

Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento in vitro de explantes de *Cinchona Officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja

Hormone balance for the phase of sprouting and rooting in vitro explants of *Cinchona officinalis* L., from of wooded relicts province of Loja

Eras-Guamán Victor ^{1*}
Moreno José ¹
Yaguana Magaly ²
Poma Ruth ²
Paredes Daniela ³

¹Docente Investigador, Universidad Nacional de Loja. Ecuador.

²Técnico del Laboratorio de Micropropagación Vegetal, Universidad Nacional de Loja. Ecuador.

³Tesista de la Carrera de Ingeniería Forestal, Universidad Nacional de Loja. Ecuador.

*Autor para correspondencia: victorhugoeras@hotmail.com // victor.eras@unl.edu.ec

RECIBIDO: 31/03/2019

APROBADO: 27/05/2019

RESUMEN

C*inchona officinalis* L., quina o cascarilla, es endémica de la provincia de Loja, es uno de los géneros de mayor importancia por el alto contenido de alcaloides que contiene su corteza, el cual durante siglos ayudó a combatir la malaria. En la presente investigación se determinó el balance hormonal adecuado para las fases de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Cinchona officinalis* L. El material vegetal fue proveniente de tres relictos boscosos de la provincia de Loja: Zamora Huayco, Uritusinga y Selva Alegre. Para la fase de multiplicación y enraizamiento *in vitro* se utilizó ápices caulinares y segmentos nodales provenientes de vitroplantas, se sembraron en medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) suplementado con auxinas y citocininas en diferentes concentraciones; para brotamiento: AIA (0.0; 0.2; 0.5 mg L⁻¹) y BAP (2.0 y 2.5 mg L⁻¹) y enraizamiento AIB (0.0; 0.2; 1.0; 2.0 mg L⁻¹) y BAP (0.0 y 0.5 mg L⁻¹). El tratamiento T2 (0.0 mg L⁻¹ AIA + 2.5 mg L⁻¹ BAP) se obtuvo mayor porcentaje de brotación en los tres sectores Zamora Huayco con 97,78 %, Uritusinga 93,33 % y Selva Alegre alcanzando 78,89 %. Así También, el T2 (2.0 mg L⁻¹ AIB + 0.0 mg L⁻¹ BAP), presentó mayor porcentaje de enraizamiento en los sectores Zamora Huayco con 46,11 %, Uritusinga 17,78 % y Selva Alegre con 26,67 %. De esta manera, se comprobó que a mayor concentración de citoquininas mayor estimulación de brotes; y al ser combinadas con auxinas a altas concentraciones se estimulan la formación de raíces.

Palabras clave: *Cinchona*, *in vitro*, reguladores de crecimiento, brotamiento, enraizamiento.

ABSTRACT

Cinchona officinalis L., quina or cascarilla, is endemic to the province of Loja, is one of the most important genera due to the high content of alkaloids contained in its bark, which for centuries helped to fight malaria. In the present investigation the hormonal balance suitable for the phases of multiplication and *in vitro* rooting of *Cinchona officinalis* L. was determined. The vegetal material came from three wooded relict of the province of Loja: Zamora Huayco, Uritusinga and Selva Alegre. For the *in vitro* multiplication and rooting phase, caulinar apices and nodal segments from vitroplants were used, they were seeded in Murashige & Skoog (MS) culture medium supplemented with auxins and cytokinins in different concentrations; for sprouting: AIA (0.0; 0.2; 0.5 mg L⁻¹) and BAP (2.0 and 2.5 mg L⁻¹) and rooting AIB (0.0; 0.2; 1.0; 2.0 mg L⁻¹) and BAP (0.0 and 0.5 mg L⁻¹). The treatment T2 (0.0 mg L⁻¹ AIA + 2.5 mg L⁻¹ BAP) obtained a higher sprouting percentage in the three sectors Zamora Huayco with 97,78 %, Uritusinga 93,33 % and Selva Alegre reaching 78.89 %. Likewise, T2 (2.0 mg L⁻¹ AIB + 0.0 mg L⁻¹ BAP), presented the highest percentage of rooting in the Zamora Huayco sectors with 46,11 %, Uritusinga 17,78 % and Selva Alegre with 26,67 %. In this way, it was found that the higher the concentration of cytokinins, the greater the stimulation of shoots; and when combined with auxins at high concentrations, root formation is stimulated.

Key words: *Cinchona*, *in vitro*, growth regulators, sprouting, rooting.

