

MUPLICACIÓN SEXUAL Y ASEJUAL DE *Cinchona officinalis* L., CON FINES DE CONSERVACIÓN DE LA ESPECIE.

MUPLICATION SEXUAL AND ASEJUAL OF *Cinchona officinalis* L., FOR THE PURPOSE OF CONSERVATION OF THE SPECIE.

Marco Elí Conde Montaña¹
José Antonio Moreno Serrano²
Víctor Hugo Eras Guamán³
Julia Minchala Patiño⁴
Darlin González Zaruma⁵
Magaly Yaguana Arévalo⁶
Cristian Valarezo Ortega⁷

Fecha de recepción: 09 mayo 2016

Fecha de aceptación: 16 enero 2017

Resumen

Con la finalidad de mejorar la propagación in vivo de la especie forestal *Cinchona officinalis* L., se practicaron varias técnicas de propagación sexual y asexual. Para la propagación sexual por semillas se probaron tres tipos de sustratos más dos testigos: sustrato tierra, arena y turba en las proporciones 1:1:1; 2:1:1 y 1:1:2 más los testigos turba (100 %) y tierra (100 %). Para la propagación asexual se realizaron los siguientes ensayos: a) ensayo de enraizamiento de estacas, donde se probó el efecto de dos hormonas comerciales: Hormonagro 1 y Enraizador H.V; b) ensayo de enraizamiento de brotes, donde se probó el efecto de dos hormonas comerciales: Hormonagro 1 y Enraizador H.V; y c) ensayo de enraizamiento de acodos aéreos, donde se probó tres tipos de sustratos: tierra orgánica, musgo sphagnun y aserrín. El más alto porcentaje de germinación de semillas de *Cinchona officinalis* L., pertenece al tratamiento T4 (testigo turba) con un 83,33 %, un porcentaje relativamente bajo del 20 % presentó el T5 (testigo tierra); el T3 (1:1:2), el T1 (1:1:1) y el T2 (2:1:1) presentó un porcentaje del 71,67 %, 46,67 %; y 43,33 % respectivamente. Los ensayos de propagación asexual de *Cinchona officinalis* L. las hormonas enraizantes comerciales (Hormonagro 1 y Enraizador H.V) no tuvieron un efecto positivo en el enraizamiento de estacas, en lo que respecta al enraizamiento

¹Ingeniero Forestal, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Carrera de Ingeniería Forestal; Laboratorio de Micropropagación vegetal, Loja, Ecuador, mec1691@hotmail.es, <http://orcid.org/0000-0003-0699-2031>

²Master en Biotecnología, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, UPM, Madrid, España, josemoreno796@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6241-6077>

³Magister en género, equidad y desarrollo sostenible, mención género y ambiental, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Carrera de Ingeniería Forestal; Laboratorio de Micropropagación vegetal; Loja, Ecuador, victorhugoeras@hotmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5256-5543>

⁴Ingeniera Agrónoma, Diplomado en propagación masiva de plantas *in vitro* de interés económico, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables; Laboratorio de Micropropagación vegetal Loja, Ecuador, jeminchala@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9793-3664>

⁵Magister en Ciencias Forestales, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Carrera de Ingeniería Forestal; Laboratorio de Micropropagación vegetal, Loja, Ecuador, djzaruma@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1468-6352>

⁶Ingeniera Agrónoma, Diplomado en comunicación pública de ciencia y tecnología, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables; Laboratorio de Micropropagación vegetal Loja, Ecuador, magalyyaar@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9480-7128>

⁷Ingeniero Agrónomo, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables; Laboratorio de Micropropagación vegetal Loja, Ecuador, crismrhc@hotmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1828-2758>

de brotes respondieron favorablemente a la propagación vegetativa, se obtuvo un mejor porcentaje de enraizamiento de brotes sin la aplicación de ninguna hormona enraizante comercial (Hormonagro 1 y Enraizador H.V) con un valor del 96,67 %, y el sustrato compuesto por tierra orgánica fue el que presentó mejores resultados en el enraizamiento de acodos aéreos de Cinchona officinalis L., con un porcentaje de enraizamiento del 50 % a diferencia de los otros sustratos. Datos prometedores para la utilización futura de los mismos en ensayos de propagación sexual y asexual de especies forestales perteneciente a la familia Rubiaceae.

Palabras clave: Propagación forestal, semillas, estacas, brotes, acodos aéreos.

Abstract

With the purpose to improve the propagation alive in of the forestal sort Cinchona officinalis L, they practiced several techniques of sexual and asexual propagation. Two controls tasted three further types of substratums themselves for the sexual propagation for seeds: Substratum land, sand and disturb in proportions 1:1:1; 2:1:1 and 1:1:2 plus the witnesses disturbs (100 %) and land (100 %). They sold off the following essays for the asexual propagation: a) I rehearse of enraizamiento of stakes, where the effect of two commercial hormones was tried: Hormonagro 1 and Enraizador H.V; b) I rehearse of enraizamiento of sprouts, where the effect of two commercial hormones was tried: Hormonagro 1 and Enraizador H.V; and c) I rehearse of enraizamiento of aerial layers, where three types of substratums were tried: Organic land, moss sphagnun and sawdust. The highest percentage of germination of seeds in Cinchona officinalis L., corresponds to the treatment T4 (the witness disturbs) with a 83,33 %, the T5 presented a 20 % is relatively low percentage (witness land); the T3 (1:1:2), the T1 (1:1:1) and the T2 (2:1:1) presented a percentage of 71,67 %; 4,67 %; and 43,33 % respectively. Cinchona officinalis L., is essays of asexual propagation: Hormones the commercial enraizantes (Hormonagro 1 and Enraizador H.V) did not have a positive effect in the enraizamiento of stakes, so that it relates to the enraizamiento of sprouts if you answered to the vegetative propagation, the best enraizamiento's percentage of sprouts got without application commercial enraizante (Hormonagro 1 and Enraizador H.V) with the 96.67 % is value got a better percentage from enraizamiento of sprouts without the application of no hormone itself, and the substratum fixed by organic land went the that you presented better results in the enraizamiento of aerial layers of Cinchona officinalis L, with enraizamiento's percentage of the 50 % to difference of the other substratums. Promising data for their future essays of sexual and asexual propagation of forest species belonging to the Rubiaceae family.

Keywords: Forestal propagation, seeds, stakes, sprouts, aerial layers.

1. Introducción.

La provincia de Loja es poseedora de una gran diversidad de especies, como es el caso del género *Cinchona*, mismo que ha sido objeto de una explotación sin previsiones para el futuro. La excesiva demanda de la cascarilla a partir del siglo XVII, provocó la explotación irracional de las especies que comprenden este género, principalmente en esta Provincia. Acciones que sumadas al incremento demográfico y la ampliación de la frontera agrícola, han resultado en la reducción de las poblaciones de cascarilla y una baja regeneración natural (Anda, 2002).

