

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

**“Establecimiento *in vitro* de *Werneria nubigena* Kunth con miras a procesos de restauración ecológica en el Área de Conservación Hídrica Antisana”**

**Elaborado por  
BALSECA CAMPAÑA, KAROL DENISSE**

**Director  
JADÁN GUERRERO, MÓNICA BEATRIZ, Ph.D.**

**SANGOLQUÍ  
2022**



1. Introducción

2. Objetivos

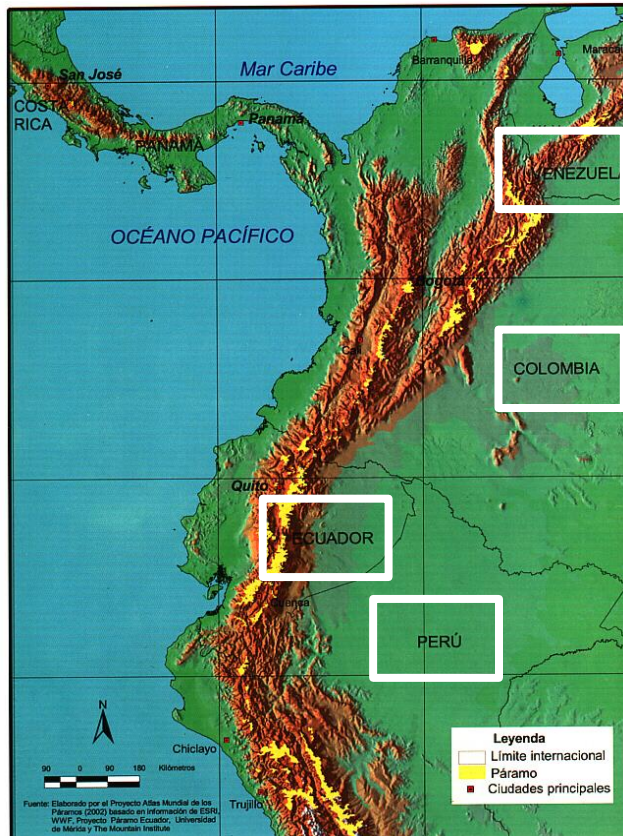
3. Materiales y Métodos

4. Resultados y Discusión

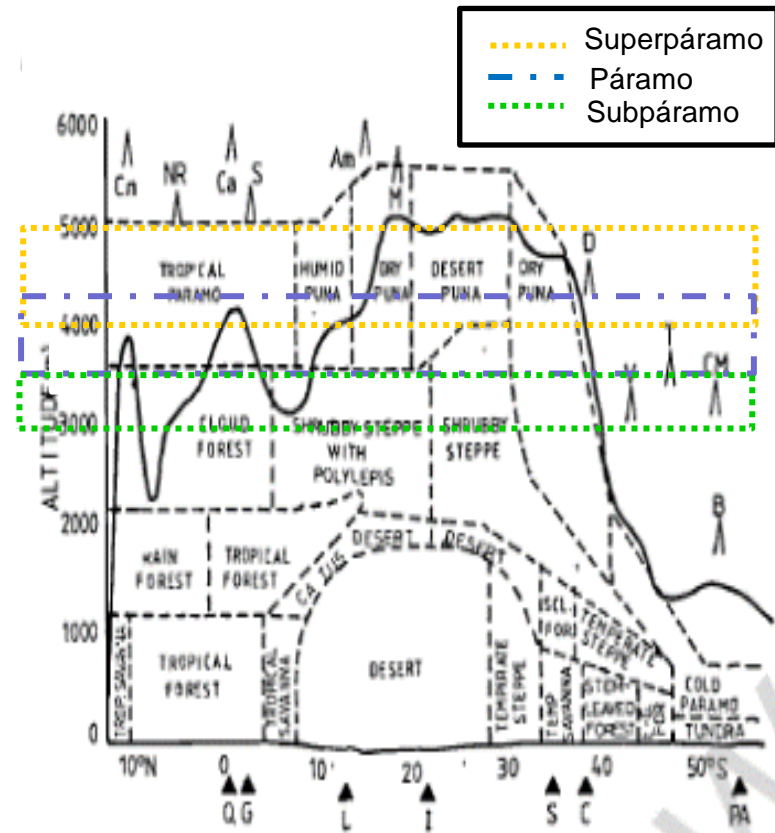
5. Conclusiones y Recomendaciones



## Páramos



**Figura 1.** Distribución páramos Andinos



**Figura 2.** Zonas de vegetación de los Andes

## Importancia de los páramos



**Figura 3.** Área de Conservación Hídrica Antisana



## Amenazas



Introducción de especies exóticas