INTRODUCCION

El género *Cinchona* es nativo de los valles andinos de Sudamérica, se encuentra en las estribaciones desde Venezuela a Bolivia, siguiendo los bosques nublados andinos, la especie tiene preferencia por los lugares más escarpados y de fuerte pendiente (Acosta-Solís, 1947; Anderson y Taylor, 1994; Camp, 1949; Zevallos, 1989). Se distribuye a lo largo de la zona tropical y ecuatorial de la cordillera de los Andes, desde los 12° de latitud norte hasta los 20° de latitud sur (Anderson y Taylor, 1994). En Ecuador, se encuentra distribuida en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay, Morona Santiago, Zamora Chinchipe y Loja (Jorgensen y León, 1999).

Cinchona officinalis L., comúnmente llamada quina o cascarilla es considerada como “Planta Nacional del Ecuador”, pues simbolizó el origen histórico del “Árbol de la vida” (Anda, 2002; Córdor *et al.*, 2009; Garmendia, 2005; Moya, 1994) debido a las propiedades en su corteza. Además, es una de las especies endémicas más representativas que se encuentra localizada en pequeñas áreas geográficas del Valle de Loja (Anderson y Taylor, 1994; Córdor *et al.*, 2009).

Esta especie ha sido de gran importancia para la economía e historia de los países en los que se encuentra, la utilización de quina y quinina de la corteza, supuso un singular aporte para la salud y la cultura universal (Buddenhagen *et al.*, 2004; Garmendia, 2005) pues, fue el único remedio eficaz contra el paludismo y la malaria (Anderson y Taylor, 1994; Córdor *et al.*, 2009; Cuvi, 2011). La cascarilla tiene un nuevo uso en el mercado, pues es muy utilizada en la industria de alimentos y bebidas, como las aguas tónicas de sabor amargo, el más conocido “*gin tonic*” que ha conquistado varios mercados de

Europa y Estados Unidos (Ulloa, 2006). De igual manera, su madera se utiliza para postes, puntales, vigas, leña y carbón (Loján, 1992).

A partir de esto, la excesiva demanda de *Cinchona* provocó durante años la explotación irracional de las especies que comprenden este género, sumado a ello, actividades como: la deforestación, incremento demográfico, incendios forestales, ampliación de la frontera agrícola y pecuaria han ocasionado la destrucción de su hábitat, reduciendo significativamente sus poblaciones, encontrándose únicamente en lugares apartados y en pequeños relictos boscosos; provocando a su vez, una baja tasa de germinación y regeneración natural (Anda, 2002; Madsen, 2002; Buddenhagen *et al.*, 2004).

Ante lo expuesto, surge la necesidad de realizar estudios en busca de nuevas metodologías alternativas de propagación que permitan el uso de herramientas biotecnológicas, como la técnica de propagación *in vitro* de tejidos vegetales, con el fin de incidir en la recuperación, conservación y protección de la especie; así como, aportar en programas de forestación y reforestación impulsados por organismos gubernamentales y no gubernamentales, para recuperar zonas degradadas y sus ecosistemas.

Con estos antecedentes, el presente trabajo de investigación está orientado a generar información científica sobre la propagación *in vitro* de *Cinchona officinalis* L., para determinar el balance hormonal adecuado en las fases de brotamiento y enraizamiento, con la finalidad de multiplicar plantas de *Cinchona* de forma rápida, eficiente y en grandes cantidades. Además; cabe mencionar que la investigación se desarrolló durante el periodo: julio 2017- agosto 2018, el mismo que formó parte del proyecto de investigación: “Procesos biotecnológicos para iniciar el mejoramiento genético de *Cinchona officinalis* L., proveniente de relictos boscosos de la provincia de Loja”, que se ejecutó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

■ MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador (4° 1' 56,18" S; 79° 12' 0,07" O).

Material vegetal

Previo al establecimiento de los ensayos, se obtuvo plántulas a partir de la germinación *in vitro* de semillas, provenientes de tres relictos boscosos en la provincia de Loja: Zamora Huayco (cantón Loja), Uritusinga (cantón Catamayo) y Selva Alegre (cantón Saraguro); y se utilizó el medio de cultivo basal conformado por sales minerales de MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado con vitaminas y sacarosa al 2,0%. Se ajustó el pH a $5,8 \pm 0,2$ con NaOH o HCL.

Fase de brotamiento *in vitro* en explantes de *C. officinalis*.

Se seleccionaron los ápices caulinares y segmentos nodales de las plántulas germinas *in vitro*, se sembraron en un medio de cultivo basal estuvo constituido por las sales minerales MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado con vitaminas (Tiamina 1 mg L^{-1} y Mio-inositol 100 mg L^{-1}), sacarosa (2%) como fuente de carbohidratos, agar (0.6%) como agente gelificante, y se adicionó la interacción de dos hormonas: ácido indolacético (0.0, 0.2, 0.5 mg L^{-1}), 6-bencil-aminopurina (2.0, 2.5 mg L^{-1}). El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.8 ± 0.2 con NaOH

Eras-Guamán, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R. y Paredes, D. (2019). Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de *Cinchona Officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1): 58 - 68.