Según Nieto (2000), en los bosques de Cajanuma y Uritusinga, se explotó la cascarilla hasta el siglo XIX, debido a sus propiedades medicinales, por el contenido de alcaloides en su corteza. Las poblaciones naturales de esta especie se están reduciendo significativamente, llegando al punto de no poderlas apreciar fácilmente. En los últimos años las actividades como la tala de bosques, la agricultura y la ganadería han tenido un impacto significativo en la destrucción de su hábitat (Madsen, 2012).

Cinchona Officinalis L., es una especie forestal que viene desapareciendo en nuestro territorio nacional por muchas razones: deforestación, tala ilegal, agricultura migratoria, quemas periódicas, desconocimiento, entre otras. A pesar de ser considerada mundialmente como salvadora de la humanidad ante las fiebres recurrentes de malaria o paludismo, enfermedad que

reinó imperturbablemente durante casi dos siglos, hoy la *Cinchona Officinalis* L., se halla casi extinta (Acosta, 1980).

En condiciones naturales el género *Cinchona*, presenta baja tasa de germinación y regeneración, encontrándose únicamente en lugares apartados y en pequeños grupos (Buddenhagen *et al.*, 2004). Este es el motivo para que *Cinchona officinalis*, esté en peligro de desaparición y son consideradas como especies prioritarias de conservación y estudio.

Frente a esta problemática, amerita la necesidad de aunar esfuerzos y voluntades entre todos los sectores, instituciones públicas y privadas, gobiernos locales y regionales, para coordinar la recuperación, conservación y protección de nuestros recursos naturales, a fin de garantizar una adecuada calidad de vida a las presentes y futuras generaciones. En tal virtud, dentro de este marco y con el ánimo de aportar a la recuperación de este ecosistema, se busca generar información sobre la propagación *in vivo* de *Cinchona Officinalis* L., como base para ejecutar a futuro programas de reforestación con fines de conservación de dicha especie.

2. Material y Métodos

2.1 Ubicación del Área de Estudio.

La presente investigación se desarrolló en dos áreas de la Región Sur del Ecuador, estas son: a) en el Vivero del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja (UNL) ubicado geográficamente entre las coordenadas: 04°02'32" latitud sur y 79°12'40" longitud oeste, lugar donde se estableció los respectivos ensayos: germinación de semillas, enraizamiento de estacas y enraizamiento de brotes de *Cinchona officinalis* L.; y, b) en el Jardín Botánico "Reinaldo Espinosa", ubicado geográficamente entre las coordenadas: 04°02'01" latitud sur y 79°12'24" longitud oeste, lugar donde se estableció el ensayo de los acodos aéreos.

2.2. Estudio de la multiplicación sexual de la especie *Cinchona officinalis* L.

Germinación de semillas: las semillas seleccionadas fueron desinfectadas en una solución de Vitavax, permaneciendo en remojo por un lapso de 24 horas, se probó tres tipos de sustratos más dos testigos: sustrato tierra, arena y turba en las proporciones 1:1:1; 2:1:1 y 1:1:2 más los testigos turba (100 %) y tierra (100 %), se evaluaron las siguientes variables: número de semillas germinadas y porcentaje de germinación, esta evaluación se realizó a partir del quinto día de la siembra y por el período de 60 días.

2.3. Estudio de la multiplicación asexual de la especie *Cinchona officinalis* L

Enraizamiento de estacas: se colectaron estacas de árboles con características fenotípicamente deseables, estacas simples entre 25 a 30 cm., de longitud y un diámetro de 1 a 2 cm., con una a dos yemas, el corte de las estacas se lo realizó en forma de bisel en la parte basal. Las estacas fueron desinfectadas con una solución fungicida-bactericida (2 gr de Benomyl/l + 1 ml de Kasumin/l) y luego fueron sembradas en el subirrigador. Se probó el efecto de dos hormonas enraizantes comerciales (Hormonagro 1 y Enraizador H.V), para determinar la eficacia de estas hormonas se evaluaron las siguientes variables: porcentaje de enraizamiento, número de raíces, longitud de raíces y porcentaje de brotación, las mismas que fueron evaluadas a los 90 días de haberse instalado el ensayo.

Enraizamiento de brotes: los brotes fueron seleccionados de plántulas establecidas en el invernadero de la Universidad Nacional de Loja, las cuales presentaban excelentes características fenotípicas y buenas condiciones fitosanitarias. Los brotes fueron desinfectadas con una solución fungicida-bactericida (2 gr de Benocor wp/l + 1 ml de Kasumin/l), y luego fueron sembrados en bandejas germinadoras de polietileno. Se probó el efecto de dos hormonas enraizantes comerciales (Hormonagro 1 y Enraizador H.V), para determinar la eficacia de estas hormonas se evaluaron las siguientes variables: número de raíces, longitud de raíces y porcentaje de enraizamiento, las mismas que fueron evaluadas a los 90 días de haberse instalado el ensayo.

Enraizamiento de acodos aéreos: los criterios de selección tomados a consideración como: tipo de ramas: apicales o terminales; ubicación de las ramas: en ramas ubicadas en la parte media de la copa del árbol (ramas semileñosas con buen estado fitosanitario). Se probó el efecto

de tres tipos de sustratos: tierra orgánica, musgo *sphagnun* y aserrín, se evaluaron las siguientes variables: número de raíces, longitud de raíces y porcentaje de enraizamiento. La evaluación de las variables ya mencionadas se realizó a los 90 días de haberse realizado el ensayo.

3. Resultados

3.1. Estudio de la multiplicación sexual de la especie *Cinchona officinalis* L

Germinación de semillas: la especie presentó un porcentaje alentador de germinación durante el período de evaluación, los resultados obtenidos muestran que la germinación de semillas de *Cinchona officinalis* L., el más alto porcentaje de germinación corresponde al tratamiento T4 (testigo turba) con un 83,33 %, cuya germinación inició a los 20 días y se estabilizó a los 55 días, un porcentaje relativamente bajo del 20 % presentó el T5 (testigo tierra) cuya germinación se inició a los 25 días y se estabilizó a los 55 días, el T3 (1:1:2), el T1 (1:1:1) y el T2 (2:1:1) presentó un porcentaje del 71,67 %, 46,67 %; y 43,33 % respectivamente, con periodos de germinación que inició a los 25 días y se estabilizó a los 50 días. A continuación se detalla las variables de respuesta. (Figura 1).