Incendios forestales



Pastoreo intensivo



Agricultura

## Estrategia de Conservación

**EPMAPS**  
AGUA DE QUITO

**FONAG**  
FONDO PARA LA PROTECCIÓN DEL AGUA

Restauración Activa



*W. nubigena* Kunth



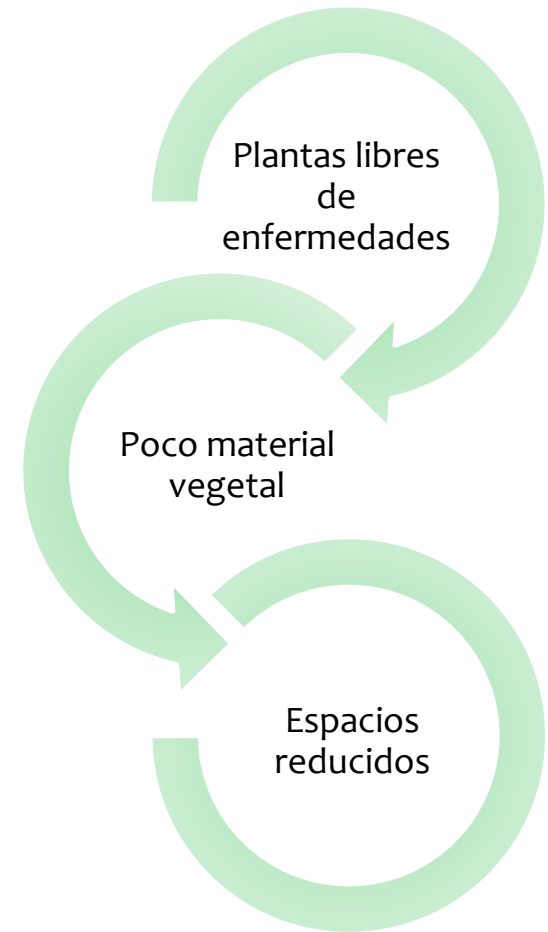
Importancia



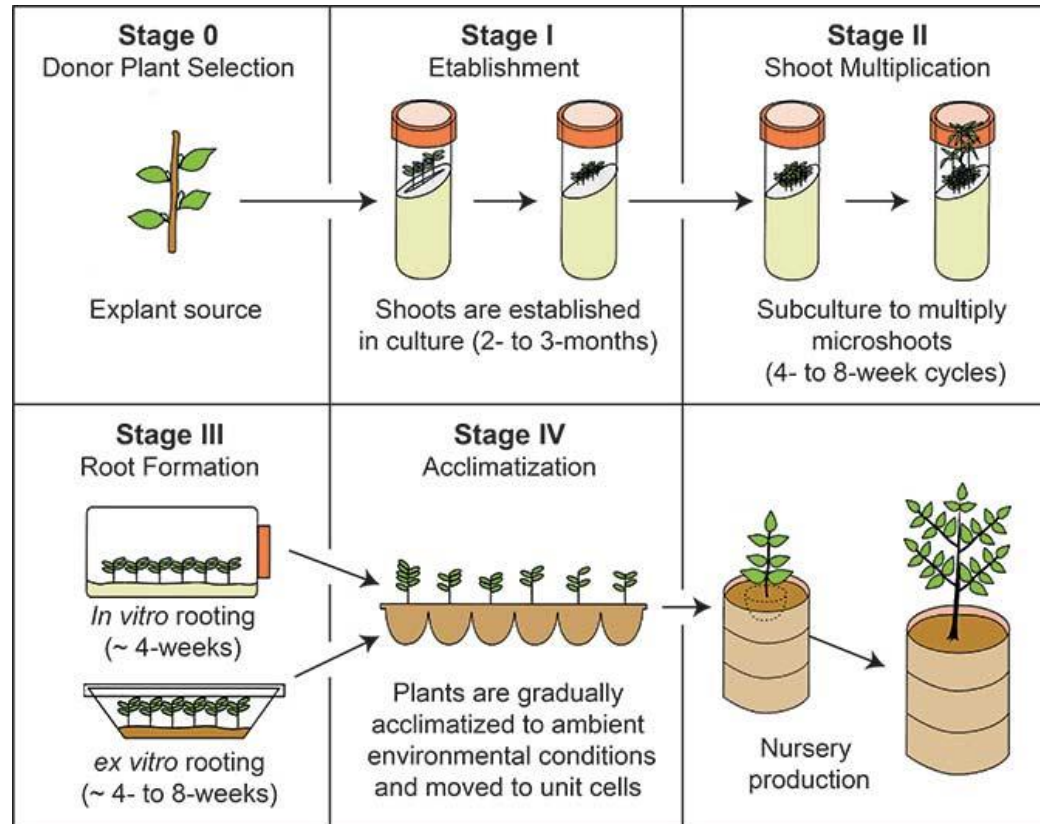
## Cultivo *in vitro*



**Figura 4.** Plantas *in vitro* de Canarias (*Allamanda cathartica*)



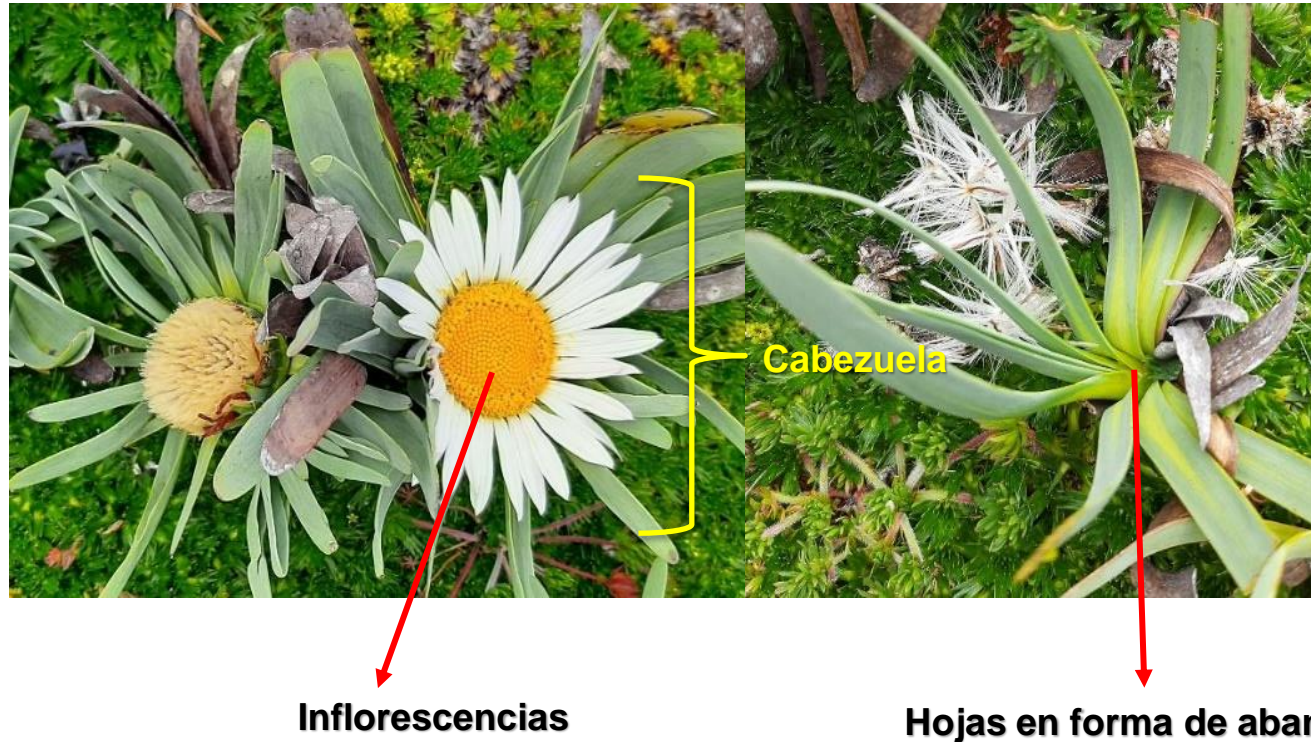
## Cultivo *in vitro*



**Figura 5.** Etapas del cultivo *in vitro*



## *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 6.** Estructura de la planta de *W. nubigena*.

## *Werneria nubigena* Kunth

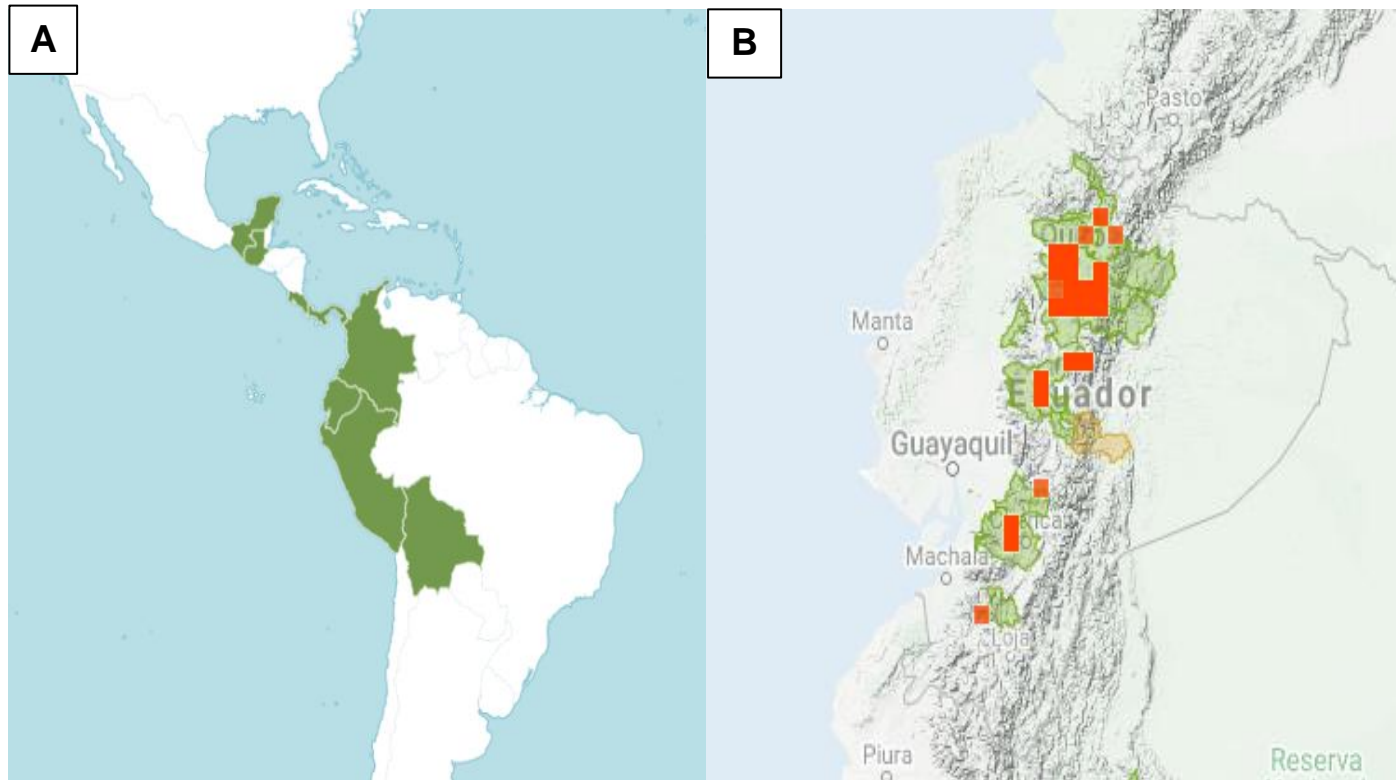
**Tabla 1.** *Taxonomía de Werneria nubigena* Kunth.