1N; se sembraron 2 explantes/vial, a temperatura de 23 ± 2 °C y un fotoperiodo de 16-8 horas, luz-oscuridad (Tabla 1). En el diseño experimental se utilizó un diseño complementa al azar (DCA), con 4 tratamientos y 3 repeticiones. La evaluación se llevó a cabo por observación directa, por un periodo de 90 días, después de realizada la siembra *in vitro*. La variable de evaluación fue el porcentaje de brotación.

Tabla 1. Efecto de la combinación hormonal auxina-citoquinina en el desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales en *Cinchona officinalis* L.

Tratamiento	Descripción
T1	0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP
T2	0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.5 mg L ⁻¹ BAP
T3	0.2 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP
T4	0.5 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP

Fase de enraizamiento *in vitro* de *C. officinalis* L.

Se seleccionaron los ápices caulinares y segmentos nodales de las plántulas germinas *in vitro*, se sembraron en un medio de cultivo basal estuvo constituido por las sales minerales MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado con vitaminas (Tiamina 1 mg L⁻¹ y Mio-inositol 100 mg L⁻¹), sacarosa (2 %) como fuente de carbohidratos, agar (0.6 %) como agente gelificante, carbón activado (1 g L⁻¹) y se adicionó la interacción de dos hormonas: ácido indolbutírico (1.0, 2.0 mg L⁻¹), 6-bencil-aminopurina (0.0, 0.5 mg L⁻¹) (Tabla 2). El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.8 ± 0.2 con NaOH 1N; se sembraron 2 explantes/vial, a temperatura de 23 ± 2 °C y un fotoperiodo de 16-8 horas, luz-oscuridad, por un periodo de 90 días. Se utilizó un diseño experimental, complementa al azar (DCA), con 4 tratamientos y 3 repeticiones. La evaluación se llevó a cabo por observación directa, por un periodo de 90 días. La variable de evaluación fue el porcentaje de enraizamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la interacción auxina - citoquinina, en el enraizamiento de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales en *Cinchona officinalis* L.

Tratamiento	Descripción
T1	1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP
T2	2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP
T3	1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP
T4	2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP

Análisis estadístico

Se utilizó el software Info Stat (Di Rienzo *et al.*, 2009). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), estableciendo diferencias significativas con el Test de Tukey a un nivel de significancia de 0.05 en cada uno de los ensayos realizados.

RESULTADOS

El ANOVA y la Prueba de significancia de Tukey mostró que solo en el sector de Zamora Huayco de la variable brotamiento, existe diferencias significativas; y, para los sectores restantes tanto para las variables de % brotamiento y % enraizamiento no existen diferencias significativas entre tratamientos según la prueba realizada con significancia $p < 0,005$ (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto del balance hormonal auxinas-citoquininas para la proliferación de brotes y raíces en *C. officinalis*.