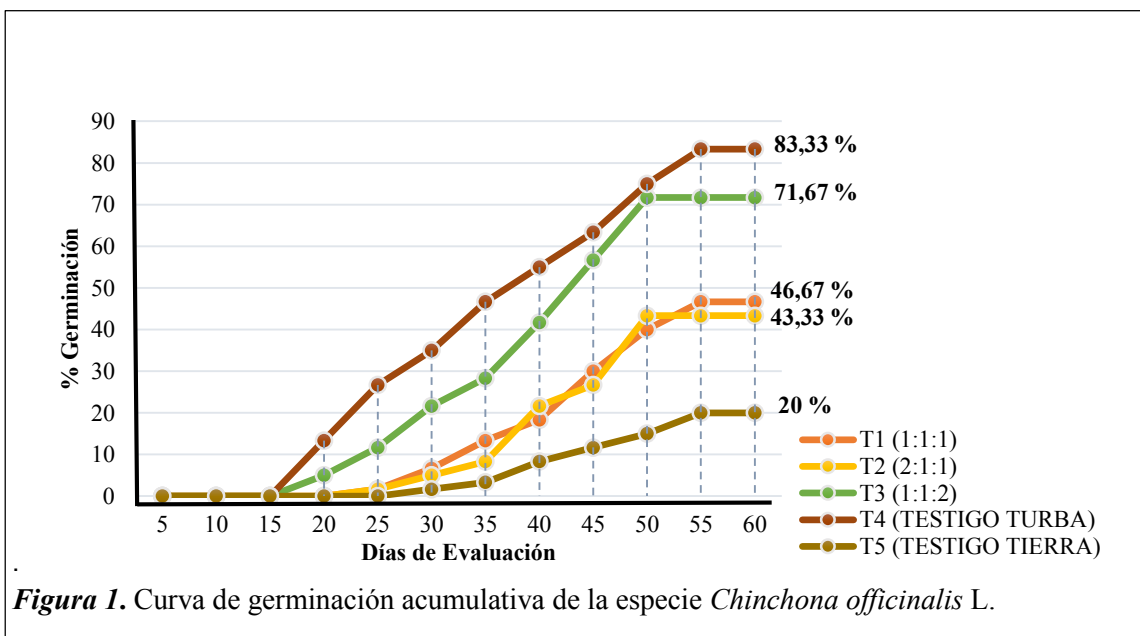


Figura 1. Curva de germinación acumulativa de la especie *Cinchona officinalis* L.

a) Número de semillas germinadas: según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que los datos presentaron poca variabilidad con un coeficiente de variación (CV) que obtuvo un valor de 18,55. De la misma manera la prueba LSD Fisher nos muestra que si hubo diferencias significativas ($p = 0,0001$) entre tratamientos (Cuadro 1). Resultando como el mejor tratamiento el T4 (testigo turba) con un valor promedio del número semillas germinadas ($16,67 \pm 1,14$), frente al T5 (testigo tierra) que presenta el valor promedio más bajo del número de semillas germinadas ($4,00 \pm 1,14$); sin embargo, a diferencia del T3 (1:1:2), el T1 (1:1:1) y el T2 (2:1:1) presentan valores medios del número de semillas germinadas entre ($14,33$; $9,33$ y $8,67 \pm 1,14$) respectivamente (Figura 2).

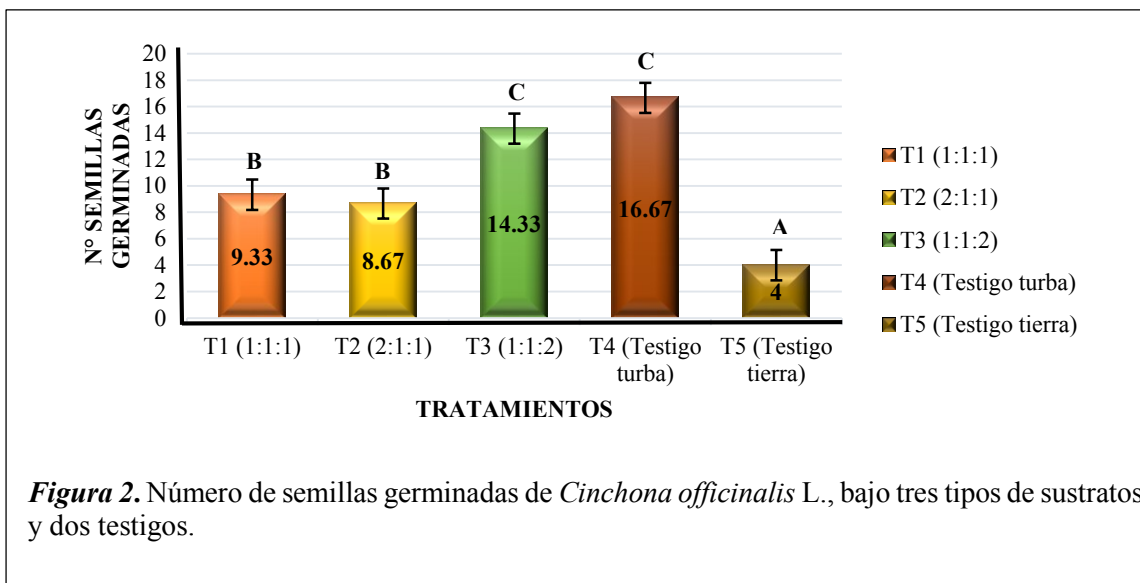
Tabla 1.

Test LSD Fisher a un nivel de significancia de 0,05 para el promedio del número de semillas germinadas de *Cinchona officinalis* L.

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T5 (Testigo tierra)	4,00	3	1,14	A
T2 (2:1:1)	8,67	3	1,14	B
T1 (1:1:1)	9,33	3	1,14	B

T3 (1:1:2)	14,33	3	1,14	C
T4 (Testigo turba)	16,67	3	1,14	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)



b) Porcentaje de germinación: según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que los datos presentaron poca variabilidad con un coeficiente de variación (CV) que obtuvo un valor de 18,55. De la misma manera la prueba LSD Fisher nos muestra que si hubo diferencias significativas ($p = 0,0001$) entre tratamientos (Cuadro 2). Resultando así como el mejor tratamiento el T4 (testigo turba) con un valor promedio del porcentaje de germinación ($83,33 \pm 5,68$), frente al T5 (testigo tierra) que presenta el valor promedio más bajo del porcentaje de germinación ($20,00 \pm 5,68$) sin embargo, a diferencia del T3 (1:1:2), el T1 (1:1:1) y el T2 (2:1:1) presentan valores medios del porcentaje de germinación entre ($71,67$; $46,67$ y $43,33 \pm 5,68$) respectivamente (Figura 3).

Tabla 2
Test LSD Fisher a un nivel de significancia de 0,05 para el porcentaje de germinación de la especie en estudio.