---

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Subfamilia</b>	Asteroideae
<b>Género</b>	Werneria
<b>Especie</b>	Werneria nubigena Kunth

---

## *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 7. A)** Distribución Geográfica a nivel continental de la especie *W. nubigena* Kunth, **B)** Distribución Geográfica a nivel nacional de la especie *W. nubigena* Kunth

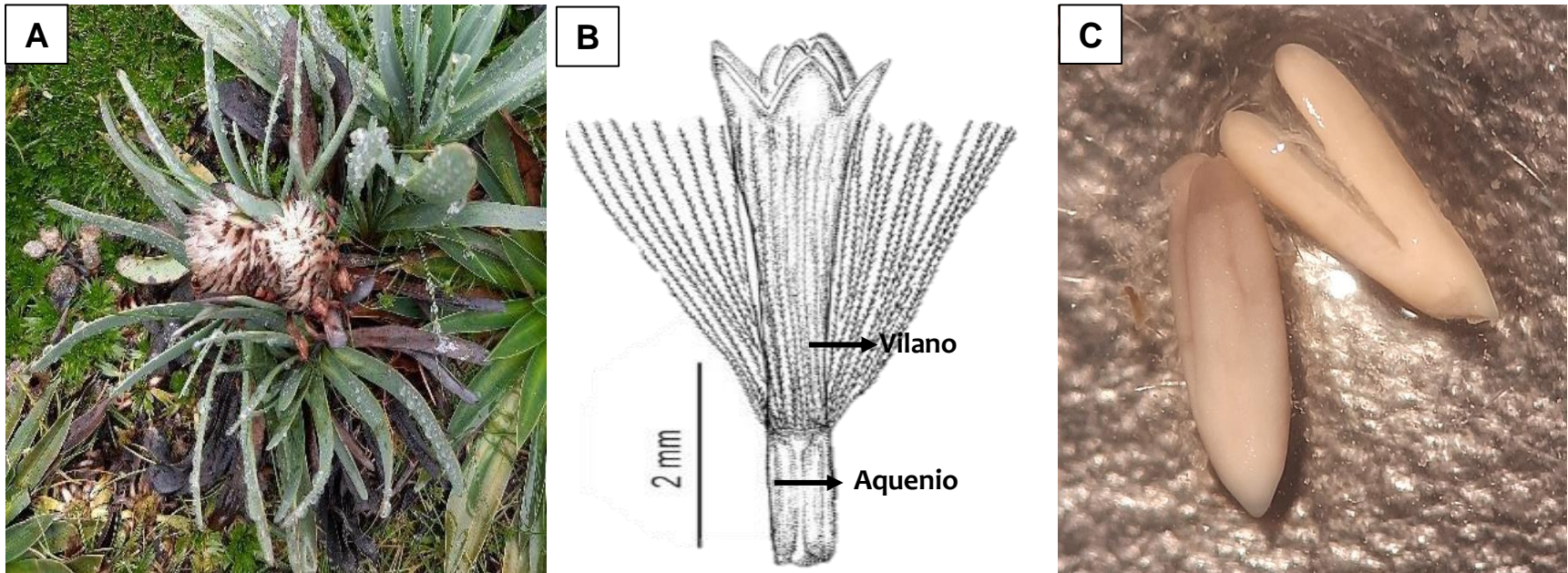
## Estado de Conservación



**Figura 8.** Especies en estado vulnerable



## Propagación



**Figura 9. A)** Semillas listas para ser dispersadas **B)** Estructura de la semilla **C)** Embrión

## General

**Establecer un protocolo *in vitro* de *Werneria nubigena* Kunth** con miras a procesos de restauración ecológica en el Área de Conservación Hídrica Antisana



## Específicos

- Optimizar un protocolo de **desinfección** para semillas de *Werneria nubigena* Kunth.
- Estandarizar un protocolo para **germinación** de semillas de *Werneria nubigena* Kunth.
- Establecer un protocolo de **multiplicación y enraizamiento** a partir de explantes de *Werneria nubigena* Kunth.



## Fase de campo

### 1. Obtención del material vegetal



**Figura 10.** Ubicación del Área de Conservación Hídrica Antisana

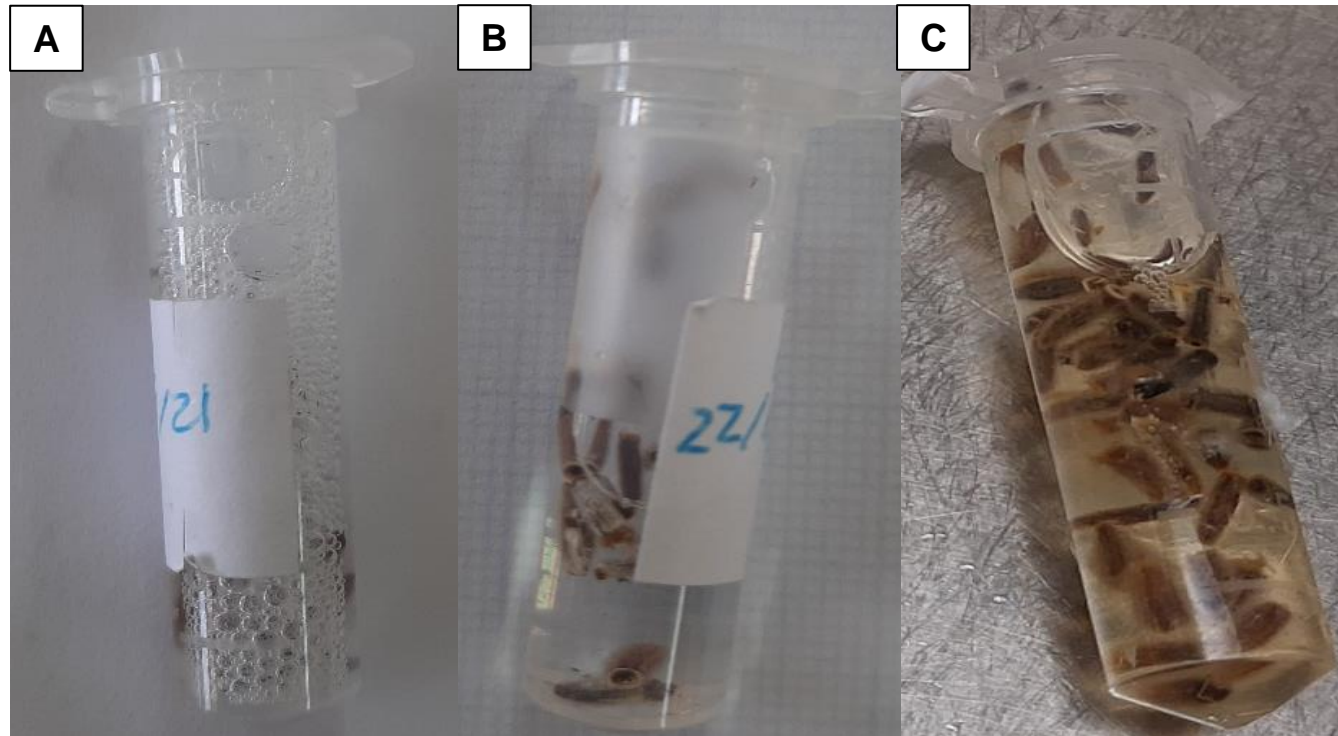


**Figura 11.** Semillas maduras recolectadas de *Werneria nubigena* Kunth



## Fase de laboratorio

### 1. Etapa de Desinfección



**Figura 12.** Inmersión de semillas en soluciones desinfectantes: **A)** Detergente 2 % (p/v) **B)** Etanol 75% (v/v) **C)** Hipoclorito de sodio