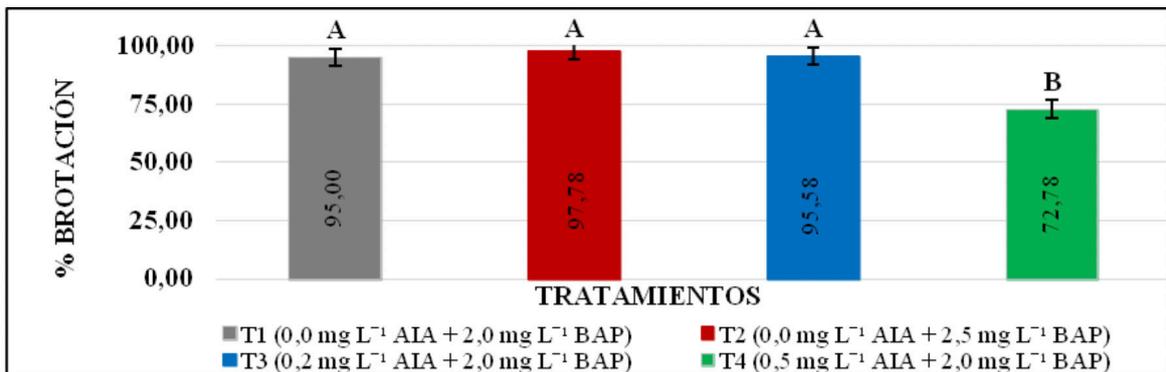
SECTOR	TRATAMIENTO	Brotamiento		TRATAMIENTO	Enraizamiento	
		% ± E.E	p-value		% ± E.E	p-value
ZAMORA HUAYCO	T1 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	95.00 ± 3.82 A	0.0053	T1 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	39.44 ± 10.78 A	0.8224
	T2 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.5 mg L ⁻¹ BAP)	97.78 ± 3.82 A		T2 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	46.11 ± 10.78 A	
	T3 (0.2 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	95.56 ± 3.82 A		T3 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	41.67 ± 10.78 A	
	T4 (0.5 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	72.78 ± 3.82 B		T4 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	43.33 ± 10.78 A	
URITUSINGA	T1 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	83.89 ± 2.94 A	0.1814	T1 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	00.00 ± 4.99 A	0.2557
	T2 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.5 mg L ⁻¹ BAP)	93.33 ± 2.94 A		T2 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	17.78 ± 4.99 A	
	T3 (0.2 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	92.78 ± 2.94 A		T3 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	9.44 ± 4.99 A	
	T4 (0.5 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	92.22 ± 2.94 A		T4 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	15.00 ± 4.99 A	
SELVALEGRE	T1 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	70.56 ± 7.36 A	0.8420	T1 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	12.22 ± 9.99 A	0.3461
	T2 (0.0 mg L ⁻¹ AIA + 2.5 mg L ⁻¹ BAP)	78.89 ± 7.36 A		T2 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.0 mg L ⁻¹ BAP)	26.67 ± 9.99 A	
	T3 (0.2 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	77.22 ± 7.36 A		T3 (1.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	26.67 ± 9.99 A	
	T4 (0.5 mg L ⁻¹ AIA + 2.0 mg L ⁻¹ BAP)	75.56 ± 7.36 A		T4 (2.0 mg L ⁻¹ AIB + 0.5 mg L ⁻¹ BAP)	17.22 ± 9.99 A	

Brotamiento *in vitro* en explantes de *C. officinalis*.

Sector Zamora Huayco

En ápices caulinares y segmentos nodales, se evaluó el efecto del BAP sólo y en combinación con IAA en la inducción de brotes. El ANOVA y la Prueba de significancia de Tukey al 5 % mostró que existen diferencias significativas entre tratamientos en porcentaje de brotamiento ($P = 0.0053^*$), número de brotes por explante ($P = 0.0053^*$) y longitud promedio de brotes ($P = 0.0110^*$) (Figura 1; Tabla 3).

Eras-Guamán, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R. y Paredes, D. (2019). Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de *Cinchona Officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1): 58 - 68.

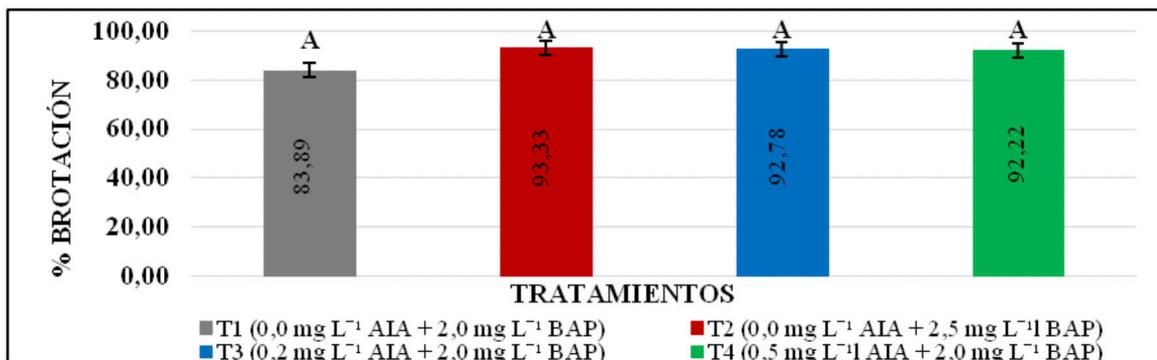


Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 1. Porcentaje de brotación a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Cinchona officinalis* L., sector Zamora Huayco.

Sector Uritusinga

El ANOVA y la Prueba de significancia de Tukey al 5 % mostró que existen diferencias significativas entre tratamientos en la longitud promedio de brotes ($P = 0.0257^*$). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre tratamientos en el porcentaje de brotamiento ($P = 0.1814$) y número de brotes por explante ($P = 0.1227$) (Figura 2; Tabla 3).

