propagación *in vitro* de esta especie, con el fin de producir plantas genéticamente estables y con alta supervivencia *ex vitro*.

En cuanto al alcance geográfico, la investigación se enfoca específicamente donde se encuentra ubicada esta especie es decir en la provincia de Tungurahua lugar donde se busca aprovechar de manera sostenible su patrimonio natural. Se considera importante estudiar las poblaciones locales de *Prunus serotina subsp capuli Ehrh, 1879* en esta región para entender mejor sus características genéticas y su distribución.

De abril de 2023 a abril de 2024, se desarrolló la investigación, en la que se recabaron datos y se llevaron a cabo valiosos análisis. Se pretende que las conclusiones y sugerencias de este estudio repercutan en la conservación y en la forma de manejar de forma sostenible estas especies en el futuro.

Cabe señalar que el objetivo específico de este estudio fue únicamente la propagación *in vitro* de *Prunus serotina subsp. capuli Ehrh, 1879*, sin tener en cuenta otros temas como la genética de poblaciones, la ecología de las especies o las interacciones entre ésta y el medio natural.

3.3 Tipo

En cuanto al tipo de investigación, esta es de naturaleza cuantitativa. Este enfoque se basa en la recopilación y análisis de datos numéricos para responder preguntas de investigación específicas (Hernández & Mendoza, 2018). Se utiliza para obtener resultados objetivos y generalizables, permitiendo establecer relaciones causales y patrones estadísticos.

Los métodos cuantitativos formaron la base de este estudio sobre el cultivo de tejidos de *Prunus serotina* ssp. *capuli* Ehrh, 1879, y la multiplicación *in vitro*. Dichos métodos basados en recopilación y análisis de datos fueron utilizados para adquirir datos numéricos que medirían la efectividad y la viabilidad del procedimiento respectivo, como el % de germinación, producto final, número de brotes, enraizamiento *in vitro*. La adquisición de datos se llevó a cabo de manera metódica y consistente, y es por ello que fue posible emplear herramientas estadísticas apropiadas.

El uso de un enfoque cuantitativo facilita la obtención de resultados medibles y extrapolables, lo que refuerza la objetividad y validez de los resultados (Hernández & Mendoza, 2018). Se utilizaron técnicas estadísticas para analizar los datos y determinar diferencias significativas entre los segmentos nodales recolectados de diferentes árboles élite en cuanto a germinación, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Prunus serotina* subsp. *capuli* Ehrh.

3.4 Diseño

En este estudio se aplicó una metodología experimental, empleada generalmente en la investigación científica, que consiste en la manipulación vigilada de variables independientes para valorar su efecto sobre una concreta variable dependiente (Arias & Covinos, 2021). Con este criterio es posible establecer conexiones causales y manejar los factores que pueden incidir en los resultados.

Para implementar un diseño experimental, se tiene como objetivo examinar el efecto de los segmentos nodales obtenidos de diferentes árboles élite en los procesos de germinación, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Prunus serotina* subsp. *capuli* Ehrh. Este diseño experimental permite establecer relaciones causales y obtener información precisa sobre cómo estos segmentos nodales recolectados de árboles élite afectan los resultados de la propagación *in vitro*.

Para poner en práctica este diseño experimental, se clasificaron los segmentos nodales recogidos en diferentes grupos de tratamiento, cada uno correspondiendo a un árbol élite distinto. Todos

estos grupos fueron expuestos a idénticas condiciones de cultivo, y se procedió a registrar variables como la tasa de germinación, la cantidad de brotes y el enraizamiento in vitro.

Para garantizar la confiabilidad interna de la investigación, se establecieron áreas uniformes controladas para el entorno de propagación in vitro, como la temperatura, la humedad, la iluminación y el medio de cultivo utilizado mientras se analizaban los datos para verificar las diferencias estadísticamente determinables presentes entre varios grupos de tratamientos. Al comparar los resultados de diferentes tratamientos a través de métodos estadísticos.

3.5 Características del lugar

3.5.1.1 Localización

Para la selección de los árboles élite *Prunus serotina subsp capuli Ehrh*, se eligió el laboratorio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) en la Parroquia de Licán, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, como el lugar óptimo. Aquí, estos árboles sobresalientes fueron cuidadosamente evaluados y seleccionados por sus cualidades, contribuyendo así a esta investigación.

3.5.1.2 Ubicación geográfica

Altitud 2820 m.s.n.m.

Latitud 01°38' 51' Sur

Longitud 78°46'50'' Oeste

3.5.1.3 Características climáticas

Humedad relativa: 76.2 %.

Precipitación anual: 763.8 mm.

Temperatura promedio: 15.1° C.



Ilustración 3-1: Mapa de ubicación del laboratorio de la ESPOCH de donde se tomaron las muestras

Fuente: <https://www.google.com/maps/@-1.651392,-78.681418,17z?entry=ttu>.

3.5.1.4 Características del cuarto de crecimiento

Fotoperiodo: 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

Humedad relativa: 60-70%.

Temperatura promedio: 19 – 23 °C.

3.6 Materiales y Equipos

3.6.1.1 Material Vegetal

Plántulas de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*, 1879 germinadas en el invernadero del laboratorio de la ESPOCH de 3 meses de edad.

3.6.1.2 Material de laboratorio

- Tubos de vidrio
- Gradillas
- Frascos de vidrio
- Bandeja
- Vasos de precipitación
- Papel de oficina
- Marcadores
- Cinta adhesiva
- Jarra plástica
- Pinzas
- Etanol
- Agua destilada
- Agar
- Medio de cultivo
- Sustrato
- Regla
- Cortador de plantas.

3.7 Métodos

3.7.1 Fase de establecimiento

El proceso de establecimiento de micropropagación de *Prunus serotina subsp capuli* comenzó con la selección y corte de explantes de tejido vegetal. Estos explantes se llevaron a una zona de trabajo limpia, donde se lavaron con una solución jabonosa (1-2% de detergente suave). Este primer paso tuvo el propósito de eliminar la suciedad superficial y reducir la carga microbiana que podría comprometer los cultivos subsiguientes.

Una vez preparada la zona de trabajo, se procedió a la desinfección de manos y antebrazos del personal con alcohol, para mantener un ambiente estéril y evitar la introducción de contaminantes en las muestras.

Los explantes preparados se trasladaron a un frasco que había sido previamente esterilizado en un autoclave, garantizando la eliminación de todos los posibles patógenos.

Luego, se preparó una solución al 70% de etanol, mezclando etanol puro con agua destilada. Se sumergió los fragmentos de tejido en esta solución durante un minuto para desinfectarlos a fondo. Después, se enjuagaron dos veces con agua destilada para asegurarnos de eliminar cualquier residuo de etanol, ya que podría afectar el crecimiento celular.

Posteriormente, se preparó una solución desinfectante de hipoclorito al 30%, ajustando la concentración con agua destilada. Los explantes se expusieron a esta solución por diez minutos, un tiempo calculado para maximizar la desinfección sin causar daño al tejido vegetal. Una exposición de 10 minutos es generalmente suficiente para asegurar una desinfección efectiva de la superficie de los explantes, eliminando contaminantes que podrían comprometer el éxito del cultivo in vitro. Aunque el hipoclorito es efectivo como agente desinfectante, también es potencialmente dañino para los tejidos vegetales si se usa de forma prolongada o en concentraciones demasiado altas. Los tejidos de las plantas pueden experimentar toxicidad química que resulta en necrosis o muerte celular. Limitar el tiempo de exposición a 10 minutos ayuda a minimizar estos efectos tóxicos, permitiendo una desinfección adecuada sin comprometer la viabilidad del tejido. Una vez más, se enjuagaron con agua destilada para remover cualquier vestigio de hipoclorito.

Una vez completada la fase de desinfección, se distribuyeron los fragmentos de tejido en diferentes tratamientos, que podrían haber variado en términos de la duración o concentración de las soluciones desinfectantes que utilizamos.

Como paso final en la fase de establecimiento, se cortaron los bordes de los explantes. Este corte tenía el propósito dual de promover el crecimiento de los tejidos y de preparar las muestras para las siguientes etapas del protocolo de micropropagación.

3.7.1.1 Diseño experimental

Se dispuso de tres tratamientos con diferentes tiempos de exposición: 5, 10 y 15 minutos, aplicados a 30 réplicas experimentales (90 en total), por tratamiento, para observar los efectos en las variables de interés.

3.7.1.2 Variables de estudio

Contaminados: Porcentaje de réplicas que presentan contaminación.