## Fase de laboratorio

### 1. Etapa de Desinfección

**Tabla 2.** *Tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio*

Código	Concentración de NaClO (% v/v)	Tiempo de inmersión (minutos)
D0	0	0
D1	6	5
D2	6	7,5
D3	6	10
D4	7	5
D5	7	7,5
D6	7	10

#### Variables de respuesta

Contaminación

Germinación

## Fase de laboratorio

### 2. Etapa de Germinación

**Tabla 3.** *Tratamientos de germinación para semillas de Werneria nubigena Kunth*

Código	Concentración de MS	Concentración de AG <sub>3</sub> (mg/L)
G0	½	0
G1	½	1
G2	½	2
G3	1	0
G4	1	1
G5	1	2

#### Variables de respuesta

Germinación

Longitud (cm)

## Fase de laboratorio

### 3. Etapa de Multiplicación

**Tabla 4.** *Tratamientos de multiplicación para explantes de Werneria nubigena Kunth*

Código	Concentración de BAP (mg/L)	Concentración de AIA (mg/L)
M0	0	0
M1	1	0
M2	2	0
M3	0	0,3
M4	1	0,3
M5	2	0,3
M6	0	0,6
M7	1	0,6
M8	2	0,6

#### Variables de respuesta

Inducción de brotes

Número de brotes

Altura del explante (cm)



## Fase de laboratorio

### 4. Etapa de Enraizamiento

**Tabla 5.** *Tratamientos de enraizamiento para explantes de Werneria nubigena Kunth*

Código	Hormona	[mg/L]
E0	0	0
E1	AIA	0,5
E2	AIA	1
E3	AIA	3

#### Variables de respuesta

Inducción de raíces

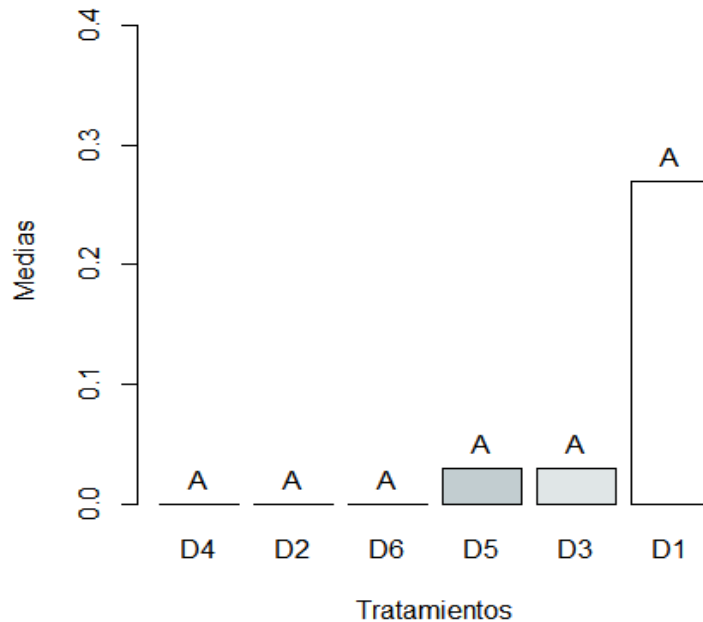
Número de raíces

Longitud de raíces (cm)

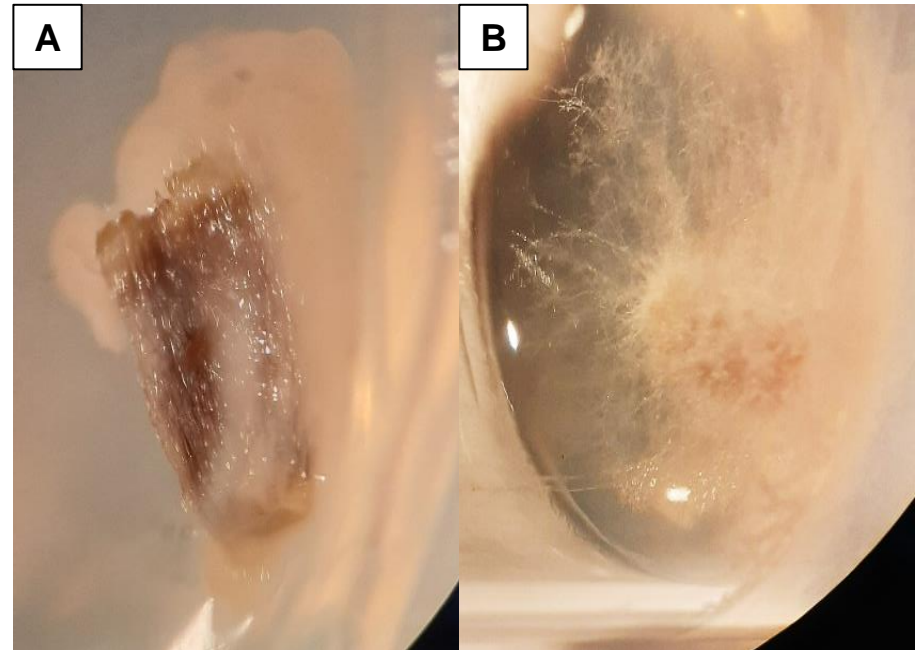
Oxidación

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 1. Desinfección de semillas de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 13.** Proporción de semillas contaminadas en 30 días



**Figura 14. A)** Contaminación por Bacteria **B)** Contaminación por hongo

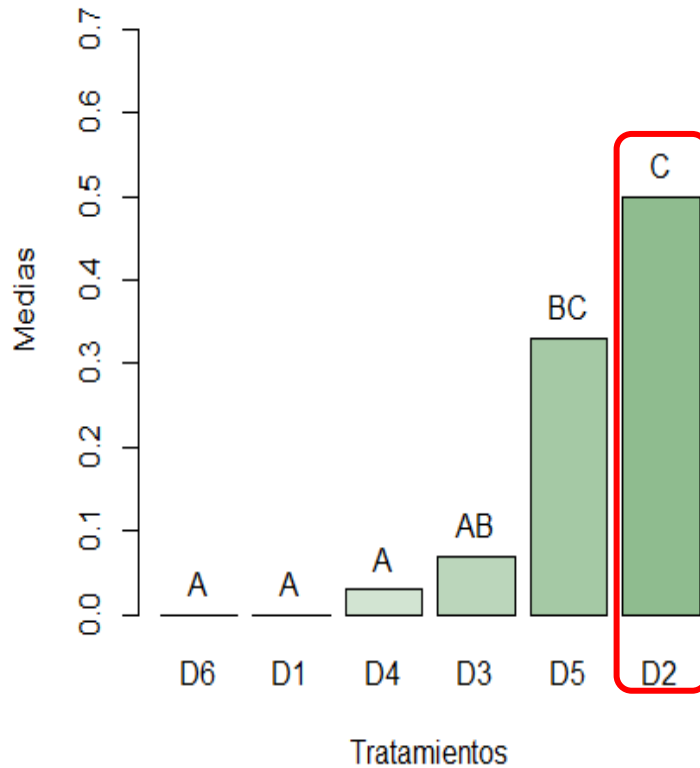
*Pentacalia nítida*

*Ageratina gynoxoide*

*Pentacalia ledifolia*

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 1. Desinfección de semillas de *Werneria nubigena* Kunth