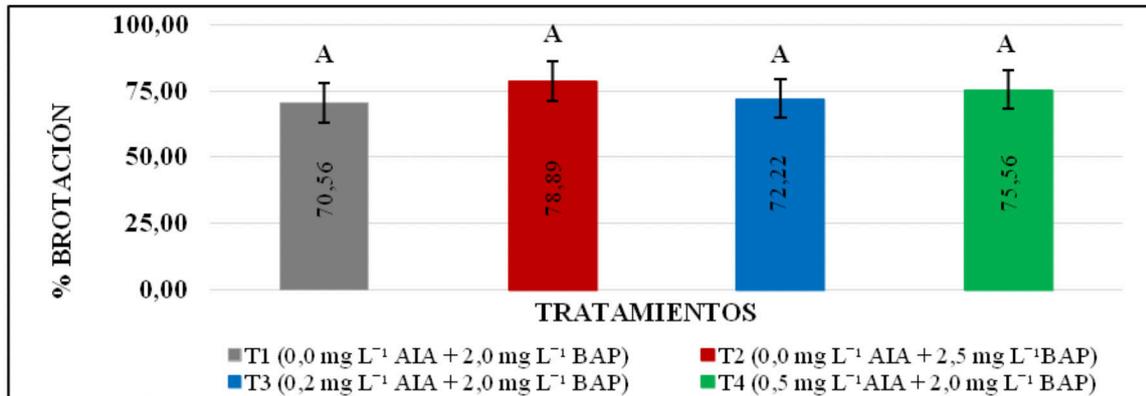


Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 2. Porcentaje de brotación a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Cinchona officinalis* L., sector Uritusinga.

Sector Selva Alegre

El ANOVA y la Prueba de significancia de Tukey al 5 % mostró que no existen diferencias significativas entre tratamientos, en el porcentaje de brotamiento ($P = 0.8420$), número de brotes por explante ($P = 0.8668$) y longitud promedio de brotes ($P = 0.0609$) (Figura 3; Tabla 3).



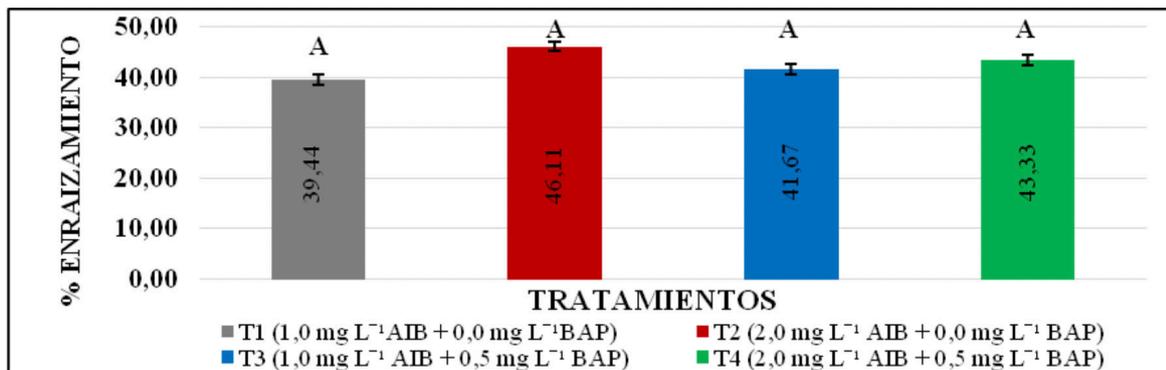
Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 3. Porcentaje de brotación a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Cinchona officinalis* L., sector Selva Alegre.

Enraizamiento *in vitro* de *Cinchona officinalis* L.

Sector Zamora Huayco

En ápices caulinares y segmentos nodales, se evaluó el efecto del AIB sólo y en combinación con BAP en la proliferación de raíces. El ANOVA y la prueba de Tukey al 5 %, mostró que no existen diferencias significativas entre tratamientos en porcentaje de enraizamiento ($P=0.8224$), número de raíces por explante ($P=0.8224$) y longitud promedio de raíces ($P=0.8732$) (Figura 4; Tabla 3).