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T5 (Testigo tierra)	20,00	3	5,68	A
T2 (2:1:1)	43,33	3	5,68	B
T1 (1:1:1)	46,67	3	5,68	B
T3 (1:1:2)	71,67	3	5,68	C
T4 (Testigo turba)	83,33	3	5,68	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

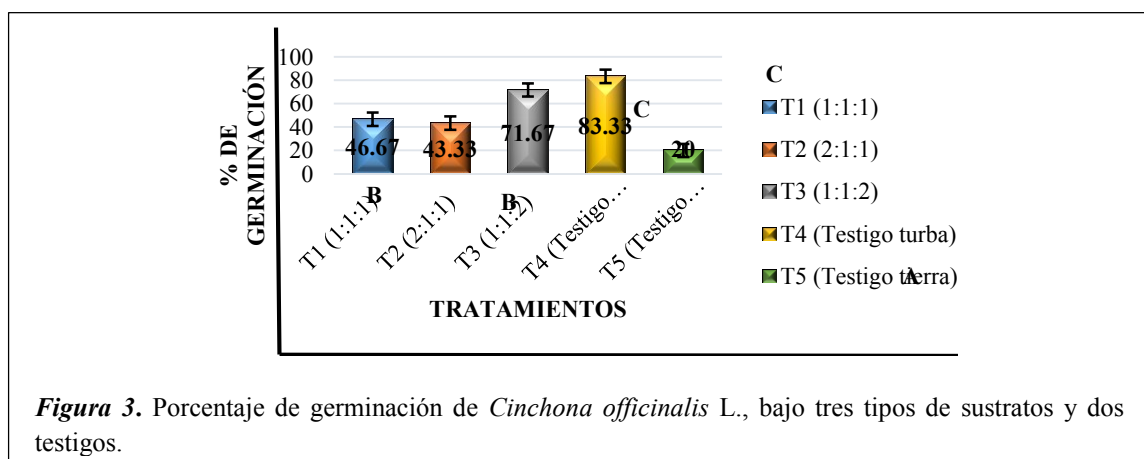


Figura 3. Porcentaje de germinación de *Cinchona officinalis* L., bajo tres tipos de sustratos y dos testigos.

3.2. Estudio de la multiplicación asexual de la especie *Cinchona officinalis* L

Enraizamiento de estacas: las hormonas probadas Hormonagro 1 y Enraizador H.V, no lograron inducir el enraizamiento de las estacas a pesar de los cuidados proporcionados a las mismas. Con respecto a las variables: porcentaje de enraizamiento, número de raíces por estaca, longitud de raíces por estaca y porcentaje de brotación, se puede mencionar que no hubieron resultados satisfactorios. A pesar de los cuidados requeridos por las estacas no se pudo estimular o inducir el enraizamiento de las mismas; por ende los resultados obtenidos fueron negativos, ya que se pudo evidenciar que después de 15 a 20 días de haber sembrado, esta especie comenzó a marchitarse; sin embargo, las lenticelas de las estacas enterradas en el sustrato no tendieron a aumentar su tamaño, observándose putrefacción en la base de la estaca. Es importante recalcar, que los datos obtenidos durante el monitoreo de enraizamiento de estacas en nuestra investigación no fueron satisfactorios; por tal motivo, se procedió a considerar un ensayo sobre el enraizamiento de brotes.

Enraizamiento de brotes: las hormonas probadas Hormonagro 1 y Enraizador H.V, lograron inducir la proliferación de raíces. A continuación se detalla las variables de respuesta.

a) Número de raíces: según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que los datos presentaron poca variabilidad con un coeficiente de variación (CV) que obtuvo un valor de 27,32. De la misma manera la prueba LSD Fisher nos muestra diferencias significativas ($p = 0,3984$) entre tratamientos (Cuadro 3). Resultando así como el mejor tratamiento el T3 (Hormonagro en líquido) con un valor promedio del número de raíces ($7,33 \pm 0,98$), frente al T1 (Sin hormonagro) que presenta el valor promedio más bajo del número de raíces ($5,33 \pm 0,98$); pero, a diferencia del T2 (Hormonagro en polvo) que presenta un valor medio del número de raíces ($6,00 \pm 0,98$) respectivamente (Figura 4).

Tabla 3.

*Test LSD Fisher a un nivel de significancia de 0,05 para el promedio del número de raíces de la especie *Cinchona officinalis* L.*

Tratamientos	Medias	N	E.E	
T1 (Sin Hormonagro)	5,33	3	0,98	A
T2 (Hormonagro en polvo)	6,00	3	0,98	A
T3 (Hormonagro en líquido)	7,33	3	0,98	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

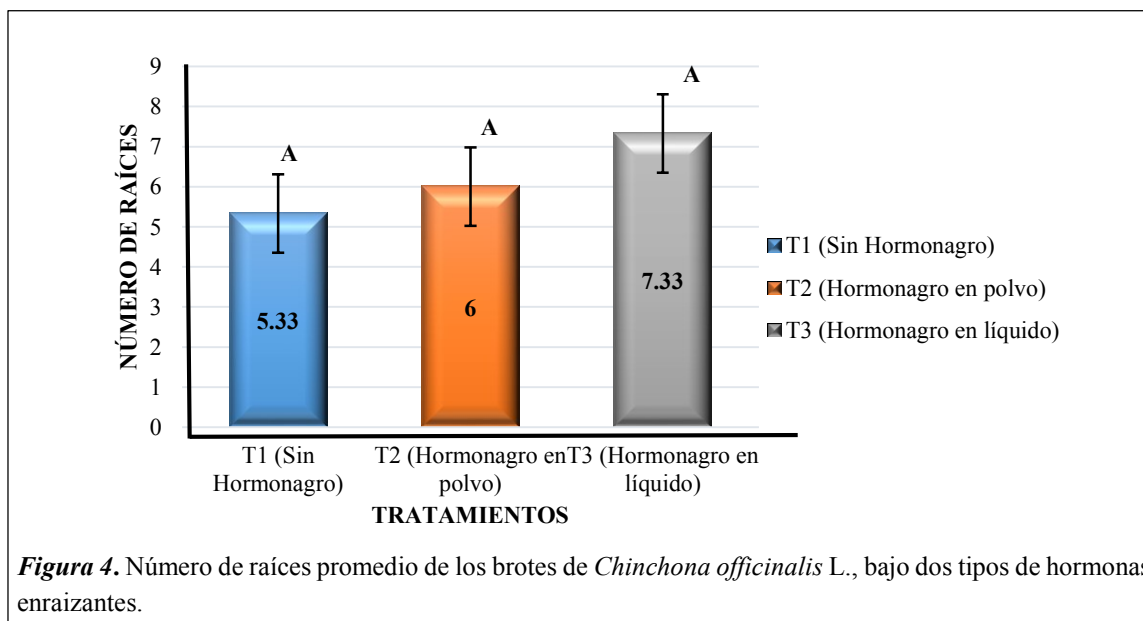


Figura 4. Número de raíces promedio de los brotes de *Cinchona officinalis* L., bajo dos tipos de hormonas enraizantes.

b) Longitud de raíces: según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que los datos presentaron poca variabilidad con un coeficiente de variación (CV) que obtuvo un valor de 10,24. De la misma manera la prueba LSD Fisher nos muestra diferencias significativas ($p = 0,0031$) entre tratamientos (Cuadro 4). Resultando así como el mejor tratamiento el T3 (Hormonagro en líquido) con un valor promedio de longitud de raíces ($3,23 \text{ cm} \pm 0,15$), frente al T1 (Sin hormonagro) que presenta el valor promedio más bajo de longitud de raíces ($2,07 \text{ cm} \pm 0,15$); pero, a diferencia del T2 (Hormonagro en polvo) que presenta un valor medio de longitud de raíces ($2,27 \text{ cm} \pm 0,15$) respectivamente (Figura 5).

Tabla 4

Test LSD Fisher a un nivel de significancia de 0,05 para el promedio de la longitud de raíces de la especie en estudio.

Tratamientos	Medias	N	E.E	
T1 (Sin Hormonagro)	2,07	3	0,15	A
T2 (Hormonagro en polvo)	2,27	3	0,15	A
T3 (Hormonagro en líquido)	3,23	3	0,15	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

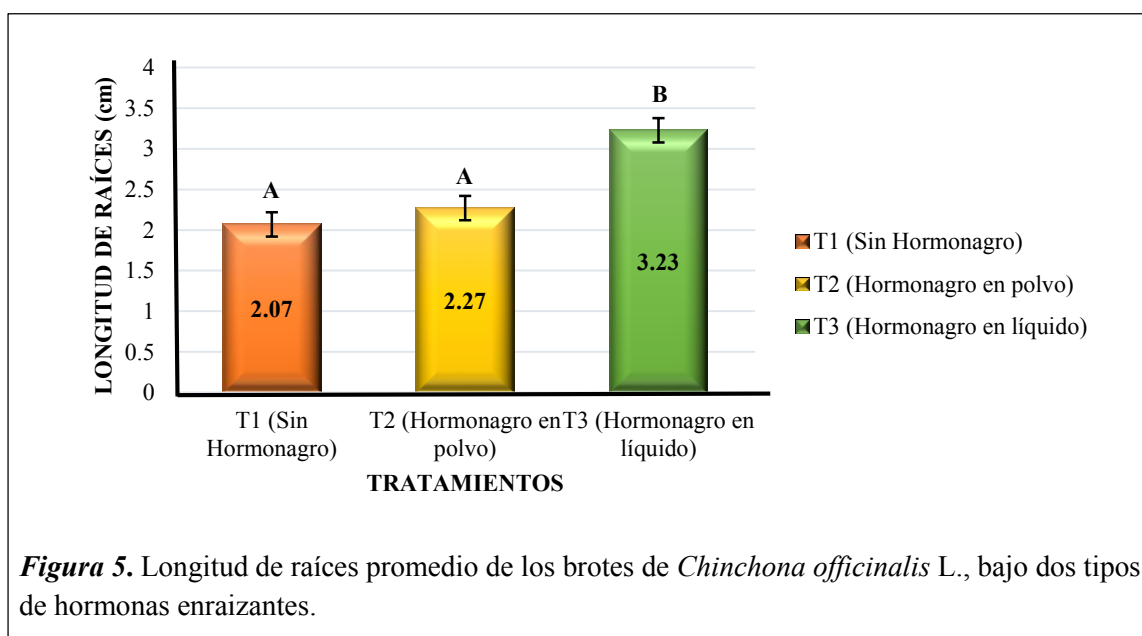


Figura 5. Longitud de raíces promedio de los brotes de *Chinchona officinalis* L., bajo dos tipos de hormonas enraizantes.

c) Porcentaje de enraizamiento: según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que los datos presentaron poca variabilidad con un coeficiente de variación (CV) que obtuvo un valor de 6,26. De la misma manera la prueba LSD Fisher nos muestra que no hubo diferencias significativas ($p = 0,2804$) entre tratamientos (Cuadro 5). Resultando así como el mejor tratamiento el T1 (Sin Hormonagro) con un valor promedio del porcentaje de enraizamiento ($96,67 \pm 3,33$), frente al T2 (Hormonagro en polvo) que presenta un valor promedio más bajo del porcentaje de enraizamiento ($88,33 \pm 3,33$); pero, a diferencia del T3 (Hormonagro en líquido) que presenta un valor medio del porcentaje de enraizamiento ($91,67 \pm 3,33$) respectivamente (Figura 6).

Tabla 5.

Test LSD Fisher a un nivel de significancia de 0,05 para el porcentaje de enraizamiento de la especie de Chinchona officinalis L.

Tratamientos	Medias	N	E.E	
T2 (Hormonagro en polvo)	88,33	3	3,33	A
T3 (Hormonagro en líquido)	91,67	3	3,33	A
T1 (Sin Hormonagro)	96,67	3	3,33	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

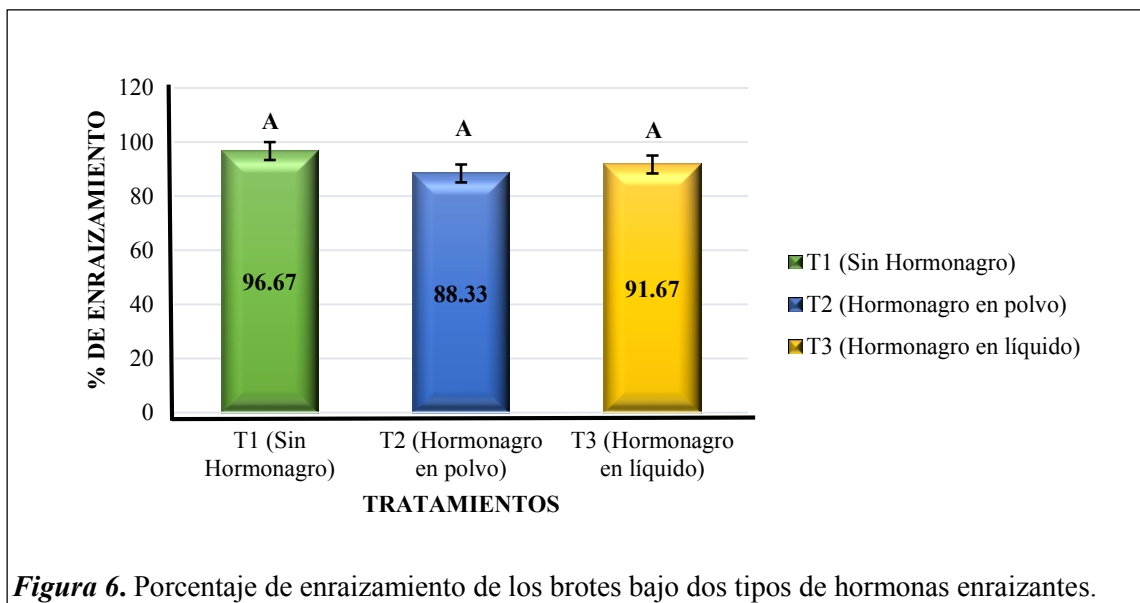


Figura 6. Porcentaje de enraizamiento de los brotes bajo dos tipos de hormonas enraizantes.

Enraizamiento de acodos aéreos: El sustrato compuesto por tierra orgánica resultó ser el mejor en el enraizamiento de acodos aéreos de *Chinchona officinalis* L., el cual alcanzó 15 raíces por acodo; 3,75 cm de longitud de raíces por acodo y 50 % de enraizamiento (Cuadro 6).

Tabla 6.

Enraizamiento promedio de acodos aéreos de Chinchona officinalis L., en campo.

Tratamientos	N° raíces	Long. raíces	Enraizamiento %
T2 (tierra orgánica)	15	3,75	50
T3 (musgo <i>sphagnun</i>)	0	0	0
T1 (aserrín)	0	0	0

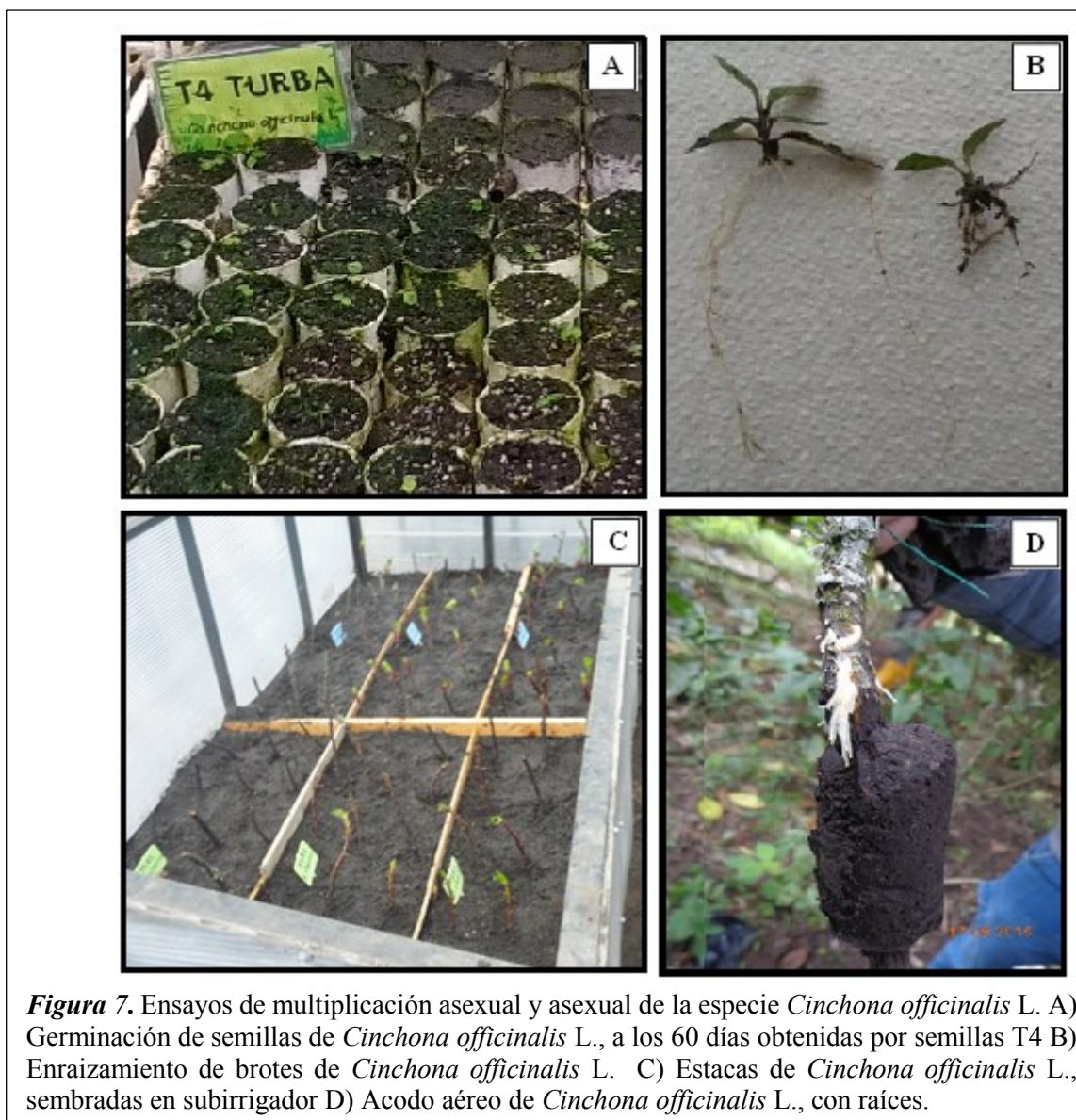


Figura 7. Ensayos de multiplicación asexual y asexual de la especie *Cinchona officinalis* L. A) Germinación de semillas de *Cinchona officinalis* L., a los 60 días obtenidas por semillas T4 B) Enraizamiento de brotes de *Cinchona officinalis* L. C) Estacas de *Cinchona officinalis* L., sembradas en subirrigador D) Acodo aéreo de *Cinchona officinalis* L., con raíces.

4. Discusión.

4.1. Multiplicación sexual de la especie *Cinchona officinalis* L

Germinación de semillas: con el fin de lograr un número considerable de emergencia de plántulas de *Cinchona officinalis* L., las semillas fueron colectadas en el mes de mayo, periodo en que los frutos están en un buen estado de madurez fisiológica, esta aseveración lo señala Aponte y Sanmartín (2011), que los árboles de *Cinchona officinalis* L., se encuentran con mayor cantidad de frutos y en buen estado de madurez fisiológica durante la temporada de lluvias, esto es entre los meses de diciembre y mayo.

Así mismo, fue necesario realizar la desinfección y selección de semillas con el embrión maduro para desechar las semillas vanas, de acuerdo a lo que menciona Arellano citado por Aponte y Sanmartín (2011), manifiesta que la capacidad germinativa presenta considerables variaciones que con frecuencia obedece a defectos en la semilla, falta de desarrollo del embrión, enfermedades, secado excesivo y edad. Todos estos inconvenientes pueden ser más o menos evitados, mediante el cuidado que se tengan en la recolección de los frutos y en la manipulación posterior de la semilla. Sin embargo, Gonzaga y Moncayo (2012), indica que para la cosecha de semillas de la especie *Chinchona Officinalis* L., es mejor recolectar cuando las capsulas están cerradas y presentan un color rojo – intenso.

En general, los porcentajes de germinación obtenidos fueron satisfactorios, por ende, los porcentajes de germinación más altos se obtuvo con el T4 (testigo turba) con un porcentaje de germinación del 83,33 %; y el T3 (tierra, arena y turba), en una proporción 1:1:2 con un porcentaje del 71,67 %; cuyo proceso de germinación inició a los 20 días y se estabilizó a los 50 días. Resultados similares a los obtenidos por Apolo (2012), que obtuvo un porcentaje más alto en menos tiempo, las semillas de *Cinchona pubescens* de Loja, alcanzaron el 95 %, mientras que las semillas procedentes de Galápagos alcanzaron el 87 % de germinación a los 50 días de la siembra. Así mismo, Jäger (2011), indica que las semillas de *Cinchona pubescens* germinan entre 10 a 40 días, con una tasa de germinación que varía entre el 50 % y el 85 %.

Los otros tres tratamientos correspondientes a la siembra de semillas de *Cinchona officinalis* L., presentaron un porcentaje de germinación relativamente moderado, el T1, el T2 (tierra, arena y turba), en una proporción 1:1:1; 2:1:1, y el T5 (testigo tierra), presentaron un porcentaje de germinación del 46,67 %; 43,33 % y 20 % respectivamente, cuyo período de germinación se dio a los 25 días y se estabilizó a los 55 días. Haciendo un análisis comparativo con el estudio realizado por Armijos y Pérez (2011), se pudo contrastar que los resultados obtenidos en la germinación realizados sobre papel absorbente son diferentes, ya que la especie de *Cinchona officinalis*, *Cinchona pubescens* y *Cinchona* sp., sin tratamientos pre-germinativos tuvieron un porcentaje promedio de germinación del 60 %, pero el tiempo supera los 90 días.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que se alcanzó un alto porcentaje de germinación, la razón probable por la cual se obtuvo, fue porque se realizó la siembra de las semillas de inmediato, luego de haber recolectado los frutos maduros, según Moreno (1996) manifiesta que el porcentaje de germinación de las semillas de *Cinchona* disminuye considerablemente según el tiempo de almacenamiento, luego de ocho meses empiezan a perder significativamente la viabilidad.

4.2. Multiplicación asexual de la especie *Cinchona officinalis* L

Enraizamiento de estacas: a pesar de los cuidados y manejo adecuado que se les proporcionó a las estacas, no se pudo estimular o inducir el enraizamiento de las mismas, en el cual se evidenció que después de 15 días de haber sembrado, esta especie comenzó a marchitarse; sin embargo, las lenticelas de las estacas enterradas en el sustrato (tierra, arena y turba) en una proporción 3:1:1, no tendieron a aumentar su tamaño, observándose putrefacción en la base de la estaca.

Resultados similares a los obtenidos por Aldaz y Ochoa (2011), mediante la propagación asexual por estacas de *Cinchona officinalis* L., utilizando sustratos en base de tierra agrícola, arena fina de mina y humus, con proporciones 1:1:1 y 3:1:1, obtuvo resultados no satisfactorios en el enraizamiento de estacas. Así mismo, en el estudio realizado por Armijos y Sinche (2013), expresan que los resultados obtenidos de la propagación asexual a través de estacas en *Cinchona pubescens* Vahl., utilizando sustratos en base de corteza de arroz y café, con proporciones 1:1 y 1:2; además, con incorporación del enraizante hormonagro (ANA) # 1; fueron negativos, debido a que no se evidenció la proliferación de raíces, lo que se pudo observar en el sustrato testigo indicios de brotes de raíces y de hojas durante las primeras tres semanas, de igual manera las estacas llegaron a un estado de descomposición.

Se presume que el enraizamiento de las estacas se debe a que no se tomó en cuenta otros factores importantes tales como: la edad y estado fenológico de los árboles, época de recolección de las estacas, fases lunares, condiciones climáticas adecuadas, etc. Así mismo, el tamaño y grosor de las estacas (diámetros grandes y viejos) o al tipo de sustrato que no fue el adecuado (falta de porosidad y buen drenaje) y probar a futuro otras hormonas enraizantes ya que en este ensayo, no lograron inducir el enraizamiento de las mismas.

Pero, el factor más preponderante para el éxito en el enraizamiento de estacas es sin duda la época de recolección de las mismas, ya que Nieto citado por Morillo (2015), menciona que la recolección de las estacas se debe realizar al final del período de reposo y al inicio del período de crecimiento de la planta, es decir cuando las yemas inician su actividad y que al ser tratadas con soluciones hormonales y al instalarse en un medio adecuado las yemas ejercen un fuerte estímulo en el brotamiento y enraizamiento. En cambio, Fajardo y Velandia (2004) indican que un factor importante que influye fisiológicamente en la reproducción vegetativa es la fase lunar y la época

del año en que se realiza el corte, el cual depende de la programación de las actividades de campo. Éste hecho se relaciona de manera directa con la dormición o latencia de las yemas afectadas por períodos de condiciones desfavorables para el crecimiento como: altas o bajas temperaturas, períodos de sequía o fotoperíodos no apropiados, señalando que deberían las estacas ser recolectadas al comenzar la época de lluvias.

Enraizamiento de brotes: *Cinchona officinalis* L., es una especie leñosa dificultosa de propagar con partes vegetativas. Una de las alternativas para disponer de plántulas en este tipo de especie, es la colecta de brotes establecidos en un vivero. Este procedimiento tiene ciertas ventajas en la actividad forestal tales como: reducción de costos en la producción de plantas, la disponibilidad de plántulas en corto tiempo, etc. Bajo este contexto se pudo inducir el enraizamiento de los brotes, utilizando el sustrato compuesto por tierra, arena y turba, en una proporción 3:1:1; además, las hormonas enraizantes en este ensayo, lograron estimular el enraizamiento de los brotes y de igual manera sin la utilización de alguna hormona enraizante.

Según los datos obtenidos en el enraizamiento de brotes de *Cinchona officinalis* L., el T3 (Hormonagro en líquido) presentó el número de raíces y longitud de raíces más altos con un valor promedio de 7,33 y 3,23 cm., respectivamente. Así mismo, se obtuvo un alto porcentaje en el enraizamiento de brotes en los tres tratamientos: el T1 (Sin Hormonagro), el T3 (Hormonagro en líquido) y el T2 (Hormonagro en polvo) con un porcentaje de enraizamiento del 96,67 %; 91,67 % y 88,33 % respectivamente. Estos resultados demuestran que el prendimiento de brotes de *Cinchona officinalis* L., es bastante halagador, esta similitud en los porcentajes de enraizamiento entre tratamientos nos señala que no depende de los tipos de enraizadores, sino más bien depende del manejo y mantenimiento que se les dé a los brotes en el invernadero.

Finalmente, cabe resaltar que los resultados obtenidos en el enraizamiento de brotes de *Cinchona officinalis* L., no se pudo comparar y contrastar con otros estudios similares debido a la escasa o ausente información.

Enraizamiento de acodos aéreos: de los tres tratamientos probados en este ensayo, el T1 (sustrato compuesto por tierra orgánica) mostró resultados favorables del 50 % correspondiente a tres acodos, los cuales obtuvieron gran cantidad y largo de raíces, mismos que fueron trasplantados en recipientes de plásticos y llevados al Vivero del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja.

Resultados similares a los obtenidos por Solano (2000), mediante acodos aéreos en la especie de *Cinchona officinalis* L., menciona que casi todos los acodos formaron callos, logrando propagar una planta correspondiente al 3,33 % y la adaptación o sobrevivencia del acodo aéreo trasplantado al sustrato (tierra, arena y humus) en una proporción 1:1:1 fue un éxito. En cambio, Aldaz y Ochoa (2011), en su ensayo menciona que los acodos aéreos en *Cinchona officinalis* L., utilizando sustratos (tierra agrícola, arena fina y humus), con proporciones 1:1:1 y 3:1:1 los resultados fueron notablemente buenos ya que el 100 % de acodos formaron callo, el 47 % correspondientes a 14 acodos, obtuvieron gran cantidad y largo de raíces, mismos que fueron trasplantados a las fundas de polietileno llenas del sustrato antes mencionados, adaptándose perfectamente. El 53% restante de acodos, posiblemente no desarrolló raíces debido a que se los abrió en horas con altas temperaturas, provocando la quemadura de las raíces, dando el callo una apariencia de color negro, imposibilitándose para ser llevados al vivero.

Por otro lado, el papel que cumple la tierra negra como sustrato para el enraizamiento de acodos aéreos resultó ser efectivo en *Cinchona officinalis* L., así como en el estudio de Morillo (2015), que también resultó ser positivo en el enraizamiento de acodos aéreos de *Bursera graveolens*, alcanzando un porcentaje de enraizamiento del 25 %, y de igual manera en un estudio realizado por López y Valladolid (2014) resultó ser efectivo en el enraizamiento de acodos aéreos de *Weinmannia macrophylla* alcanzando un porcentaje de enraizamiento del 75 %.

5. Conclusiones.

- El sustrato compuesto por turba fue el que presentó el más alto porcentaje de germinación en semillas de *Cinchona officinalis* L., a nivel de invernadero (88,33 %), cuya germinación inició a los 20 días y se estabilizó a los 55 días y el sustrato compuesto por tierra fue el que presentó el más

bajo porcentaje de germinación (20 %) a nivel de invernadero, cuya germinación inició a los 25 días y se estabilizó a los 55 días.

- La especie de *Cinchona officinalis* L., no respondió a la multiplicación vegetativa por estacas con los tratamientos aplicados, debido a que se trata de una especie con características muy leñosas, que impiden la proliferación de raíces y el desarrollo de brotes nuevos. Así mismo, las dos hormonas enraizantes comerciales (Hormonagro 1 y Enraizador H.V) no incidieron en el prendimiento de estacas.

- El enraizamiento de brotes de *Cinchona officinalis* L., respondió favorablemente a la multiplicación vegetativa con los tratamientos aplicados, permitiendo la proliferación de raíces. Además, el mejor porcentaje de enraizamiento de brotes se obtuvo sin la aplicación de ninguna hormona enraizante comercial (Hormonagro 1 y Enraizador H.V) con un valor del 96,67 %.

- El sustrato compuesto por tierra orgánica fue el que presentó mejores resultados en el enraizamiento de acodos aéreos de *Cinchona officinalis* L., debido a que alcanzó un porcentaje de enraizamiento del 50 % a diferencia de los otros sustratos.

Agradecimientos

A las Autoridades de la Universidad Nacional de Loja, y al Equipo Técnico del Proyecto de Investigación “Identificación y descripción del estado actual de *Cinchona officinalis* L., en la provincia de Loja y generación de protocolos para la propagación *in vivo* e *in vitro*”, por el apoyo financiero y técnico brindado para la ejecución de la presente investigación.

6. Referencias

- Acosta M. (1980). Mi actividad de investigador y divulgador científico. *Publicación miscelánea Vol. 308*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Ciencias Naturales, Ecuador.
- Aldaz, L. y Ochoa, I. (2011). *Propagación Asexual de diez Especies Forestales y Arbustivas en el Jardín Botánico “Reinaldo Espinosa”*. (Tesis de Ingeniería Forestal). Universidad de Loja, Ecuador.
- Anda, A. (2002). *La Cascarilla*. Loja – Ecuador: Ed. Universidad Técnica Particular de Loja.
- Apolo, M. (2012). *Germinación en laboratorio e influencia de los hongos micorrízicos y la aplicación de nutrientes en el crecimiento de dos procedencias de Cinchona pubescens, a nivel de invernadero*. (Tesis de Grado). Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador.
- Armijos, R. y Pérez, C. (2011). *Germinación y multiplicación in vitro en Cinchona pubescens Vahl y Cinchona officinalis Linneo*. Laboratorio de Fisiología Vegetal, Universidad Técnica Particular de Loja (Ecuador).
- Armijos, A. y Sinche, M. (2013). *Distribución y propagación asexual de cuatro especies forestales nativas en vivero utilizando dos tipos de sustratos, en la Hoya de Loja*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Loja. Loja Ecuador.
- Buddenhagen, C. E., Renteria, J., Gardener, M., Wilkinson, S. R., Soria, M., Yanez, P., Tye, A. y Valle, R. (2004). Control of a highly invasive tree *Cinchona pubescens* in Galapagos. *Weed Technology 18*: 1994 -1202.
- Fajardo, A. y Velandia, D. (2004). *Reproducción y adaptación en vivero de algunas especies representativas en las áreas rurales del distrito capital de la Región de Sumapaz. Sumapaz*. Universidad Distrital Francisco José de Caldas y Jardín Botánico José Celestino Mutis.

- Jäger, H. (2011). *Cinchona pubescens*. Enzyklopädie der Holzgewächse. Wiley VCH Verlag, Weinheim, Alemania (in press).
- Gonzaga, L. y Moncayo, M. (2012). *Fenología, producción de hojarasca y ensayos de germinación de las principales especies nativas del bosque protector "El Bosque" parroquia San Pedro de Vilcabamba, Loja*. (Tesis de Ingeniería Forestal). Universidad de Loja, Ecuador.
- López, H. y Valladolid, D. (2014). *Evaluación de tres tipos de sustratos en la propagación vegetativa por estacas y acodos aéreos de tres especies forestales nativas de la reserva natural el cristal, de la Parroquia San Sebastián, Cantón Loja, Provincia de Loja*. (Tesis de Ingeniero Forestal). Universidad de Loja, Ecuador.
- Madsen, J. (2012). Historia cultural de la cascarilla de Loja (pp. 385-399). En Z. Aguirre, J. Madsen, E. Cotton, H. Balslev. *Botánica Austroecuatorial*. Estudio sobre los recursos vegetales en las provincias de El Oro, Loja y Zamora Chinchipe. Quito, Ecuador. Ediciones Abya Yala.
- Moreno, P. (1996). *Vida y obra de granos y semillas*. Disponible en: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/vidayob.htm>.
- Morillo, L. (2015). *Estudio fenológico y propagación de Bursera graveolens (Kunth) Triana & Planch en la comunidad de Malvas, cantón Zapotillo, provincia de Loja*. (Tesis de Ingeniería Forestal). Loja, Ecuador. 125 pág.
- Nieto, M. (2000). *Remedios para el imperio: Historia Natural y la apropiación del nuevo mundo*. ICAH.
- Aponte, R. y Sanmartín, J. (2011). *Fenología y ensayos de germinación de diez especies forestales nativas, con potencial productivo maderable y no maderable del bosque protector el bosque de la parroquia San Pedro de Vilcabamba, Loja*. (Tesis de Ingeniería Forestal). Universidad de Loja, Ecuador.
- Solano, R. (2000). *Propagación por acodaduras aéreas de Ocho Especies Vulnerables en el Jardín Botánico "Reinaldo Espinosa"*. (Tesis de Grado de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Loja, Ecuador