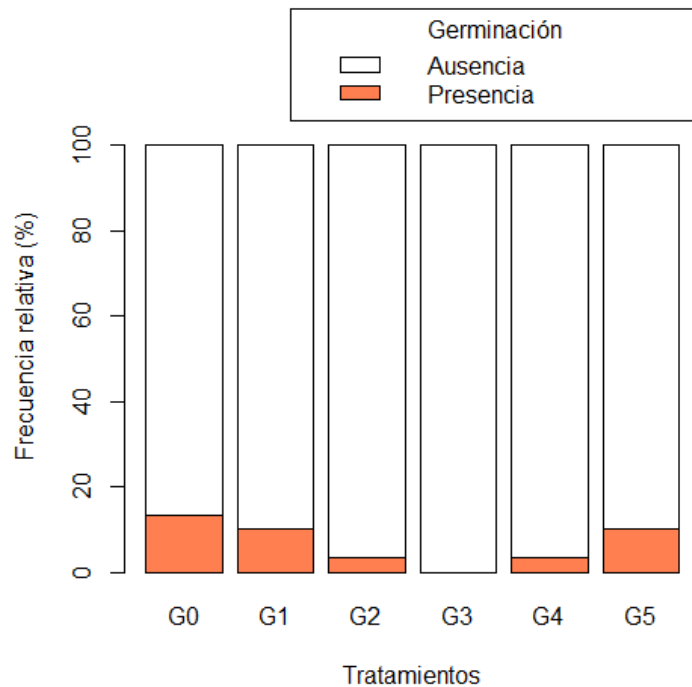
**Figura 15.** Proporción de semillas germinadas por tratamiento de desinfección



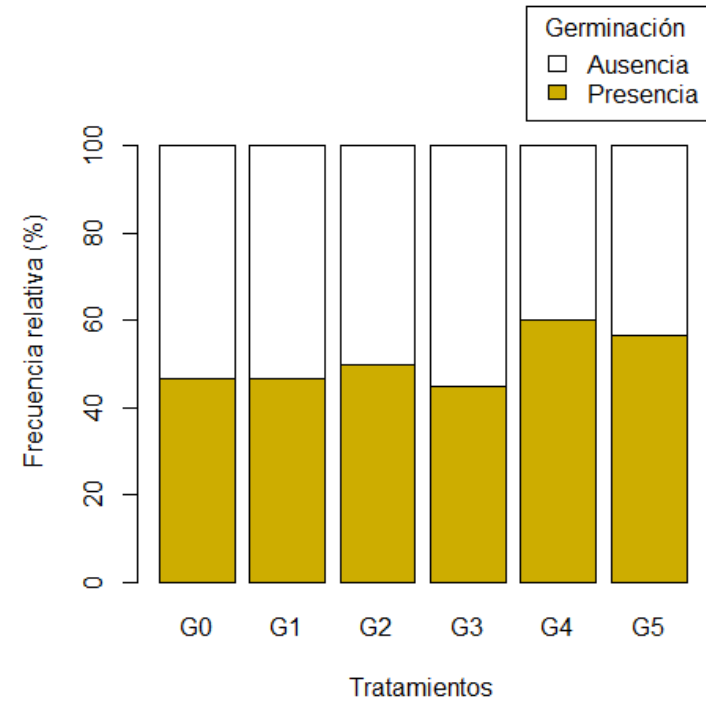
**Figura 16.** Planta obtenida a los 30 días

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 2. Germinación de semillas de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 17.** Porcentaje de semillas germinadas

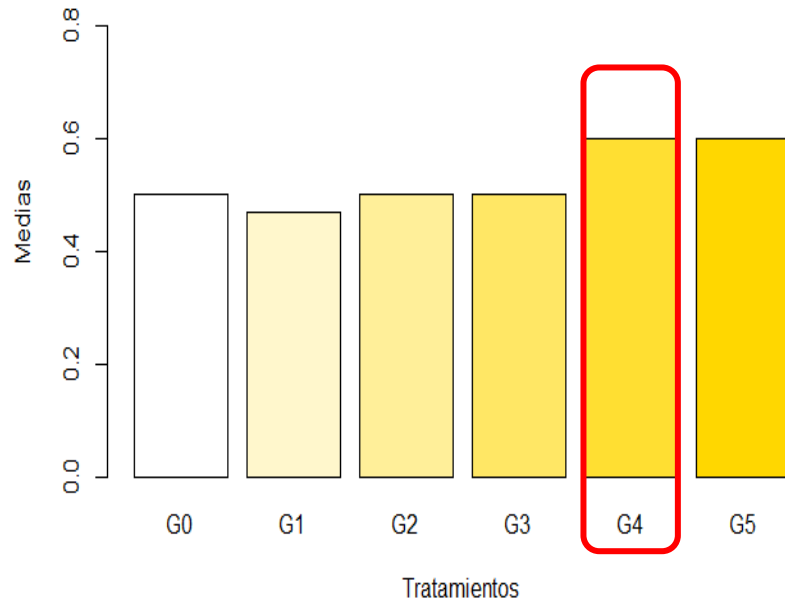


**Figura 18.** Porcentaje de embriones germinados

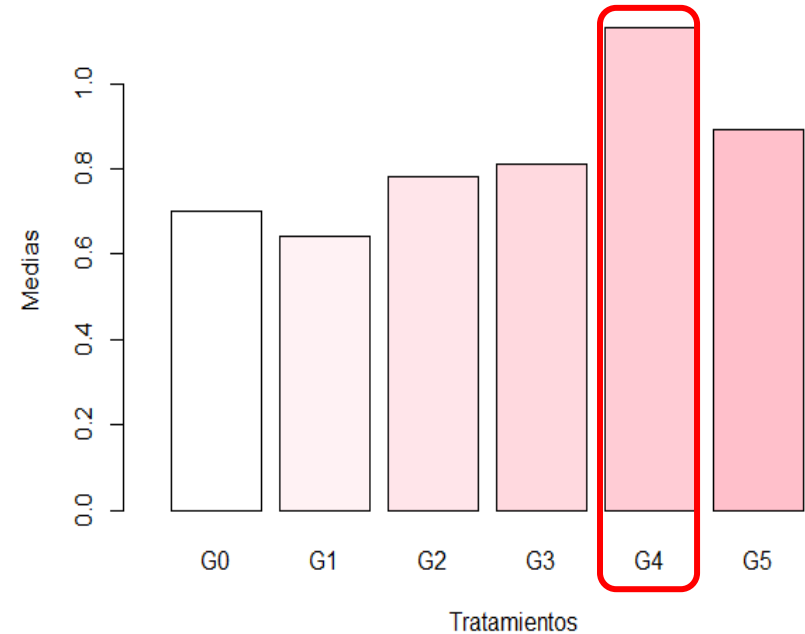


# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 2. Germinación de semillas de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 19.** Proporción de embriones germinados