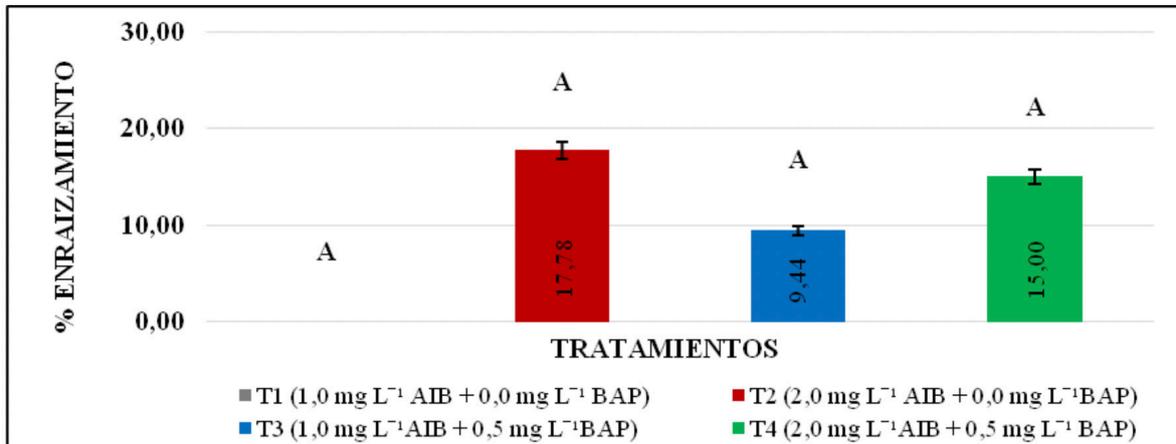
Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 4. Porcentaje de enraizamiento en explantes de *Cinchona officinalis* L., sector Zamora Huayco.

Sector Uritusinga.

El ANOVA y la prueba de Tukey al 5 %, mostró que no existen diferencias significativas entre tratamientos en porcentaje de enraizamiento ($P=0.2557$), número de raíces por explante ($P=0.2557$) y longitud promedio de raíces ($P=0.8254$) (Figura 5; Tabla 3).

Eras-Guamán, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R. y Paredes, D. (2019). Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de *Cinchona Officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1): 58 - 68.

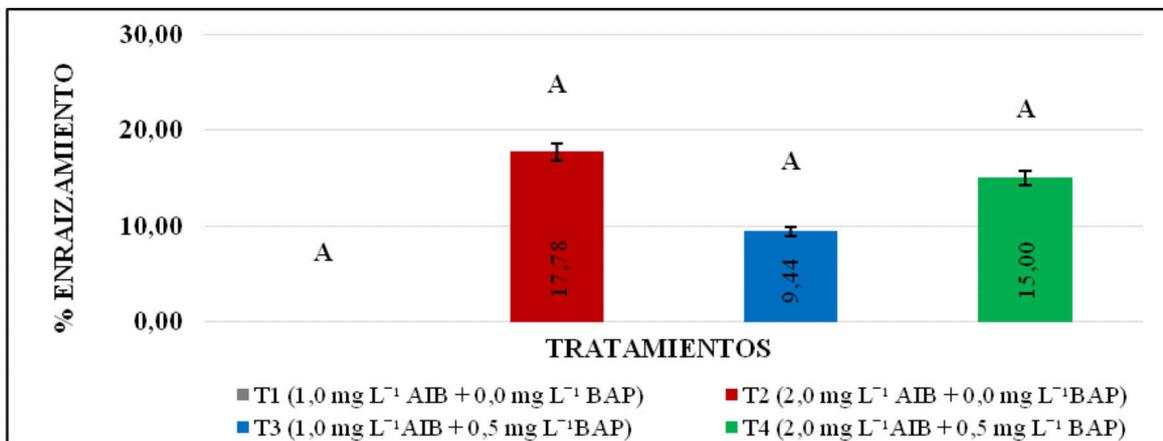


Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 5. Porcentaje de enraizamiento en explantes de *Cinchona officinalis* L., sector Uritusinga.

Sector Selva Alegre

El ANOVA y la prueba de Tukey al 5 % mostró que no existen diferencias significativas entre tratamientos en porcentaje de brotamiento ($P = 0.3461$), número de raíces por explante ($P = 0.3461$) y longitud promedio de raíces ($P = 0.1992$) (Figura 6; Tabla 3).



Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$

Figura 6. Porcentaje de enraizamiento en explantes de *Cinchona officinalis* L., sector Selva Alegre.

DISCUSION

Brotamiento *in vitro* de ápices caulinares y segmentos nodales

En el sector Zamora Huayco, a los 90 días de evaluación se observó que, el mayor porcentaje de brotación (97.78) se obtuvo en el medio suplementado con 0.0 mg L⁻¹ AIA + 2.5 mg L⁻¹ BAP. Estos resultados podrían deberse al efecto del BAP, pues es conocido que las citocininas en cantidades óptimas inducen la proliferación y elongación de brotes y yemas *in vitro* (Pérez., 1998).