Vivos: Porcentaje de réplicas que sobreviven post-exposición.

Brotados: Porcentaje de réplicas, repeticiones de un mismo tratamiento sobre diferentes muestras o sujetos, que logran brotar, que se refiere al proceso y resultado de germinación o crecimiento inicial de una nueva planta.

Fenolizados: Porcentaje de réplicas sometidas al proceso de fenolización, que implica la exposición de material biológico a compuestos fenólicos.

3.7.1.3 Procedimiento de análisis

Para cada tratamiento y duración de exposición, se calculó el porcentaje de réplicas en cada categoría de las variables de estudio.

Se compararon los porcentajes para determinar la relación entre la duración de la exposición y la respuesta de las réplicas.

3.7.2 Fase de multiplicación

3.7.2.1 Variables de estudio

Se registraron dos variables de respuesta principales: el número de brotes y la longitud de los brotes, con un total de 154 observaciones para cada variable.

3.7.2.2 Componentes del medio de cultivo

Se preparó 2000 ml de medio base (Tabla 3-1) y se distribuyó para los 7 tratamientos a 285 ml por tratamiento.

Se distribuyó en 196 tubos (28 por tratamiento), añadiendo 10 ml de medio de cultivo por tubo de ensayo.

Tabla 3-1. Componentes del medio base

Componente	Cantidad	Cantidad en gramos
50% de sales HS	4,32 gr	4,32 gr
Mio-inositol	200 mg	0,20 gr
Tramina	4 ml	4 ml
L. Cisteína	100 mg	0.10 gr
PVP (Povivinil Pirrofidona)	500 mg	0,20 gr
Sacarosa	60 gr	60 gr
Caseína hidrolizable	1000 mg	1 gr
Agar	14 gr	2 gr / por tratamiento
pH	5,7	5,7

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

3.7.2.3 *Composición de los tratamientos*

Tratamiento 1: 285 ml medio; 2gr agar; 0 BAP; 0 ANA.

Tratamiento 2: 285ml medio; 2gr agar; 0,57 ml BAP; 570 uL ANA.

Tratamiento 3: 285ml medio; 2gr agar; 1,14 ml BAP; 1140 uL BAP.

Tratamiento 4: 285ml medio; 2gr agar; 1,71 ml BPA; 1710 uL BAP.

Tratamiento 5: 285ml medio; 2 gr agar; 1,14 BAP; 0,57 ANA; 570 uL BAP; 570 uL ANA.

Tratamiento 6: 285 ml medio; 2gr agar; 1,14 BAP; 0,57 ANA; 1140 uL BAP; 570 uL ANA.

Tratamiento 7: 285 ml medio; 2gr agar; 1,71 ml BAP; 0,57 ml ANA; 1710 uL BAP; 570 uL ANA.

3.7.2.4 *Análisis estadístico*

Análisis de Varianza (ANOVA): Se realizó un ANOVA para cada variable de respuesta (número y longitud de brotes), desglosando la varianza observada en componentes atribuibles a los tratamientos aplicados (modelo) y a la variabilidad no explicada por el modelo (error).

Test de Tukey: Posteriormente, se aplicó el Test de Tukey para identificar diferencias específicas entre las medias de los tratamientos, agrupándolos en categorías basadas en la significancia estadística de sus diferencias.

3.7.2.5 *Costos de producción*

Los costos de producción se estimaron tomando en cuenta los materiales disponibles en el mercado con el menor precio a nivel local, buscando optimizar el acceso a los productores locales.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

En esta sección de resultados, presentamos de manera estructurada los datos obtenidos a través de tablas y gráficos, acompañados de un análisis que permitirá una interpretación adecuada de los resultados y la obtención de conclusiones relevantes. Asimismo, se destaca la importancia de estos hallazgos en el contexto de la propagación *in vitro* de *Prunus serotina*, y cómo estos resultados pueden contribuir al desarrollo sostenible y la conservación de esta especie de gran valor económico y ecológico.

4.1 Objetivo específico 1: Establecer las condiciones de cultivo para el establecimiento de segmentos nodales

4.1.1 Fase 1 de Establecimiento

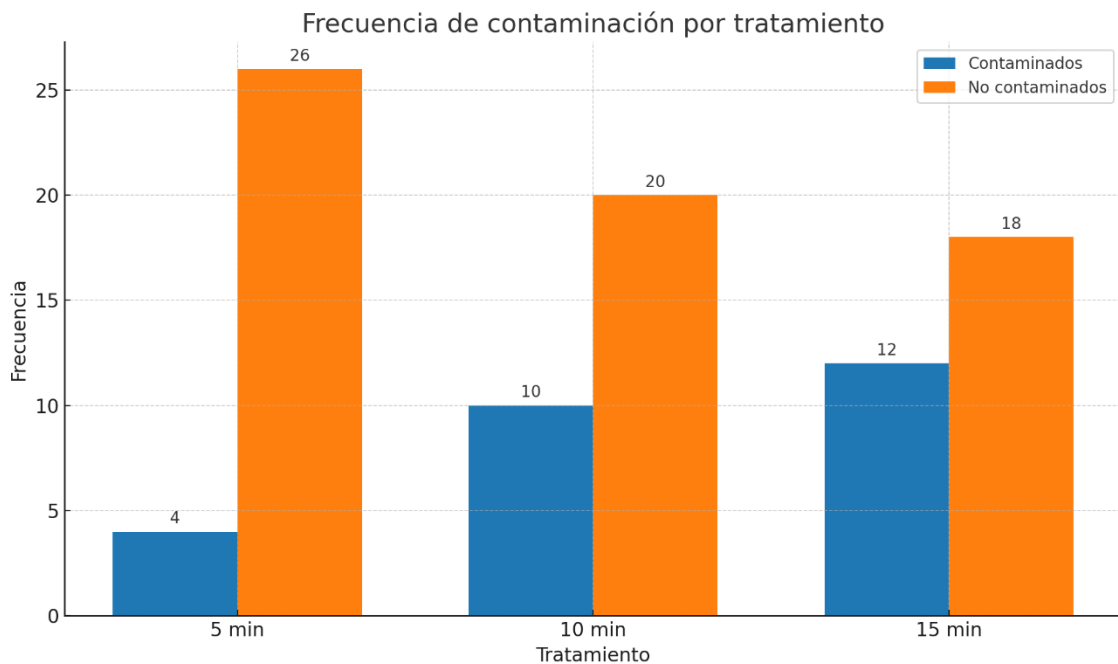


Ilustración 4-1: Variable Contaminados

Fuente: Esthefanny Sanaguano (2023).

En el tratamiento con una duración de exposición de 5 minutos, se obtuvo un 13.3% (4) de réplicas contaminadas, mientras que un 86.7% (26) de las réplicas no presentaron contaminación.

En el tratamiento de 10 minutos, se registró un aumento en el porcentaje de réplicas contaminadas hasta el 33.3% (10 réplicas), mientras que las réplicas no contaminadas se redujeron al 66.7% (20 réplicas). En el tratamiento de 15 minutos, la proporción de réplicas contaminadas creció hasta el 40% (12 réplicas), y las réplicas no contaminadas disminuyeron al 60% (18 réplicas).