**Figura 20.** Longitud (cm) de plantas obtenidas

*Monticolia andicola*

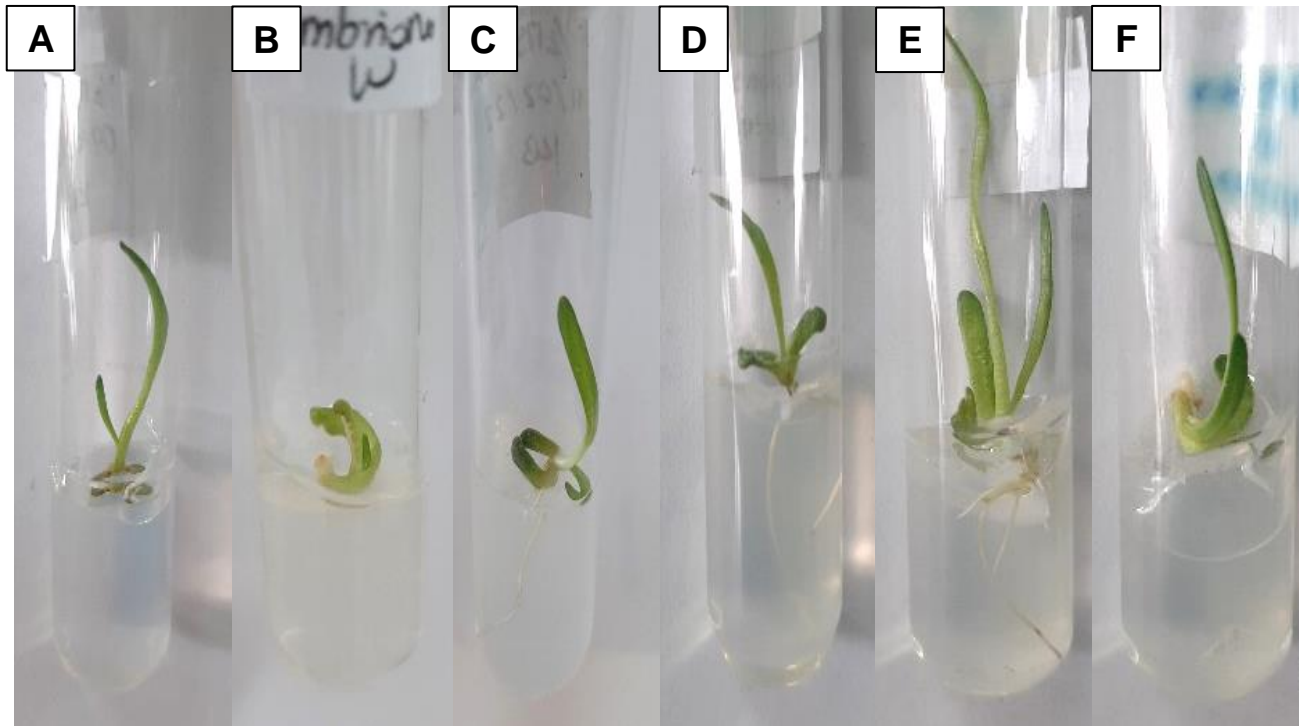
*M. peruviana*

*Diplostephium  
rupestre*

*D. rhomboidale*

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

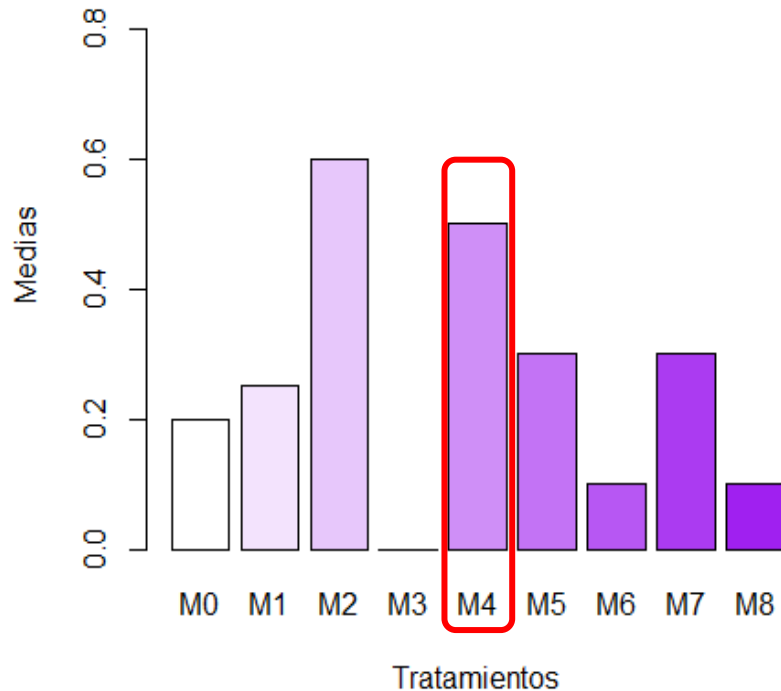
## 2. Germinación de semillas de *Werneria nubigena* Kunth



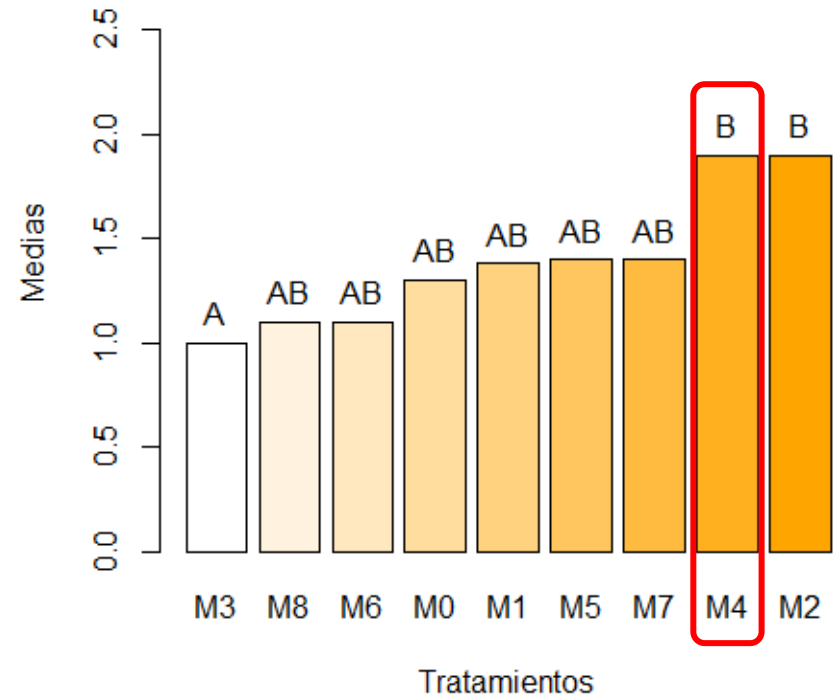
**Figura 21.** Plantas obtenidas a los 30 días por cada tratamiento **A)** G0, **B)** G1, **C)** G2, **D)** G3, **E)** G4 y **F)** G5.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3. Multiplicación de explantes de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 22.** Proporción de brotes inducidos