Además, la inclusión de bajas concentraciones de auxinas junto con la citoquinina desencadena proliferación de brotes (Jha and Jha, 1989; Roja *et al.*, 1990; Rout and Das, 1997a,b; Sharma and Singh, 1997; Shasany *et al.*, 1998; Tsay *et al.*, 1989). Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Chamba (2019), que al suplementar el medio con 0,5 mg L⁻¹ ANA + 2.5 mg L⁻¹ BAP obtuvo en promedio 6 brotes/explante de 1,6 cm. Sin embargo, son superiores a los obtenidos por Lima *et al.* (2018) que aplicando 0,2 mg L⁻¹ de ANA + 2 mg L⁻¹ de BAP obtuvieron en promedio 4,73 brotes/explante de 0.83 cm. Armijos-González y Pérez (2011) con 3 IBA + 5 BAP obtuvieron 4,3 brotes/explante y Córdova (2012), con una concentración hormonal de 0.1 mg L⁻¹ de ANA + 1 mg L⁻¹ de BAP obtuvo 4 brotes/explante. Es decir, la aplicación de citocininas en mayor proporción que las auxinas presenta efectos positivos en la inducción y elongación de brotes en especies forestales. (Pérez, 2000; Daquinta, 2003).

Enraizamiento *in vitro* de *Cinchona officinalis* L.

En el sector Zamora Huayco, a los 90 días de evaluación se observó que, el mayor porcentaje de enraizamiento (46.11), se obtuvo en el medio suplementado con 2.0 mg L⁻¹ AIB + 0.0 mg L⁻¹ BAP; estos resultados podrían deberse al efecto del AIB, pues es conocido que las auxinas en cantidades óptimas inducen la proliferación y elongación de raíces *in vitro* (Pérez, 1998). En especies como *Cedrela montana* con 1 mg L⁻¹ + AIB obtuvieron un promedio de 2.4 raíces/explante de 3.6 cm (Díaz *et al.*, 2013). En *Loxopterygium huasango* Spruce ex Engl., con 1.5 mg L⁻¹ AIA obtuvieron 23,90 raíces/explante de 2,41 cm, con medio MS ½ de su concentración (Conde *et al.*, 2017). Los resultados obtenidos podrían deberse a la concentración de la AIB, ya que las auxinas contribuyen al enraizamiento (Jordán y Casereto, 2006).

CONCLUSION

Mediante la técnica de cultivo *in vitro* y utilizando concentraciones adecuadas de citocininas es posible inducir brotamiento y enraizamiento en ápices caulinares y segmentos nodales, en porcentajes buenos, con lo cual se puede obtener material vegetal para futuros ensayos en laboratorio u obtener plantas *in vitro*. Además, los resultados obtenidos, pueden servir como referencia en otras especies forestales.

BIBLIOGRAFIA

- Acosta-Solís, M. (1947). *Cinchonas del Ecuador*. Editorial del Ecuador, Quito.
- Anda, A. (2002). *La Cascarilla*. Ed. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja-Ecuador.
- Anderson, L., & Taylor, C. (1994). "Rubiaceae-Cinchoneae-Coptosapelteae". En: Harling G, Anderson, L. (Eds), *Flora of Ecuador No. 50*. Council for Nordic Publications in Botany. Museo Botánica. Dinamarca.
- Armijos, R., & Pérez, C. (2011). Germinación y multiplicación *in vitro* en *Cinchona pubescens Vahl* y *Cinchona officinalis Linneo*. Loja, Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja, Universidad Politécnica de Madrid.
- Buddenhagen, C., Rentería, J., Gardener, M., Wilkinson, S., Soria, M., Yanez, P., Tye, A., & Valle, R. (2004). Control of a highly invasive tree *Cinchona*, in Galápagos. *Weed Technonolgy* 18: 1194-1202.

Eras-Guamán, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R. y Paredes, D. (2019). Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de *Cinchona Officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1): 58 - 68.

- Camp, W. (1949). "Cinchona at high altitudes in Ecuador". *Brittonian* Volumene 6.
- Chamba L. (2019). Procesos biotecnológicos para el brotamiento y enraizamiento de *Cinchona officinalis* L., a partir de vitroplantas, en la Argelia- Loja. (*In press*).
- Conde, V. (2017). Procesos biotecnológicos para la proliferación y enraizamiento *in vitro* de hualtaco *Loxopterygium huasango* Spruce ex Engl., proveniente del bosque seco de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*. 7(1): 34-55.
- Cóndor C., Bras E., Loayza O., & Reyna K. (2009). Estudio Químico De Los Tallos De *Cinchona pubescens* Vahl. *RevSocQuím Perú*. 75 (1).
- Córdova, P. (2012). Evaluación del efecto de los ciclos de cultivo y reguladores de crecimiento sobre la estabilidad genética en el cultivo de segmentos nodales de *Cinchona officinalis* usando marcadores ISSR. Universidad Técnica Particular de Loja.
- Cuvi, N. (2011). Ciencia e imperialismo en América Latina: La Misión de Cinchona y las estaciones agrícolas cooperativas. Saarbrucken: Editorial Académica Española.
- Daquinta, M., Rodríguez, L., Ramos, L., & Capote, R. (2003). *Biotechnology management of species and bamboos in Cuba. XII Woorld Forestry. Québec, Canada.*
- Díaz-Quichimbo, G., Poma-Angamarca, R., Minchala-Patiño, J., González-Zaruma, D., Rojas-Idrogo, C., & Delgado-Paredes, G. (2013). *In vitro* Clonal Propagation and Germplasm Conservation in the tropical Timber Tree Spanish White Cedar (C. Montana Moritz Ex Turcz.) (Meliaceae). *Journal of Biological Sciences*. 7(1).59-69.
- Garmendia, A. (2005). El árbol de la quina (*Cinchona* spp), Distribución, caracterización de su hábitat y arquitectura. Loja, Ecuador: Editorial Universidad Técnica Particular de Loja.
- Jha, S., & Jha, T. (1989). Micropropagation of *Cephaelis ipecacuanha* Rich. *Plant Cell Reports*. 437-9.
- Jordán y Casereto. (2006). Hormonas y Reguladores de crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. *Fisiología Vegetal*. 15:20.
- Jorgensen, P., & León, M. (1999). Catalogue of the vascular plants of Ecuador. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard*. 75: 1- 1182.
- Lima, R., Moreno, J., Eras, V., Michala, J., Gonzalez, D., Yaguana, M., & Valarezo, C. (2018). Propagación *in vitro* de *Cinchona officinalis* L., a partir de semillas. *Revista de Invesigaciones Altoandinas*. 20(2). 169-178. DOI:<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.361>
- Loján, L. (1992). El verdor de los Andes: Árboles y arbustos nativos para el desarrollo forestal alto andino. FAO. Proyecto de desarrollo forestal participativo en los Andes. Quito, Ecuador.
- Madsen, J. (2002). Historia cultural de la cascarilla de Loja, 385-399pp. En Z Aguirre M., J.E. Madsen, E. Cotton & H. Balslev (eds), *Botánica austro ecuatoriana: Estudio sobre los recursos vegetales en las provincias de El Oro, Loja y Zamora Chinchipe*. Ediciones Abya Yala, Quito-Ecuador.
- Moya, A. (1994). Augey Crisis de la Cascarilla en la Audiencia de Quito, Siglo XVIII. FLACSO, sede Ecuador. Obtenido de: <http://www.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/44227.pdf>
- Murashige, T., & Skoog. (1962). A revised médium gor rapid growth and bioessays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473- 497. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis68.pdf>

- Pérez, J. (1998). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de Biotecnología de las plantas. Ediciones GEO. Santa Clara, Cuba.
- Pérez-Tornero, O., Egea, J., Vanoostende, A., & Burgos, L. (2000). Assessment of factors affecting adventitious shoot regeneration from *in vitro* cultured leaves of apricot, *Plant Science*, 158: 61-70.
- Roja, G., Benjamin, B., Heble, R., Patankar, A., & Sipahimalani, A. (1990). The effect of plant growth regulators and nutrient conditions on growth and alkaloid production in multiple shoot cultures of *Rauwolfia serpentina*. *Phytotherapy Research* 4(2): 49–52.
- Rout, G., & Das, P. (1997a). In vitro organogenesis in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *J Herbs Spices Medicinal Plants*. 4(4): 41–51.
- Rout, G., & Das, P. (1997b). Techniques of micropropagation *in vitro*. In: Bose TK, Mitra SK, Sadhu MK, Das P, editors. *Propagation of Tropical and Sub-tropical Horticultural Crops*. Calcutta: Kalyani Publishers. 105–16 pp.
- Sharma, T., & Singh, B. (1997). High frequency *in vitro* multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. *Plant Cell Reports*. 17(1): 68–72.
- Shasany, A., Khanuja, S., Dhawan, S., Yadav, U., Sharma, S., & Kumar S. (1998). High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. *J Biosci*. 23(5) 641–6.
- Tsay, H., Gau, T., & Chen, C. (1998). Rapid clonal propagation of *Pinellia ternata* by tissue culture. *Plant Cell Reports*. 8 450–4.
- Ulloa, C. (2006). Aromas y sabores andinos. En: M. Moraes R., B. Øllgaard, L.P. Kvist, F. Borchsenius y H. Balslev (Eds.), *Botánica económica de los Andes Centrales*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Zevallos, P. (1989). Taxonomía, distribución geográfica y estatus del género *Cinchona* en Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima-Perú.