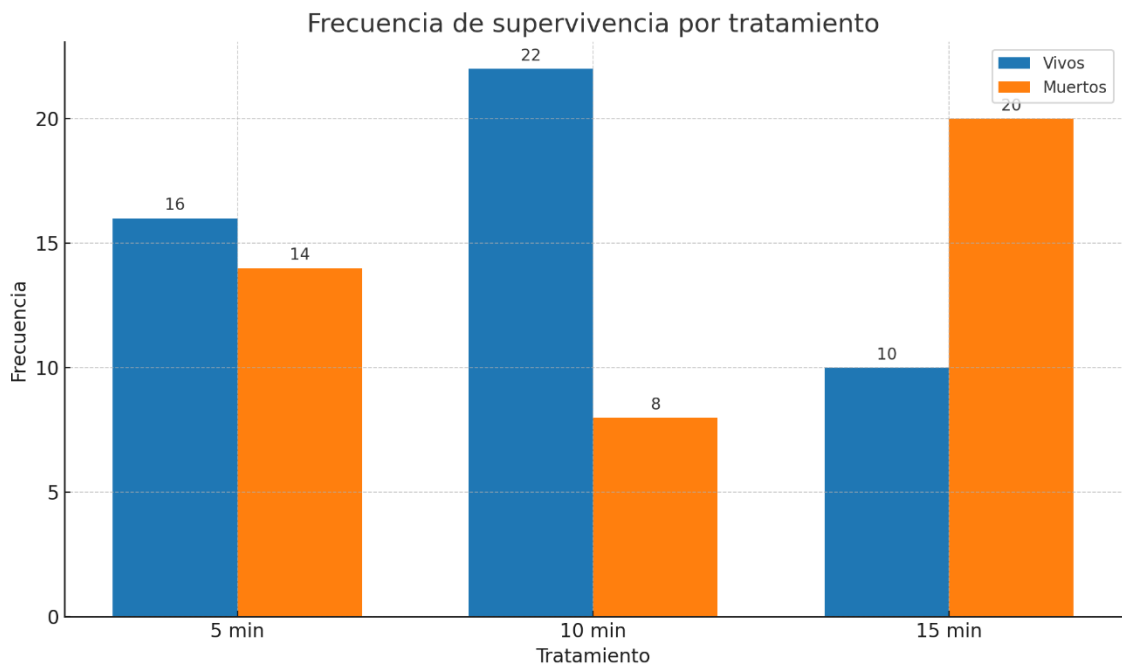


Ilustración 4-2: Variable Vivos

Fuente: Esthefanny Sanaguano (2023).

En el tratamiento con una duración de 5 minutos, el 53.3% (16) de las réplicas sobrevivieron, mientras que el 46.7% (14) murieron.

En el tratamiento de 10 minutos, el porcentaje de réplicas vivas aumenta a 73.3% (22), mientras que el porcentaje de réplicas muertas disminuye a 26.7% (8).

En cuanto al tratamiento de 15 minutos, la proporción de réplicas vivas disminuye considerablemente al 33.3% (10), mientras que el porcentaje de réplicas muertas aumenta al 66.7% (20).

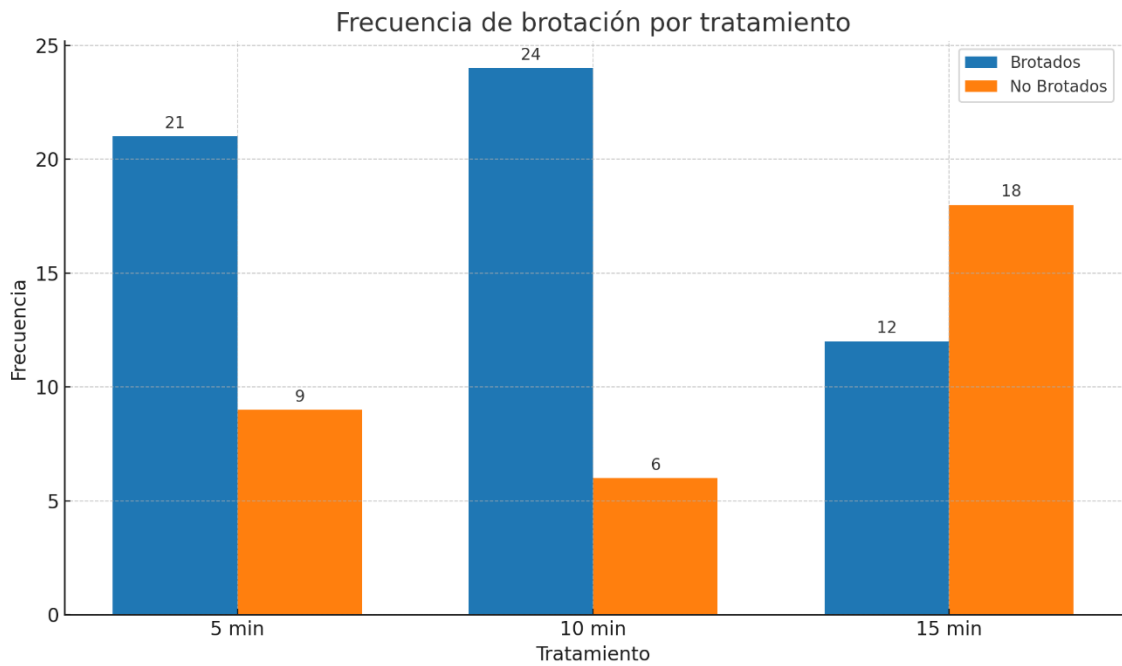


Ilustración 4-3: Variable Brotados

Fuente: Esthefanny Sanaguano (2023).

En el tratamiento con una duración de 5 minutos, el 70% (21) de las réplicas han brotado, mientras que el 30% (9) no ha brotado. En el tratamiento de 10 minutos, el porcentaje de réplicas que han brotado aumenta aún más al 80% (24), mientras que el porcentaje de réplicas que no han brotado disminuye al 20% (6).

Sin embargo, en el tratamiento de 15 minutos, el porcentaje de réplicas que han brotado disminuye significativamente al 40% (12), mientras que el porcentaje de réplicas que no han brotado aumenta al 60% (18).

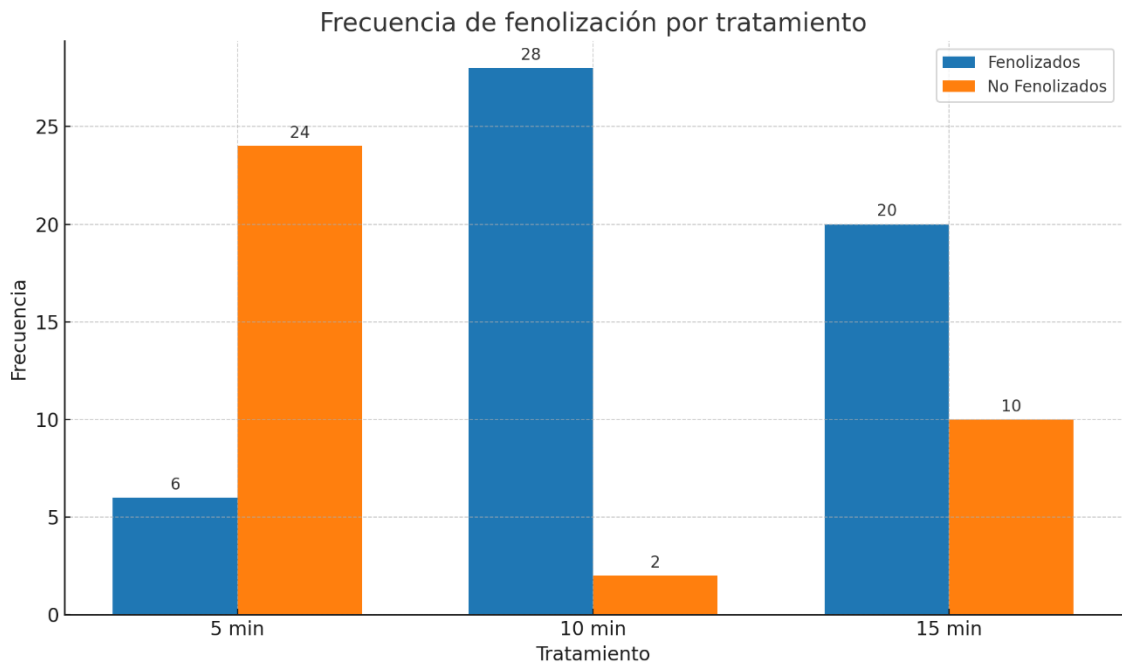


Ilustración 4-4: Variable Fenolizados

Fuente: Esthefanny Sanaguano (2023).

El tratamiento de 5 minutos, el 20% (6) de las réplicas fueron fenolizadas, mientras que el 80% (24) no fueron fenolizadas. En el tratamiento de 10 minutos, el porcentaje de réplicas fenolizadas aumenta significativamente al 93.3% (28), mientras que el porcentaje de réplicas no fenolizadas disminuye al 6.7% (2). Por otro lado, en el tratamiento de 15 minutos, el 66.7% (20) de las réplicas fueron fenolizadas, mientras que el 33.3% (10) no fueron fenolizadas.

Dada la evidencia obtenida a partir de los diversos tratamientos en términos de brotación y enraizamiento in vitro de *Prunus serotina subsp. capulí Ehrh, 1879*, los resultados indican variaciones estadísticamente significativas entre los tratamientos, es notable la eficacia de la duración de exposición de 10 minutos en fomentar la generación de nuevos brotes y en el proceso de fenolización para evitar contaminantes no deseados. Estos hallazgos refutan la hipótesis nula que afirmaba que no hay variación estadísticamente significativa en la tasa de brotación y enraizamiento, y apoyan la hipótesis alternativa que propone que existe variabilidad significativa. Por lo tanto, se concluye que las condiciones del tratamiento influyen considerablemente en los resultados de la propagación in vitro de esta especie.

4.2 Objetivo específico 2: Determinar el medio de cultivo para la multiplicación y el enraizamiento in vitro de brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879, 1879*

4.2.1 Fase 2 de Multiplicación (30 días)

Tabla 4-1. Análisis de varianza de las medias obtenidas del nro de Brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*

Variable	N	R ²	R ² Ajustado	CV
Nro Brotes	154	0.09	0.06	36.53

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

Se analizaron 154 muestras y estos datos arrojaron un coeficiente de determinación (R²) de 0,9. Este valor cae a 0,6 cuando se corrige R² para tener en cuenta la influencia de las variables utilizadas en el estudio y el número de muestras para obtener un R² ajustado. Esto indica que el modelo tiene una capacidad limitada para predecir el número de rupturas durante una corrección. Respecto al tamaño de la muestra y número de tratamientos. El coeficiente de variación (CV) fue de 36,53%, lo que indica una gran variación en el número de brotes entre muestras. Esto puede reflejar la alta diversidad en respuesta a tratamientos en diferentes brotes, quizás debido a diferencias genéticas inherentes entre ellos, diferencias en los regímenes de tratamiento o diferencias en las condiciones ambientales de los cultivos.

Tabla 4-2. Cuadro de análisis de varianza de las medias obtenidas para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879, 1879* (SC tipo III).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.43	6	0.40	2.49	0.0254
Tratamiento	2.43	6	0.40	2.49	0.0254
Error	23.91	147	0.16		
Total	26.34	153			

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

La Tabla 4.2 detalla el análisis de varianza de tipo III para las medias obtenidas de los tratamientos aplicados a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879, 1879* durante un período de 30 días.

El modelo, que incorpora todos los tratamientos como variables, presenta una suma de cuadrados (SC) de 2.43, reflejando la variabilidad total explicada por el modelo con 6 grados de libertad (gl). El cuadrado medio (CM), resultado de dividir la SC por los gl, es de 0.40 tanto para el modelo

como para el tratamiento, lo que indica que cada tratamiento aporta en promedio 0.40 unidades de varianza. El valor de F es de 2.49 para ambos, modelo y tratamiento, sugiriendo que la variabilidad debido a los tratamientos es aproximadamente 2.49 veces la variabilidad del error (variabilidad interna de los tratamientos). Un valor p de 0.0254 señala que existen diferencias estadísticamente significativas en el número de brotes entre los diversos tratamientos.

El componente de error, con un SC de 23.91 y 147 gl, refleja la variabilidad dentro de los tratamientos que no puede ser explicada por el modelo. El cuadrado medio del error es de 0.16, que es la varianza residual o no explicada por el modelo. La variabilidad no explicada podría ser un indicador de que otros factores no considerados en el modelo, como las condiciones ambientales específicas, el estado fisiológico de los brotes al inicio del tratamiento, o la variabilidad genética entre los explantes, tienen un impacto considerable en los resultados.

Tabla 4-3. Test de Tukey para la varianza de las medias obtenidas en el nro de Brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Letras
5	1,00	22	0,09	A
4	1,00	22	0,09	A
1	1,00	22	0,09	A
6	1,05	22	0,09	A B
2	1,14	22	0,09	A B
3	1,18	22	0,09	A B
7	1,36	22	0,09	B

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

Los tratamientos están etiquetados del 1 al 7 y cada uno tiene una media correspondiente al número de brotes generados, con 22 réplicas por tratamiento (indicado por "n"). El error estándar (E.E.) de cada media es de 0.09, lo que indica la variabilidad de las medias dentro de cada tratamiento.

Las letras (A y B) al final de cada fila denotan grupos de tratamientos que no tienen diferencias significativas entre sí; los tratamientos que comparten una letra no son significativamente diferentes. Los tratamientos 5, 4, y 1 comparten la letra "A", indicando que no hay diferencias significativas entre sus efectos sobre el número de brotes. Por otro lado, el tratamiento 7, que tiene una media de 1.36 y está marcado con la letra "B" solamente, sugiere que es significativamente diferente de los otros tratamientos (que tienen la letra "A" o "A B").

No se detectaron diferencias notables entre los tratamientos 5, 4 y 1 aplicados en la micropropagación de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*, lo que indica que su eficiencia fue consistente a pesar de variaciones en parámetros específicos. En cambio, los tratamientos 6, 2 y 3 mostraron mejoras progresivas en su efectividad y fueron clasificados en un grupo intermedio denominado “AB”. El tratamiento 7 se destacó por tener los resultados más prometedores, lo que sugiere que su composición de medio puede ser más adecuado para la inducción de brotes. Estos resultados enfatizan la importancia de profundizar en el estudio de los elementos que mejoran el éxito del tratamiento 7, como las dosis de nutrientes y las fitohormonas, y alientan investigaciones futuras para optimizar los tratamientos y validar su desempeño bajo diferentes cultivares y condiciones de *Prunus*.

Tabla 4-4. Análisis de varianza de las medias obtenidas de la longitud de brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*

Variable	N	R²	R² Ajustado	CV
Longitud	154	0.44	0.41	32.41

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

La variable de respuesta, longitud de los brotes, tiene un coeficiente de determinación R^2 de 0.44, lo que indica que el 44% de la variabilidad en la longitud de los brotes puede ser explicada por el tratamiento aplicado. Este es un indicador de que el tratamiento tiene un efecto moderado a significativo en la longitud de los brotes. El R^2 ajustado, que se corrige por el número de predictores en el modelo, es de 0.41, sugiriendo que, tras ajustar por el número de tratamientos, el modelo sigue siendo bastante robusto. El CV es del 32.41%, lo cual implica que hay una variabilidad considerable en la longitud de los brotes.

Tabla 4-5. Cuadro de análisis de varianza de las medias obtenidas de longitud de brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*, 1879 (SC tipo III).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24.43	6	4.07	19.04	<0.0001
Tratamiento	24.43	6	4.07	19.04	<0.0001
Error	31.43	147	0.21		
Total	55.86	153			

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

La Tabla 4.5 presenta un análisis de varianza de las medias de longitud de brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*, 1879 tras aplicar diferentes tratamientos durante un periodo de

30 días. El modelo estadístico utilizado incluye 6 grados de libertad y muestra una SC de 24.43 para tanto el modelo como el tratamiento, indicando una fuerte variabilidad debida a estos factores. El CM, que es la SC ajustada por los grados de libertad, es de 4.07, y el estadístico F es de 19.04 para ambos, modelo y tratamiento, lo cual es significativo, con un p-valor menor a 0.0001. El error del modelo es relativamente bajo (SC de 31.43 con 147 grados de libertad y un CM de 0.21), lo que sugiere que la variabilidad dentro de los tratamientos es modesta en comparación con la variabilidad entre los tratamientos.

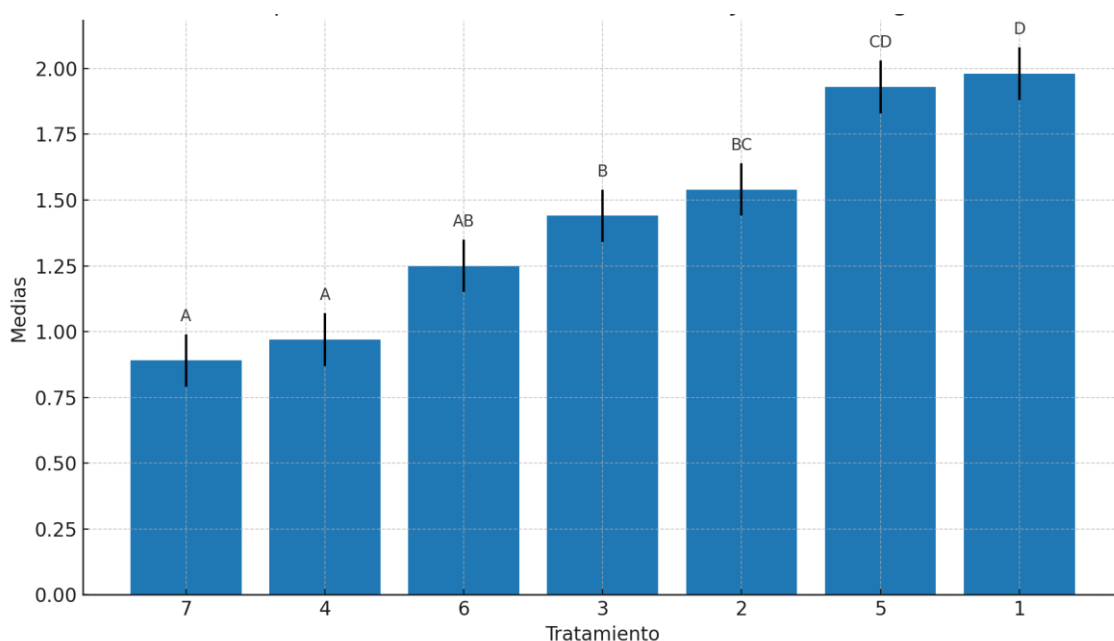


Ilustración 4-5: Test de Tukey para la varianza de las medias obtenidas en la longitud de brotes para el tratamiento aplicado en un lapso de 30 días a brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879*.

Fuente: Esthefanny Sanaguano (2023).

Los tratamientos se enumeran del 1 al 7, y cada uno tiene una media asociada, que representa la longitud promedio obtenida de los brotes, con n para cada uno siendo 22, y E.E. de 0.10. Las letras (A, B, C, D, AB, BC, CD) indican grupos de tratamientos que no difieren significativamente entre sí. Los tratamientos que comparten la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la longitud de los brotes.

Los hallazgos de este estudio revelan que el tratamiento 1 con una longitud promedio de brote de 1,98 es distinto de los tratamientos 7 y 4 que muestran promedios más bajos (0,89 y 0,97 respectivamente) y no comparten ninguna puntuación de letras. Sin embargo, el Tratamiento 6 es similar tanto al Tratamiento 7 (comparte la letra 'A') como al Tratamiento 3 (comparte 'B'), lo que implica que no hay diferencias significativas entre las longitudes de las ráfagas entre estos

tratamientos. Sobre todo, el Tratamiento 1, que tiene la mayor duración media de brotes y al que se le asigna la letra 'D', resulta ser el mejor para promover el crecimiento de los brotes durante un período de 30 días.

Al evaluar la eficacia de los tratamientos para la fase de multiplicación de brotes de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879* , 1879 y teniendo en cuenta tanto el número de brotes como su longitud, se concluye que el tratamiento 4 es el más efectivo. Aunque el tratamiento 1 muestra la longitud promedio más alta en los brotes, el tratamiento 4 mantiene una longitud de brote significativamente mayor que la media (0.97) y, al mismo tiempo, comparte la misma categoría significativa en número de brotes (A) con los tratamientos que tienen el mayor número de brotes. Esta combinación sugiere que el tratamiento 4 no solo promueve una longitud de brote considerable, sino que también asegura un número de brotes comparativamente alto.

En términos de maximización de la relación entre número y longitud de brotes, el tratamiento 4 emerge como el más equilibrado y efectivo. Aunque otros tratamientos pueden sobresalir en un aspecto, el tratamiento 4 proporciona un rendimiento sólido en ambas métricas críticas para la fase de multiplicación *in vitro*. Por lo tanto, al buscar un tratamiento que optimice tanto la cantidad como la calidad de los brotes, el tratamiento 4 se posiciona como la mejor opción, facilitando así una multiplicación eficiente de *Prunus serotina ssp capulí Ehrh, 1879* en condiciones *in vitro*.

4.2.2 Fase 3 de Enraizamiento

La fase 3 de enraizamiento dentro del proyecto destinado a determinar el medio de cultivo óptimo para la multiplicación y el enraizamiento *in vitro* de brotes de *Prunus serotina ssp. capulí Ehrh, 1879* no pudo llevarse a cabo. Este impedimento surgió debido a la naturaleza lenta del experimento, que no se alineaba con el limitado marco temporal impuesto por los plazos de titulación establecidos por la casa de estudios. Dicha disconformidad temporal resultó en la imposibilidad de ejecutar los análisis propuestos para esta etapa crucial del estudio. Consecuentemente, el objetivo 2, enfocado en la evaluación efectiva del enraizamiento, quedó incompleto.

La estimación de costos, correspondiente al objetivo 3, se abordará en la sección de Propuesta, en la que se explicará a detalle el proceso de cultivo *in vitro*.

4.3 Discusión

Dado que no se encontraron investigaciones previas específicas para el proceso de micropropagación en *Prunus serotina subsp. Capulí, 1879*, este estudio analiza comparativamente las metodologías empleadas en otras especies para identificar similitudes y diferencias aplicables. Por lo tanto, al comparar metodologías, se hace evidente que, aunque las especies difieren, los principios subyacentes de la regulación hormonal y desinfección pueden ser consistentemente críticos, lo cual permite inferir potenciales ajustes en los protocolos para optimizar los resultados en *Prunus serotina subsp. Capulí, 1879*.

En lo que respecta a la variable de contaminación los tratamientos con diferentes duraciones de exposición muestran una clara tendencia: a medida que aumenta la duración, también lo hace el porcentaje de réplicas contaminadas, desde un 13.3% para 5 minutos hasta un 40% para 15 minutos. Alvarez et al. (2021) aplicaron la prueba de Kruskal-Wallis, encontrando diferencias estadísticamente significativas en la contaminación bacteriana entre tratamientos, pero no en la contaminación fúngica. Aunque no se detallan las duraciones específicas, el tratamiento con 100 mg/L de Metilparabeno (T3) mostró una menor tasa de contaminación bacteriana, sugiriendo la efectividad de ciertos antimicrobianos frente a la duración de la exposición.

Por otro lado, Vidal (2014) se enfoca en el efecto de diferentes concentraciones y combinaciones de fitohormonas (BAP y KIN) sobre el desarrollo de segmentos nodales de *Citrus aurantiifolia*. Este estudio revela que la aplicación de 0.25 mg/L de BAP resultó en el mayor porcentaje de explantes con brotes (78%), contrastando con los resultados obtenidos al combinar BAP y KIN, donde no se observó un efecto potenciador esperado. Además, destaca la limitada eficacia de KIN por sí solo en promover la brotación, y la variabilidad en la respuesta de los explantes a las fitohormonas, indicando la importancia de las condiciones internas del explante y la especificidad de la respuesta según el tipo de planta y tratamiento aplicado.

Similar a esta investigación, el estudio llevado a cabo por Urcuango (2014), se centró en la interacción entre la concentración de hipoclorito de sodio y el tiempo de inmersión en la desinfección de explantes de plantas, evaluando su efecto en la contaminación y viabilidad en cultivos de *Prunus serotina subsp. Capulí, 1879*. Se observó que el tratamiento con una concentración del 20% de NaClO y 10 minutos de inmersión alcanzó el mayor porcentaje de explantes asépticos, aunque hubo una correlación inversa entre la concentración de NaClO y la viabilidad de los explantes, donde concentraciones más altas resultaron en una menor viabilidad.

El tratamiento de 10 minutos de la presente investigación demostró ser el más eficaz, con un 73.3% de supervivencia y altas tasas de brotación (80%) y fenolización (93.3%), indicando una optimización entre la exposición suficiente para inducir defensas en las réplicas sin alcanzar un punto de toxicidad. Alvarez et al. (2021) encontraron que las variables fenolización y brotación presentaron diferencias significativas entre tratamientos, apoyando la noción de que la eficacia de un tratamiento depende de su capacidad para estimular respuestas positivas en las plantas sin inducir daño. Mientras que Urcuango (2014) sostiene que a medida que aumenta la concentración de hipoclorito de sodio y el tiempo de inmersión, disminuye el porcentaje de réplicas contaminadas, lo que sugiere que estos factores son eficaces para reducir la carga microbiana en las réplicas.

En el estudio que se realizó, se analizó el impacto de varias intervenciones tanto en el número como en la longitud de las yemas en un plazo de 30 días en nuestro estudio. Particularmente, el tratamiento 4 se destacó por promover no sólo un gran número sino también longitudes increíbles que superan las longitudes promedio, reflejando así un equilibrio ideal entre cantidad y tamaño. Por otro lado, la investigación de Álvarez et al. (2021) se basó en estudiar el efecto de la variabilidad de la concentración de sal y la disposición de la plantación sobre cómo crecen las plantas. Cuando redujeron la concentración de sales dentro del medio MS al 25%, se observó que la longitud de los brotes aumentó significativamente donde los explantes crecieron más del doble en comparación con aquellos que se cultivaron con niveles de MS del 50% de solución de sales. Asimismo, la colocación vertical de las semillas durante la siembra resultó ser más beneficiosa para el alargamiento de los brotes, destacando la relevancia de la orientación de las semillas en respuesta a los tratamientos.

Por otro lado, el estudio de Araque et al. (2018) se centró en la activación del crecimiento de las yemas axilares de la papa y enfatizó la importancia de los nutrientes y reguladores del crecimiento en el medio de crecimiento. Apuntan a una combinación adecuada de estos factores, que incluyen: B. ANA tiene una influencia significativa en el desarrollo de los brotes, promoviendo su uniformidad, fuerza, grosor y longitud.

En tanto, el estudio de Urcuango (2014) explora la influencia de distintas dosis de BAP y medios de cultivo en la brotación de *Prunus serotina subsp. Capulí, 1879*, evaluando los días hasta la formación de brotes como una medida clave de eficacia. Este análisis revela diferencias significativas atribuibles a las dosis de BAP, pero no a los medios de cultivo, sugiriendo que la regulación hormonal es un factor más crítico que la composición del medio de cultivo en este contexto. Además, el estudio destaca la importancia de la sensibilidad de los explantes a las

concentraciones de sales y nutrientes, lo cual es consistente con la literatura que sugiere que la optimización de los medios de cultivo debe considerar la tolerancia específica de la especie a las condiciones *in vitro*.

Comparativamente, mientras que el presente estudio se centra en la evaluación de la eficacia de los tratamientos basándose en medidas cuantitativas directas de crecimiento (número y longitud de brotes), el estudio de Urcuango (2014) profundiza en la interacción entre las condiciones del medio de cultivo y la respuesta fisiológica de los explantes, subrayando la complejidad de los factores que influyen en la brotación y el crecimiento *in vitro*.

Una diferencia notable entre ambos estudios es el énfasis del estudio de Urcuango (2014) en la dinámica temporal (días hasta la brotación) como una variable crítica, lo que ofrece una dimensión adicional para evaluar la eficiencia de los tratamientos. Esto complementa el enfoque del presente estudio, que prioriza el análisis de resultados finales (número y longitud de brotes) sin un énfasis explícito en el tiempo como factor de eficacia.

CAPÍTULO V

5. PROPUESTA

Protocolo de Propagación *in vitro* de *Prunus serotina*

5.1 Procedimientos Generales

5.1.1 *Material vegetal*

Utilizar segmentos nodales de 1-2 cm de longitud obtenidos de ramas jóvenes y saludables de *Prunus serotina*, procedentes de plantas madre cultivadas en condiciones controladas o en un entorno natural sin signos de enfermedad o estrés.

5.1.2 *Medio de cultivo*

Base del medio de cultivo: 285ml medio; 2gr agar; 1,71 ml BPA; 1710 uL BAP.

Suplementos:

Hierro FeEDDHA: 50 mg/L

Cefotaxima: 0,15 g/L para prevenir contaminaciones bacterianas.

Mio-inositol: 100 mg/L

Tiamina: 1 mg/L

L-Cisteína: 50 mg/L para mejorar la absorción de nutrientes.

Polivinil Pilorridona: 100 mg/L para reducir la oxidación fenólica.

Caseína hidrolizada: 500 mg/L como fuente de nitrógeno orgánico.

Sacarosa: 30 g/L como fuente de carbono.

Agar: 7 g/L (Sigma-Aldrich, EUA) para solidificar el medio.

Ajuste de PH: El pH del medio debe ajustarse a 5.6 con NaOH 1.0N y HCl 1.0N antes de la esterilización.

5.2 Condiciones de cultivo

Ambiente de cultivo: Mantener los cultivos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con una iluminación artificial proporcionada por lámparas fluorescentes de luz blanca, asegurando una densidad de flujo de

fotones fotosintéticos de aproximadamente $36.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ con un fotoperíodo de 16 horas de luz por 8 horas de oscuridad.

Esterilización del medio: Esterilizar el medio de cultivo en autoclave a 121°C y $1.1 \text{ kg}/\text{cm}^2$ de presión por 20 minutos. Todo el instrumental de laboratorio debe esterilizarse a la misma temperatura y presión, pero por 30 minutos.

Desinfección del instrumental: En la cabina de flujo laminar, desinfectar pinzas, bisturíes y otro material mediante calor, utilizando un mechero a gas antes y después de su uso.

Fase de establecimiento: Iniciar con un explante por tubo de ensayo para favorecer el establecimiento inicial y aplicarle un tratamiento con una duración de 10 minutos. En fases subsiguientes de multiplicación y enraizamiento, se pueden colocar tres explantes por frasco de cultivo, realizando tres repeticiones de cada tratamiento para asegurar la repetibilidad y fiabilidad de los resultados.

5.3 Análisis de costos

Tabla 5-1. Análisis de costos

Material	Costo
21 plantas de <i>Prunus serótina</i> por m^2	\$252
12 tubos de ensayo	\$15
1 gradilla	\$6
1 vaso de precipitación	\$5
1 bandeja de acero	\$5
1 pinzas	\$3
1 gl de etanol	\$5
1 gl agua destilada	\$5
Agar	\$45
1 quintal de sustrato	\$15

Realizado por: Esthefanny Sanaguano (2024).

CONCLUSIONES

El tratamiento de 10 minutos es más efectivo para el establecimiento de segmentos nodales de *Prunus Serotina ssp capulí Ehrh.*

El tratamiento 4, que incluye una combinación de sales HS, mio-inositol, tramina, L. cisteína, PVP, sacarosa, caseína hidrolizable, agar, y un pH ajustado a 5.7, ha demostrado ser el más efectivo para la fase de multiplicación de *Prunus Serotina ssp capulí Ehrh.*

Los resultados de establecimiento y multiplicación apoyan la hipótesis alternativa sobre la eficiencia de brotación in vitro.

Los costos se calcularon considerando los insumos, medios de cultivo y mano de obra necesarios, sumando un total de \$254,74.

RECOMENDACIONES

Implementar el tratamiento de 10 minutos en protocolos de propagación in vitro de *Prunus serotina* ssp. *capulí Ehrh*, para reducir contaminación y mejorar viabilidad y brotación.

Investigar la variabilidad genética de *Prunus serotina* ssp. *capulí Ehrh*, adaptando tratamientos a características específicas de cada árbol élite.

Explorar la aplicabilidad de la metodología desarrollada para otras especies de *Prunus serotina* o plantas con similares problemas de propagación y conservación.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, V. (2017). Selección de árboles elite de Copoazu (*Theobroma grandiflorum*) vereda agua dulce del Municipio de Belén de los Andaques (Caquetá). Florencia Caquetá. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/13417/1115793669.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Alvarez, J., & Pozo, M. (2021). Desarrollo de un protocolo para el cultivo In Vitro de Rosa Chinensis. Quito. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19601/1/UPS-TTQ185.pdf>
- Araque, E., Bohórquez, M., Pacheco, J., Correa, L., Urquijo, J., Castañeda, S., & Pacheco, J. (2018). Propagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa. 9. <http://www.scielo.org.co/pdf/cide/v9n1/0121-7488-cide-9-01-21.pdf>
- Arias, J., & Covinos, M. (2021). *Diseño y Metodología de la Investigación*. ENFOQUES CONSULTING EIRL. https://www.researchgate.net/publication/352157132_DISENO_Y_METODOLOGIA_DE_LA_INVESTIGACION
- Baquero, V., Mejía, D., & Torres, M. (2023). Análisis de la expresión del gen de la S-RNasa en cruza controladas de *Prunus serotina* subsp. Capulí. *ACI Avances En Ciencias E Ingenierías*, 15(2), 1-14. doi:<https://doi.org/10.18272/aci.v15i2.2980>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). *Capulín*. Obtenido de Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=prunus-serotina>
- Callejas, L., & Izquierdo, J. (2009). Verificación del proceso de limpieza y desinfección de los laboratorios: Aguas y lodos, inmunología especializada y citometría de flujo, microbiología de alimentos y microbiología ambiental y de suelos. Pontificia Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8219/tesis214.pdf?sequence=1>
- Carrasco, J., Lema, L., Caballero, V., Acosta, Á., Chávez, D., & Chávez, C. (2022). Producción y comercialización de capulí (*Prunus serotina* subsp. capulí): un caso de estudio en las zonas rurales de los Andes centrales del Ecuador. 8, 920-937. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8638000>
- Castillo, A., Moreno, A., & García, R. (2020). Eficencia del sistema de Inmersión Temporal frente al método de propagación convencional in vitro. 3, 173-182.

- Chalán, L. (2019). Estudio de las propiedades funcionales de la cáscara, pulpa y semilla del capulí (Rosaceae: *Prunus serotina*) en estado fresco y congelado. Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30553/1/AL%20719.pdf>
- Chávez, A., Andrade, M., Juárez, P., Villegas, O., & Perdomo, F. (2019). Evaluación de Tres Sistemas de Cultivo in vitro para la Multiplicación de Microcormos de Gladiolo. *41*, 551-554. Revista fitotecnia mexicana. <https://www.redalyc.org/journal/610/61059457008/html/>
- Díaz, M., Rodas, J., González, L., & Vera, M. (2020). Establecimiento in vitro de segmentos nodales de *Handroanthus heptaphyllus* de flores blancas. *20*. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472020000300203
- El Popular. (20 de octubre de 2019). Tungurahua. <https://www.elpopular.com.ec/tungurahua/>
- Galarza, M. (2019). La gestión turística sostenible del patrimonio natural del Ecuador como. *Polo del Conocimiento*, *4*.
- Garzón, L., & Ramírez, J. (2018). Cultivo de Tejido Vegetal. http://bio.uis.edu.co/eisi/images/Noticias/archivos/20201115104940-anexo_d_cartilla_cultivo_1.pdf
- Guamán, J. (2022). *Establecimiento de segmentos nodales de Vaccinium corymbosum L. (Var. Emerald), en dos medios de cultivo mediante el manejo de factores del ecosistema in vitro*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato], Repositorio Institucional UTA. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/36532/1/Tesis-331%20%20Ingeniería%20Agronómica%20-%20Guamán%20Quispe%20José%20Manuel.pdf>
- Guzmán, F., Almaguer, G., & Segura, S. (2020). El capulín (*Prunus serotina* Ehrh.): árbol multipropósito con potencial forestal en México. *26*. México. doi:<https://doi.org/10.21829/myb.2020.2611866>
- Guzman, F., Segura, S., & Almaguer, G. (2020). El capulín (*Prunus serotina* Ehrh.): árbol multipropósito con potencial forestal en México. *Madera y bosques*, *26*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712020000100400
- Hernández, R., & Mendoza, C. (2018). *Metodología de la Investigación. Las rutas cuantitativas, cualitativa, mixta*. http://www.biblioteca.cij.gob.mx/Archivos/Materiales_de_consulta/Drogas_de_Abuso/Articulos/SampieriLasRutas.pdf
- Jaramillo, M., Poveda, T., Ortiz, L., & Camino, R. (2023). Beneficios y usos de los frutos andinos motilón (*Hieronyma macrocarpa*) y capulí (*Prunus serotina*) en la comunidad de San Luis,

- Atahualpa, Chibuleo - Tungurahua. *Revista Dilemas Contemporáneos: Educación, Política y Valores*, 9(128), 1-19. doi:<https://doi.org/10.46377/dilemas.v11iEspecial.4004>
- Kumar, G. (2015). General Techniques of Plant Tissue Culture. https://www.researchgate.net/publication/291056431_General_Techniques_of_Plant_Tissue_Culture
- Moncayo, O. (2017). *Análisis de la diversidad genética del capulí (Prunus Serotina), en la región andina del Ecuador, utilizando marcadores moleculares AFLP*. [Tesis de Pregrado, Universidad San Francisco de Quito], Repositorio Institucional USFQ. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/6555/1/131163.pdf>
- Moreno, L., García, L., Pérez, M., La O, M., Padrón, Y., Hernández, M., . . . Rivero, L. (2020). Protocolo para la micropropagación de Kalanchoe blossfeldiana Poelln. a partir de segmentos nodales. *20*, 249-256. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472020000300249&lng=es&tlng=es
- Murashigue, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with. *15*. Retrieved from <http://wolfe91.free.fr/MMBI/milieu%20MS/Murashige.pdf>
- Reyes, I., Santacruz, S., Castro, M., Villacres, C., Chávez, M., & Armas, A. (2019). Efecto antibacteriano y antioxidante de frutos rojos ecuatorianos sobre streptococcus mutans: estudio in vitro. *2*, 23-30. (R. O. Vital, Ed.) <https://www.scielo.sa.cr/pdf/odov/n31/1659-0775-odov-31-23.pdf>
- Rojas, R., Ramírez, F., Companioni, B., Vera, I., Robledo, V., & García, H. (2021). Desarrollo de un método eficiente para la micropropagación de orégano.
- Salazar, E., Lema, L., Baños, K., Chávez, C., Chávez, D., & Caballero, V. (2021). Anatomía de la madera en prunus serotina (rosaseae), de los andes centrales de Ecuador. *6*, 54-74.
- Santamaría, J., & Lecuona, M. (2017). ADN del Diseño de la artesanía como herramienta de desarrollo y apertura de nuevos mercados. https://www.researchgate.net/figure/Ubicacion-Geografica-de-la-Provincia-de-Tungurahua-Ecuador-2017_fig1_323617438
- Santander Fundación. (2020). Cuadernos de Sostenibilidad y Patrimonio Natural. Retrieved from <https://ecoacsa.com/wp-content/uploads/2020/12/Cuaderno-25-Uso-sostenible-del-patrimonio-natural.pdf>
- Tamayo, C., Mena, L., & Dilas, J. (2022). Usos y conocimientos tradicionales asociados al capulí (Prunus serotina) en una zona interandina de Ecuador. *3*. <https://llamkasun.unat.edu.pe/index.php/revista/article/view/83/95>

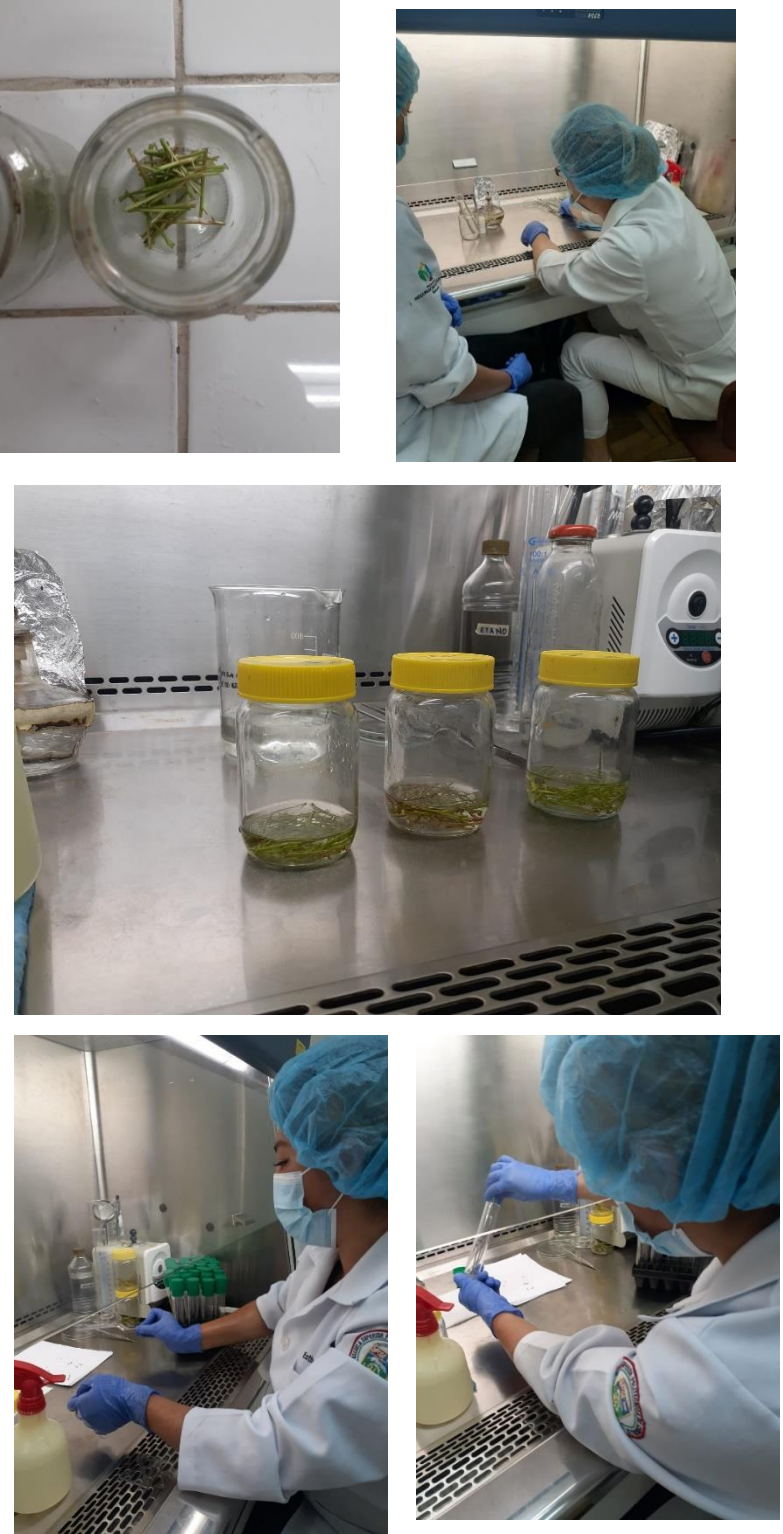
- Tejada, J., Meléndez, J., Vilca, N., Huaman, E., & Oliva, S. (2022). Efecto de biocidas y consistencia del medio de cultivo para el establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia*. 43, 117-123. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002022000200117>
- Urcuango, P. (2014). *Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación "in vitro" de capulí (Prunus serotina ssp capulí Cav) a partir de segmentos nodales*. Quito, Pichincha. [Tesis de Pregrado, Universidad Central del Ecuador], Repositorio Institucional UCE. <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/017e9d9d-7277-4f38-a89d-93270d2b1747>
- Vences, C. (2016). *Manual de prácticas: Micropropagación vegetal*. Repositorio de la UAEM. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/64552/secme-12254.pdf?sequence=>
- Vidal, M. (2014). *Propagación in vitro de lima ácida (Citrus aurantiifolia [Christm.] Swingle) - variedad Tahití- a partir de segmentos nodales*. [Tesis de Pregado, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/9008ae67-f26b-4c5e-8721-93e3ce33a53c/content>

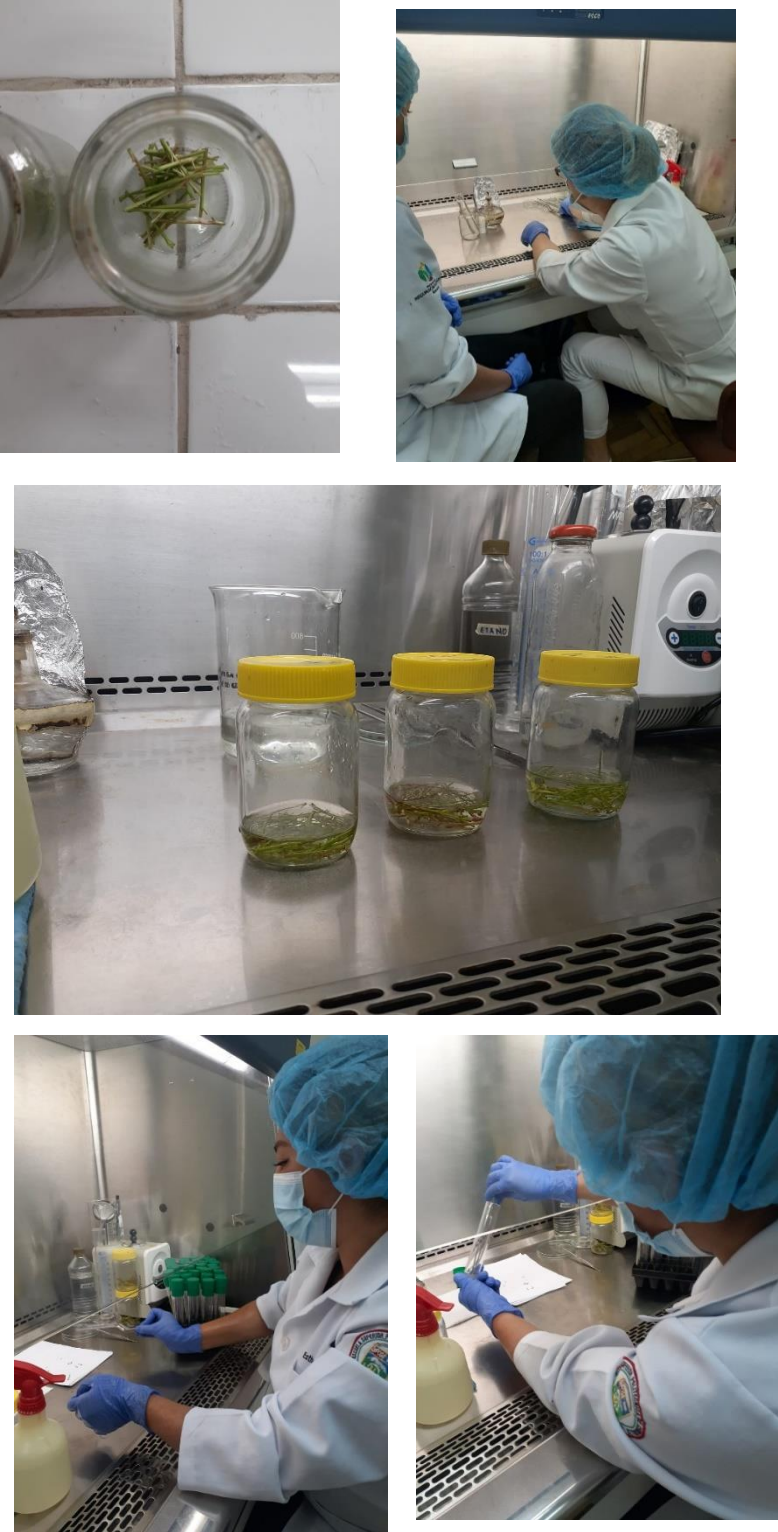
ANEXOS


ANEXO A: FOTOGRAFÍAS

Procedimiento	Evidencia
Selección de muestras	     




Procedimiento	Evidencia	
Selección de muestras		
		
		


Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Establecimiento</p>	





Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Establecimiento</p>	

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Establecimiento</p>	 <p>The evidence consists of six photographs arranged in a 3x2 grid. Each photograph shows a person wearing a white lab coat, a blue hairnet, and blue gloves, working inside a biosafety cabinet. The person is performing a procedure that involves using pipettes and other laboratory equipment. The biosafety cabinet has a metal grate front and various lab supplies like bottles and containers on the work surface.</p>

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Establecimiento</p>	

Procedimiento	Evidencia
<p data-bbox="277 949 456 1032">Fase de Multiplicación</p>	  





Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Multiplicación</p>	 <p>The evidence consists of three photographs documenting the multiplication phase in a laboratory setting. The top photograph shows a person's hands working with glass beakers containing a yellowish liquid on a white tiled surface. A graduated cylinder with blue markings is visible, containing a similar liquid. The middle photograph shows a laboratory bench with various reagents and containers, including a large white bottle with a blue cap, several smaller bottles with red and white caps, and a small white container with a yellow substance. The bottom photograph shows a blue metal rack holding two rows of test tubes. Each test tube has a green cap and a white label with handwritten text, including 'L5', 'T3', 'T1', 'T2', 'T7', and 'T4'. The test tubes contain a yellowish liquid.</p>




Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Multiplicación</p>	   

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Multiplicación</p>	  

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Multiplicación</p>	 <p>The evidence consists of four photographs showing the progression of plantlet multiplication in test tubes. The top row shows three tubes labeled T₂, each containing a small plantlet. The middle row shows three tubes labeled T₃, showing more developed plantlets. The bottom row shows three tubes labeled T₄, showing further growth and branching of the plantlets. All tubes have green caps and are filled with a clear nutrient medium.</p>

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Multiplicación</p>	 <p>The evidence consists of six photographs of test tubes containing plant tissue cultures. The top row shows three test tubes with green caps, each containing a plantlet with roots and leaves, labeled 'T3'. The middle row shows three test tubes with green caps, each containing a more developed plantlet with roots and leaves, labeled 'T4'. The bottom row shows three test tubes with green caps, each containing a plantlet with roots and leaves, labeled 'T4'. The plants are growing in a clear liquid medium.</p>

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Enraizamiento</p>	    

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Enraizamiento</p>	  

Procedimiento	Evidencia
<p>Fase de Enraizamiento</p>	