**Figura 23.** Número de brotes por explante

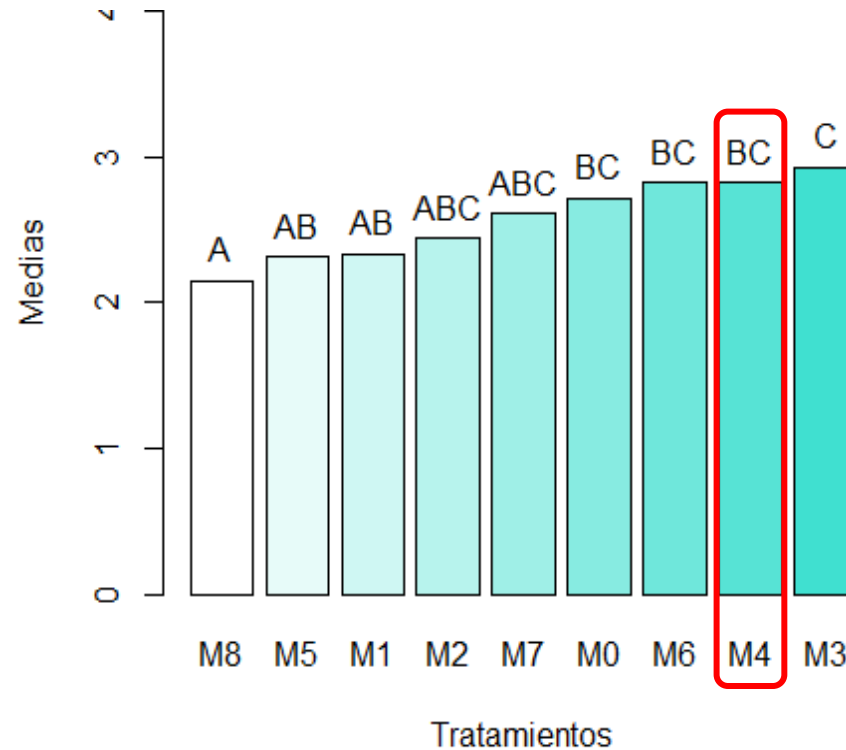
*Senecio calvus*

*Chuquiragua jussieui*

*Artemisia chamaemelifolia*

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

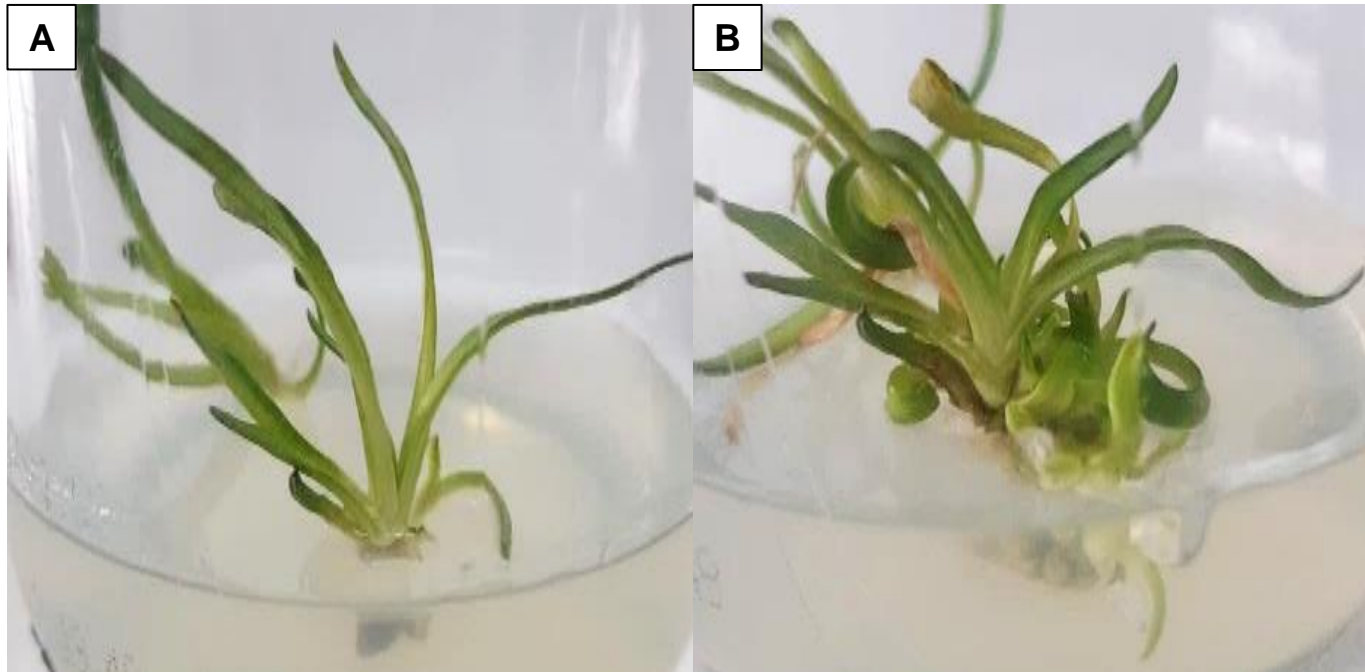
## 3. Multiplicación de explantes de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 24.** Longitud de los explantes

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3. Multiplicación de explantes de *Werneria nubigena* Kunth

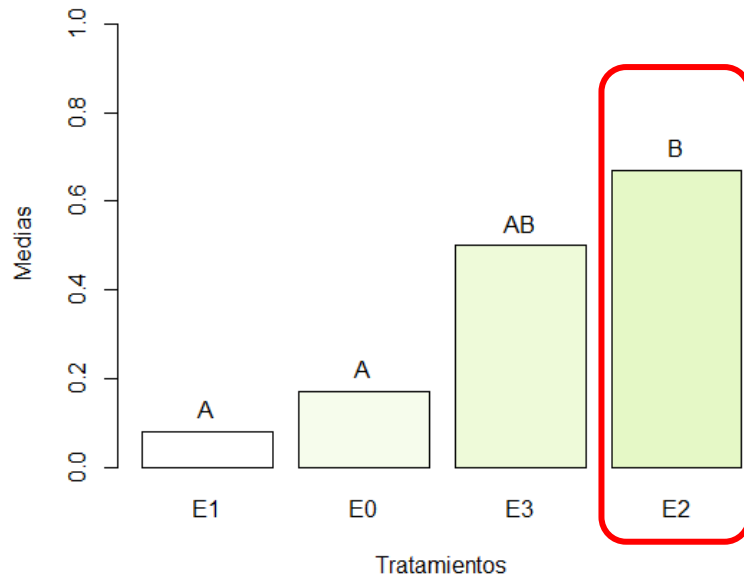


**Figura 25.** Obtención de brotes **A)** Explantes a los 7 días **B)** Explante a los 30 días Tratamiento (M4)

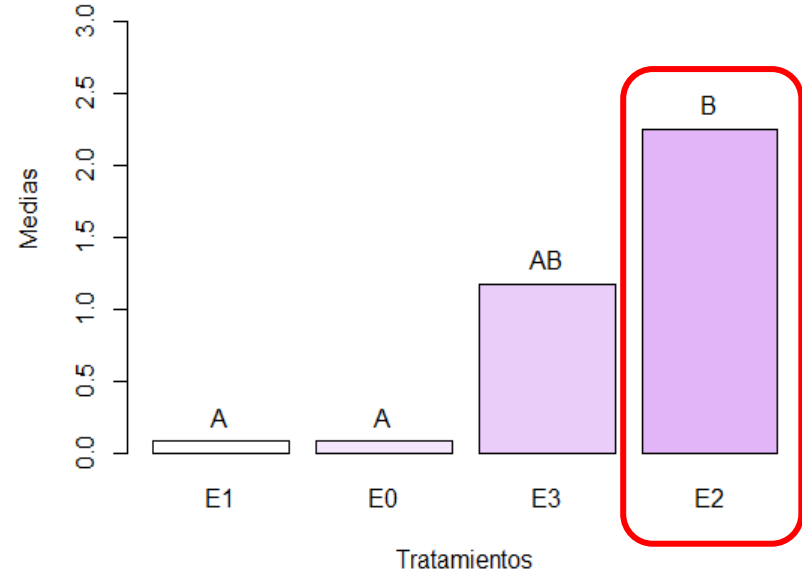


# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4. Enraizamiento de explantes de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 26.** Proporción de raíces obtenidas por tratamiento



**Figura 27.** Número de raíces por explantes

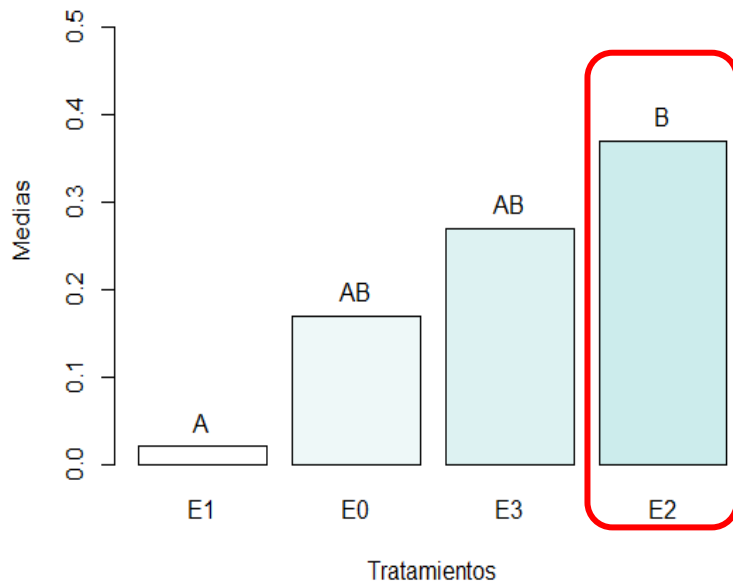
*Dhalia sp*

*Tripleurospermum insularum*

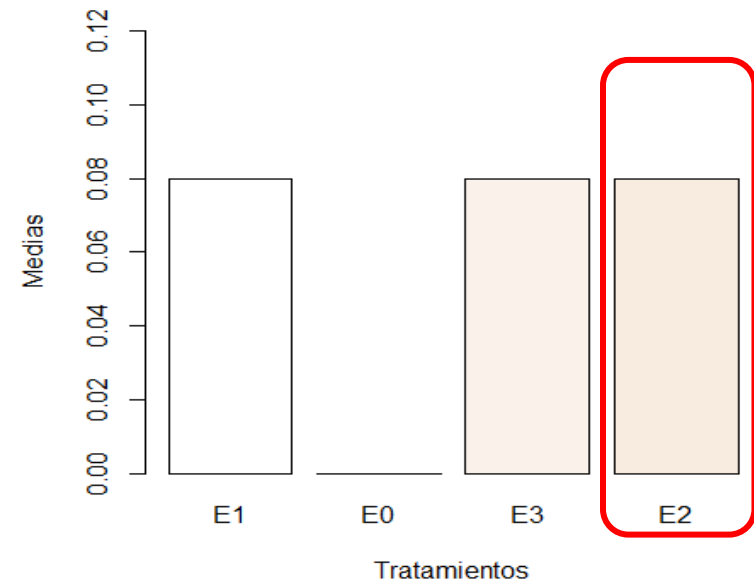
*Artemisia vulgaris*

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4. Enraizamiento de explantes de *Werneria nubigena* Kunth



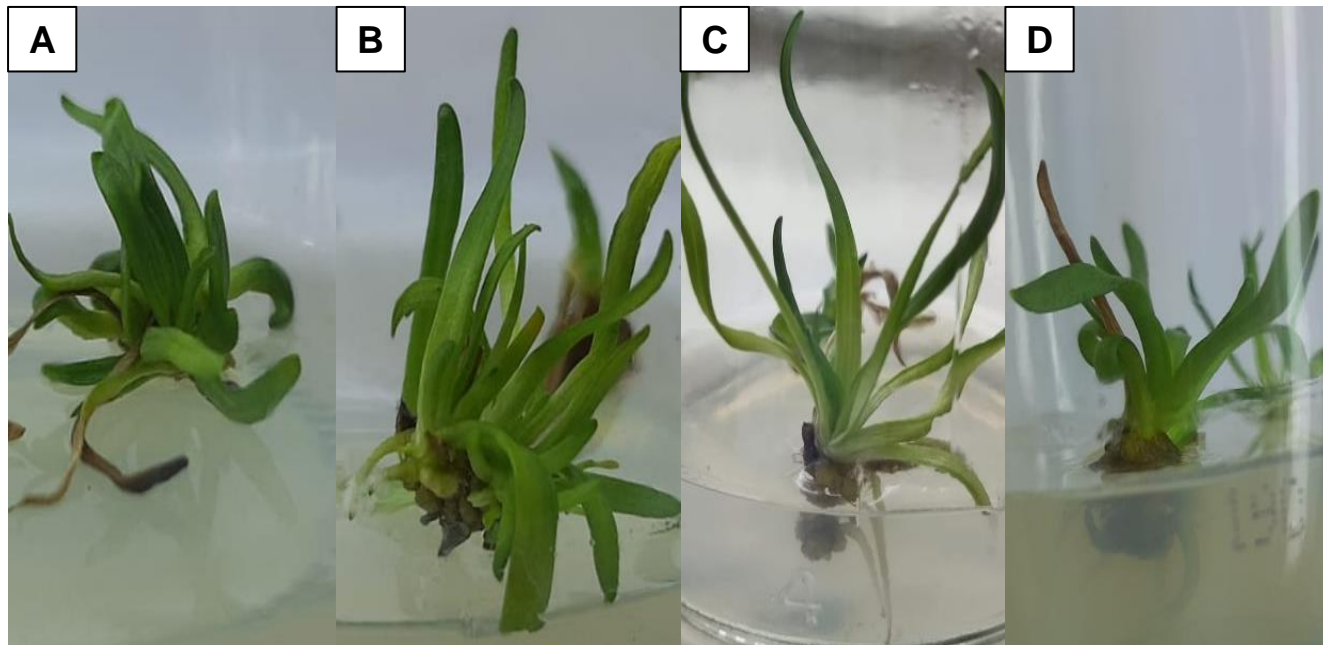
**Figura 28.** Longitud de raíces (cm)



**Figura 29.** Proporción de explantes oxidados

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4. Enraizamiento de explantes de *Werneria nubigena* Kunth



**Figura 30.** Plantas enraizadas a los 45 días por cada tratamiento **A)** E0, **B)** E1, **C)** E2 y **D)** E3

- El protocolo de **desinfección** óptimo establecido constó de **detergente** al 2% por 15 min, **etanol** al 75% por 1 min y **cloro al 6% por 7,5 min**, dado que obtuvo **100%** de desinfección y **alto porcentaje** de germinación (**50%**).
- Para la fase de **germinación** se **retiró la testa**, ya que **aumentó** el porcentaje de germinación (**~40%**), de la misma manera el **tratamiento G4** elaborado con MS+1mg/L AG3 permitió obtener **plantas aptas** para el proceso de multiplicación.



- El tratamiento **M3** compuesto por **1mg/L de BAP** y **0,3 mg/L de AIA** se estableció como tratamiento de **multiplicación** ya que tuvo brotes en **50%** de los **explantes** con un promedio de **1,9 brotes por explante** y **2,82 cm** de longitud.
- Se estableció que la **concentración de 1mg/L de AIA** tuvo **raíces** en el **67% de los explantes** introducidos, **2,25 raíces por explante** con **longitud de 0,37cm**, siendo el tratamiento que mejores resultados presentó en la fase de **enraizamiento**.





- Analizar el efecto de los tratamientos a nivel citogenético para determinar la presencia de mutaciones en las plantas obtenidas, debido a que estas serán introducidas en áreas protegidas.
- Analizar el efecto de menores concentraciones de cloro en la desinfección a los mismos tiempos de inmersión establecidos en este estudio.
- Al ser una planta de páramo se puede determinar los principios activos que presenta.
- Determinar el porcentaje de supervivencia de las plantas en la fase de aclimatización.



# AGRADECIMIENTOS



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**Mónica Jadán, Ph.D.**

Directora del Proyecto de Investigación

**Claudia Segovia Ph.D.**

Co-directora del Proyecto de Investigación

**Tesistas y pasantes**

Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales

**Familia**

**Amigas y Amigos**



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA