



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES  
RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**TEMA:**

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 previa a la obtención  
del título de Ingeniera Forestal

**AUTORA:**

*María Eugenia Apala Chamba.*

**DIRECTOR:**

*Nikolay Aguirre Mendoza Ph. D.*

**ASESOR:**

*Ing. Víctor Hugo Eras Guaman Mg. Sc.*

**LOJA - ECUADOR**

**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**

Presentada al Tribunal calificador como requisito para obtener el

Título de:

**INGENIERA FORESTAL**

En la Universidad Nacional de Loja

Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Ingeniería Forestal

**APROBADA**

Ing. Manuel Quizhpe Córdova, Mg. Sc.

.....

**PRESIDENTE**

Ing. Honías Cartuche O., Mg. Sc.

.....

**VOCAL**

Ing. Marjorie Díaz López, Mg. Sc.

.....

**VOCAL**

Doctor

Nikolay Aguirre Mendoza Ph. D.

**DIRECTOR DE TESIS**

**CERTIFICA:**

Que la tesis titulada **“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”** de autoría de la señorita egresada María Eugenia Apolo Chamba, ha sido dirigida, revisada y aprobada en su integridad, por lo que AUTORIZO su defensa, publicación y difusión.

Loja, Noviembre de 2012

.....

Nikolay Aguirre Mendoza Ph. D.

**DIRECTOR DE TESIS**

Ingeniero

Manuel Quizhpe Córdova Mg. Sc.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

**CERTIFICA:**

Que la tesis titulada “**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**” de autoría de la señorita egresada María Eugenia Apolo Chamba, se han incorporado las sugerencias realizadas por el Tribunal Calificador. Además, se ha procedido a su respectiva calificación y aprobación definitiva.

Por lo que, se autoriza a la señorita egresada la publicación definitiva de la tesis antes mencionada.

Loja, Noviembre de 2012

.....

Manuel Quizhpe Córdova Mg. Sc.

**PRESIDENTE**

## **AUTORÍA**

Las ideas y los conceptos, los procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo de investigación, son de exclusiva responsabilidad de la autora.

*María Eugenia Apolo Chamba*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco profundamente a la Universidad Nacional de Loja, especialmente a la carrera de Ingeniería Forestal y en ella a sus distinguidos docentes por sus valiosas enseñanzas.

A la Doctora Heinke Jäger, por haber financiado mi proyecto de tesis, por brindarme asesoría durante la ejecución del mismo y compartirme sus conocimientos.

Al Doctor Nikolay Aguirre Mendoza y al Ingeniero Víctor Hugo Eras Guamán, director y asesor de la tesis respectivamente, quienes con su experiencia y conocimiento han guiado exitosamente el presente trabajo.

A los miembros del Tribunal Calificador: Ing. Manuel Quizhpe, Ing. Honías Cartuche e Ing. Marjorie Díaz, por sus acertadas observaciones y el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis.

Mi eterno agradecimiento a la Ingeniera Lucía Quichimbo, quién me brindó todo su apoyo y orientación durante el trabajo realizado en el Laboratorio de Fisiología Vegetal.

A mis queridos amigos y compañeros de aula: Gabriela, Marly, Judith, Dalton con quienes compartí muchas alegrías y buenos momentos, gracias por toda su ayuda, pero sobre todo gracias por su amistad sincera.

*Gracia a todos.*

*María Eugenia*

## *DEDICATORIA*

*A Dios Todopoderoso por darme salud y vida para continuar con mis estudios y cumplir esta meta; por iluminarme y darme las fuerzas para seguir adelante a pesar de los obstáculos.*

*A mis amados padres Erasmo y Paquita, por brindarme su apoyo incondicional cada momento de mi vida; por sus valiosos consejos por su inmenso amor y comprensión. A mis hermanas Andrea, Fernanda y Eduarda, a mi hermano Juan José, a mis queridos Sobrinos Allis y Leandro, quienes fueron la motivación principal de mi esfuerzo y sacrificio para cumplir la meta propuesta.*

*A todos mis familiares, tíos, primos y amigos que me ofrecieron su apoyo en los momentos difíciles y me alentaron a seguir adelante.*

*Y de manera especial, a una persona que estuvo a mi lado desde el inicio de mi carrera, quien me brindó su amor y comprensión en cada momento y supo tender su mano para apoyarme cuando más lo necesitaba, José Luis.*

*Con amor,*

*Mary*

## INDICE GENERAL

	<b>Contenido</b>	<b>Páginas</b>
	<b>RESUMEN</b>	1
	<b>SUMMARY</b>	2
1.	<b>INTRODUCCIÓN</b>	3
2.	<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	5
2.1.	Germinación de Semillas	5
2.1.1.	Definición	5
2.1.2.	Semillas	5
2.1.3.	Condiciones ambientales necesarias para la germinación	5
2.2.	Descripción general de <i>Cinchona pubescens</i>	6
2.2.1.	Taxonomía	7
2.2.2.	Descripción botánica	7
2.2.3.	Biología reproductiva de la especie	8
2.2.4.	Dinámica poblacional	8
2.2.5.	Usos de la especie	9
2.2.6.	Plagas y enfermedades	10
2.2.7.	Requerimientos ecológicos	10
2.3.	Generalidades sobre plantas introducidas en Galápagos	10
2.4.	Micorrizas	12
2.4.1.	Definición	12
2.4.2.	Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)	12
2.5.	Importancia de los nutrientes en las plantas	14
2.5.4.	Síntomas comunes de deficiencias de nutrientes	16
3.	<b>METODOLOGÍA</b>	17
3.1.	Ubicación del área de estudio	17
3.2.	Germinación de las semillas de <i>Cinchona pubescens</i> de las dos procedencias, Loja y Galápagos, a nivel de laboratorio	17
3.2.1.	Colección de semillas	17
3.2.2.	Germinación	18



3.2.3.	Fase de aclimatación	19
3.3.	Evaluación de la respuesta al trasplante y el crecimiento de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> , de Loja y de Galápagos, en el invernadero después de la aplicación de micorrizas y nutrientes	19
3.3.1.	Primer repique en el laboratorio	19
3.3.2.	Preparación del inóculo de micorrizas para la planta trampa	20
3.3.2.1.	Elección de la planta trampa	20
3.3.2.2.	Colección del material	21
3.3.2.3.	Multiplicación de las micorrizas	21
3.3.2.4.	Preparación del inóculo de micorrizas para las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y de Galápagos	21
3.3.3.	Diseño experimental	22
3.3.4.	Distribución de las fundas en el invernadero	23
3.3.5.	Trasplante en el invernadero	24
3.3.6.	Clasificación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares	24
3.3.6.1.	Determinación de la colonización micorrizal	25
3.3.7.	Aplicación de los nutrientes a las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> en el invernadero	27
3.3.8.	Evaluación del crecimiento de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>	28
3.3.9.	Cosecha de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>	29
3.3.10.	Análisis Estadístico	29
3.4.	Difusión de los resultados obtenidos	30
4.	<b>RESULTADOS</b>	32
4.1.	Germinación de <i>Cinchona pubescens</i> a nivel de laboratorio, con semillas de dos procedencias Loja y Galápagos	32
4.2.	Evaluación del crecimiento y respuesta al trasplante de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> , de las dos procedencias, en el invernadero	33
4.2.1.	Altura de las plántulas en el invernadero	33
4.2.2.	Incremento diamétrico de las plántulas en el invernadero	34
4.2.3.	Biomasa	36
4.2.4.	Sobrevivencia de las plántulas en el invernadero	38

4.2.5.	Micorrización de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> en el invernadero	39
4.2.5.1.	Clasificación morfológica de las esporas micorrízicas obtenidas del suelo de Loja y Galápagos	40
4.2.5.2.	Colonización de las micorrizas en las raíces de los árboles de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y Galápagos	41
4.3.	Difusión de los resultados	42
5.	<b>DISCUSIÓN</b>	43
5.1.	Germinación de semillas de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y de Galápagos, a nivel de laboratorio	43
5.2.	Evaluación del crecimiento y respuesta al trasplante de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y de Galápagos en el invernadero	43
6.	<b>CONCLUSIONES</b>	47
7.	<b>RECOMENDACIONES</b>	49
8.	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	50
9.	<b>ANEXOS</b>	57

## INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Páginas
1. Registro de los datos de germinación de las semillas de <i>Cinchona pubescens</i>	18
2. Descripción de los factores del experimento	22
3. Tratamientos (T) aplicados a las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> en el invernadero	23
4. Nutrientes que se aplicaron a las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> en el invernadero, con diferentes concentraciones de acuerdo a cada tratamiento	27
5. Hoja de monitoreo para la evaluación del crecimiento de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y de Galápagos en el invernadero	29
6. Matriz para registrar los datos de la cosecha de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>	30
7. Análisis de Varianza realizado para la variable “altura” con la interacción de los tres factores	34

8. Análisis de varianza realizado para el “incremento diamétrico” con la interacción de los tres factores	35
9. Análisis de varianza realizado para la variable “biomasa” con la interacción de los tres factores	37
10. Cuadro resumen de la Clasificación Morfológica de los HMA	40
11. Datos obtenidos en la evaluación de la colonización de HMA en los árboles de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y Galápagos	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Páginas
1. Anatomía de los Hongos Micorrízicos Arbusculares	14
2. Germinadores plásticos utilizados para el repique de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>	20
3. Determinación de la colonización micorrizial en clases de 0 a 5	27
4. Germinación de las semillas de <i>Cinchona pubescens</i> de Loja y Galápagos a nivel de laboratorio	32
5. Crecimiento promedio y desviación estándar de las plántulas de los diferentes tratamientos de <i>Cinchona pubescens</i> a nivel de invernadero	33
6. Incremento diamétrico promedio y desviación estándar de las plántulas de los diferentes tratamientos de <i>Cinchona pubescens</i> a nivel de invernadero	35
7. Promedio de la biomasa y desviación estándar obtenida de la cosecha de las plántulas de <i>C. pubescens</i> de Loja y de Galápagos en el invernadero	37
8. Porcentaje de sobrevivencia y desviación estándar de las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i> después de la aplicación de los diferentes tratamientos	39
9. Porcentaje de colonización micorrizas y desviación estándar en los diferentes tratamientos aplicados a las plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>	40

## RESUMEN

*Cinchona pubescens* ha sido una especie muy representativa para la provincia de Loja, por su valor medicinal, cultural e histórico. Es así, que en 1936 Acosta Solís sugirió que *C. pubescens* fuera nombrado como el Árbol Nacional del Ecuador. Esto representa una trascendental importancia para la provincia de Loja, ya que la especie fue descubierta en esta región (Loja).

Por otro lado, *C. pubescens* fue introducida en las islas Galápagos hace más de 70 años y desde entonces ha crecido y se ha reproducido exitosamente, al punto de volverse una especie invasora en esa región.

La presente investigación se realizó con el fin de aportar información necesaria que ayude con el manejo adecuado de *C. pubescens*, tanto en su lugar nativo (Loja) y en el sitio donde fue introducida (Galápagos). Para lo cual se utilizó semillas de las dos procedencias en cuestión, para comparar su germinación y crecimiento.

La germinación se realizó en condiciones ambientales, controladas a nivel de laboratorio; y con las plántulas obtenidas de este proceso, se realizó un seguimiento de su crecimiento en invernadero durante seis meses; donde además, se probó diferentes nutrientes, como nitrógeno y fósforo, y en el que también jugaron un papel importante las micorrizas; las cuales junto con los nutrientes formaron parte de los diferentes tratamientos aplicados a las plántulas de Loja y Galápagos para evaluar su comportamiento.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indicaron que las semillas provenientes de Loja obtuvieron mayor porcentaje de germinación que las semillas provenientes de Galápagos, a nivel de laboratorio; sin embargo, las plántulas de Loja crecieron menos en altura y diámetro y tuvieron mayor mortalidad que las plántulas de Galápagos.

## SUMMARY

*Cinchona pubescens* has been a species very representative for the province of Loja, for its medicinal value, cultural and historical. Thus, in 1936 Acosta Solis suggested that *C. pubescens* was appointed as the national tree of Ecuador. This represents a great importance for the province of Loja, since the species was discovered in this region (Loja).

Furthermore, *C. pubescens* was introduced in the Galapagos Islands over 70 years ago and has since grown successfully to the point of becoming an invasive species in that region.

This research was conducted to provide information needed to help with proper handling of *C. pubescens*, both in his native place (Loja) and the site where it was introduced (Galapagos). Used seeds from two provenances in question, to compare their germination and growth.

Germination was carried out at ambient conditions, which were controlled in the laboratory; seedlings obtained from this process were monitored their growth in greenhouse for six months. Which also was experienced different nutrients, such as nitrogen and phosphorus, and also played an important role mycorrhizae, which along with the nutrients were part of different treatments applied to seedlings from Loja and Galapagos to evaluate their behavior.

The results obtained in this study indicated that seeds provenance of Loja had higher percentage of germination than seeds from the Galapagos, in the laboratory, but Loja seedlings grew less in height and diameter and had higher mortality than Galapagos seedlings.

## 1. INTRODUCCIÓN

El género *Cinchona* comprende 23 especies de la familia Rubiaceae, conocido principalmente por su contenido de quinina, sustancia que se utilizó siglos atrás para curar la malaria (Garmendia 2005). En la provincia de Loja, el género *Cinchona* también se conoce como el árbol de la cascarilla y es considerado como uno de los géneros de mayor importancia, por su valor medicinal e histórico (Santos 2010).

La excesiva demanda de la cascarilla a partir del siglo XVII, provocó la explotación irracional de las especies que comprende el género *Cinchona*, 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).

*Cinchona pubescens*, es una de las especies de cascarilla nativa de la provincia de Loja, que también ha sido parte de las especies sobre-explotadas en la región; por lo cual, hoy en día es muy difícil encontrarla en su hábitat natural.

En Galápagos, esta especie fue introducida en los años 1940 y desde entonces se ha extendido por un área de más de 12 000 hectáreas en la parte alta de la isla Santa Cruz. En esta región, *C. pubescens* se ha vuelto invasora, esto significa que se reproduce y se propaga sin intervención humana. Lo cual ha causado una reducción de la diversidad y de la abundancia de las especies de plantas nativas (Palacios 1993 y Jäger et al. 2009), también ha producido cambios en el régimen de la luz, del agua y de los nutrientes (Jäger et al. 2009). También invasiva en Hawaii y Tahiti (Jäger 2011).

Resulta contradictorio saber que, en la provincia de Loja, *C. pubescens* casi ha desaparecido, pero en Galápagos, luego de su introducción, la especie ha tenido una dispersión exitosa; a tal punto que es considerada como una plaga que se trata de controlar.

Por otro lado, se estima que más del 80 % de especies de plantas vasculares tienen asociación simbiótica con micorrizas, en estado silvestre o cultivado en la mayoría de ecosistemas del planeta (Urgiles et al. 2005). El rol que cumplen las micorrizas en asociación simbiótica con las plantas es muy importante ya que brindan varios beneficios a

sus hospederas, tales como: facilitar la absorción de agua y nutrientes a través de las hifas, ayudan a la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas, aumentan la tolerancia a la sequía, etc. (Salas 2000).

Además, de las condiciones ambientales y del agua, todas las plantas necesitan nutrientes para sobrevivir y crecer. Las plantas toman nutrientes del aire, el suelo y el agua, éstos son absorbidos por los finos pelos de las raíces, no por las raíces grandes. Aun los árboles muy grandes tienen pequeños pelos finos en las raíces para absorber los nutrientes y el agua que necesitan (pelos absorbentes).

La presente investigación se enmarca dentro del macro proyecto titulado: “Investigar los mecanismos de las plantas introducidas: el rol de la competencia por los nutrientes y de las características de las especies”, y pretende investigar la evaluación del comportamiento de dos procedencias de *C. pubescens* (Loja y Galápagos), su germinación a nivel de laboratorio y su crecimiento en el invernadero con la aplicación de micorrizas y nutrientes, para generar información de la especie que permita contribuir con su manejo adecuado, la conservación en su lugar de origen y el control en los sitios donde ha sido introducida.

El objetivo general de la presente investigación fue:

- Contribuir en la investigación del comportamiento de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos, con la generación de información sobre su germinación en laboratorio y su crecimiento en invernadero con la aplicación de micorrizas y nutrientes.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Evaluar la germinación de *Cinchona pubescens* de dos procedencias, Loja y Galápagos, a nivel de laboratorio.
- Evaluar la respuesta al trasplante y el crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens*, de las dos procedencias, en el invernadero después de la aplicación de micorrizas y nutrientes.
- Difundir los resultados del presente estudio.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Germinación de Semillas**

#### **2.1.1. Definición**

La germinación se define como el surgimiento y desarrollo, a partir del embrión de la semilla, de las estructuras esenciales que indican la capacidad de la semilla para producir una planta normal en condiciones favorables (Rodríguez 2000).

También la germinación se define, como los cambios físicos y fisiológicos que tienen lugar en una estructura reproductiva (semilla, grano de polen, espora), que provocan el comienzo de su crecimiento. Generalmente la germinación se caracteriza por la ruptura de la cubierta y la emergencia, por ej. de la radícula, plúmula talo o hifa (Sociedad Española de Ciencias Forestales 2005).

#### **2.1.2. Semillas**

La semilla contiene el embrión y los alimentos para este; permanece en estado latente hasta que las condiciones para germinar sean favorables. La meta final de la semilla, es de preservar la especie (Alvarado y Encalada 2010).

La semilla representa un óvulo fecundado y maduro de las espermatofitas. Constituye el elemento fundamental para la reproducción de una especie, dando lugar su germinación a la aparición y desarrollo de una nueva planta. Pero también hay el caso en que se desarrollan semillas sin que el óvulo haya sido fecundado “apomixis” (Sociedad Española de Ciencias Forestales 2005).

#### **2.1.3. Condiciones ambientales necesarias para la germinación**

##### **2.1.3.1. Humedad**

Es un factor completamente imprescindible en el proceso de la germinación. La semilla absorbe agua hasta la imbibición, lo que permite la activación de los procesos metabólicos que inician la germinación (Rodríguez y Nieto 1999).



### **2.1.3.2. Temperatura**

Es uno de los principales y más influyentes factores de la germinación. Se han reportado rangos mínimos por encima de 0°C, óptimos entre 25 y 31°C y máximos de 40-50°C. El factor desencadenante es la variación de la temperatura, por debajo o por encima de estos límites puede ocurrir la muerte de la semilla (Rodríguez y Nieto 1999).

### **2.1.3.3. Oxígeno**

En los primeros estadios de la germinación, antes de que la radícula rompa el tegumento, las reacciones son de carácter anaeróbico, posteriormente el proceso se hace totalmente dependiente del oxígeno. A bajas temperaturas (5°C), el consumo de oxígeno a través de la testa es menor que en condiciones ambientales normales (Rodríguez y Nieto 1999).

### **2.1.3.4. Luminosidad**

La sensibilidad de las semillas a la luz es variable de acuerdo con la especie. La respuesta de las semillas a la luz está ligada a una cromoproteína denominada “fitocromo”, un pigmento responsable de atrapar la luz (Rodríguez y Nieto 1999).

### **2.1.3.5. Sustrato**

En la mayoría de los ensayos de laboratorio con especies de semillas pequeñas, se utiliza papel de germinación. Sin embargo, la elección del medio en que se van a colocar las semillas depende de diferentes factores: el equipo utilizado para la germinación (estufa, germinador), la especie, las condiciones de trabajo, y la experiencia del investigador (Rodríguez y Nieto 1999).

## **2.2. Descripción general de *Cinchona pubescens***

*Cinchona pubescens*, es una especie que tiene una amplia distribución, va desde Costa Rica hasta Bolivia. Ha tenido gran éxito en otros lugares en los que ha sido introducida, como en las islas Tahiti y Hawaii e incluso en Galápagos, ecosistemas en los cuales se ha vuelto invasora (Jäger et al. 2009).

### **2.2.1. Taxonomía**

Nombre científico: *Cinchona pubescens* (VAHL)

Familia: Rubiaceae

Sinónimos: La base de datos de nomenclatura (TRÓPICOS, 2011) enumera 149 distintos sinónimos. Entre algunos de ellos están las siguientes: *C. succirubra* (PAVÓN) ex KLOTZSCH, *C. asperifolia* (WEDD.), *C. caloptera* (MIQ.), *C. chomeliana* (WEDD.), *C. decurrentifolia* (PAVÓN en HOWARD), *C. hirsuta* (RUIZ y PAVÓN), *C. lechleriana* (SCHLECHTENDAL), *C. lutea* (PAVÓN en HOWARD), y *C. ovata* (RUIZ y PAVÓN).

### **2.2.2. Descripción botánica**

En su área de distribución natural, *C. pubescens* es un árbol siempre verde de 10 a 25 m de altura, con un diámetro a la altura del pecho (DAP) de 20 a 80 cm. En su lugar introducido, por ejemplo, en Galápagos, los árboles pueden alcanzar una altura de 15 m y un DAP de 25 cm (Jäger 2011).

Las hojas son opuestas, de forma elíptica u ovada, con pecíolos pubescentes y estípulas caducas, que a menudo dejan una cicatriz muy marcada en la rama (Jäger 2011).

En Ecuador, alrededor de Loja, las flores de *Cinchona* y los frutos están presentes al mismo tiempo todo el año. Las flores de *C. pubescens* se agrupan en grandes panículas piramidales, normalmente hasta 20 cm, pero a veces son de mayor tamaño. Las corolas son de color rosado o púrpura (Jäger 2011).

Al igual que en el área de distribución natural, los árboles de *C. pubescens* en Galápagos, tienen flores casi durante todo el año, pero con un pico entre agosto y noviembre. El proceso de la apertura de la flor para la producción de frutos maduros toma alrededor de 19 semanas. Cada cápsula contiene aproximadamente 60 a 70 semillas (Jäger 2011).

### **2.2.3. Biología reproductiva de la especie**

#### **2.2.3.1. Producción de semillas**

Se produce numerosas semillas de los árboles padres, los árboles padres alcanzan la producción dentro de cuatro años (Global Invasive Species Program 2002); aunque en Galápagos lo hacen a la edad de 2 años (H. Jäger 2011 com. pers.). Las semillas son diminutas y se dispersan de inmediato al abrirse los frutos, por lo cual es conveniente cosechar estos últimos cuando aún se encuentran en el árbol. Pierden rápidamente su viabilidad y deben utilizarse de inmediato luego de obtenidas (Nair 1980).

#### **2.2.3.2. Germinación**

La germinación se inicia a las 2 a 3 semanas de la siembra. Se sugiere repicar las plántulas cuando tienen unos 2-3 cm de altura o 1 par de hojas verdaderas (Nair 1980).

#### **2.2.3.3. Propagación**

Se propaga por semillas dispersadas por el viento, y vegetativamente a través de los retoños múltiples de raíces; y se saca rebrotes fácilmente de los tallos dañados (Global Invasive Species Database 2006).

En Colombia, las semillas se dejan en remojo en agua fría durante 12 horas, luego se siembran en semillero, cuando la planta alcanza los 5 cm de altura se trasladan a bolsas de polietileno y a los 20 cm de altura se trasladan a un lugar definitivo. Por retoños, se cortan ramitas que tengan al menos una yema en la base, se siembran bajo cobertizo y luego se trasladan al lugar definitivo (Mahecha et al. 2004).

### **2.2.4. Dinámica poblacional**

#### **2.2.4.1. Regeneración natural**

En su lugar nativo, debido a la sobre-explotación de *Cinchona*, antes de la síntesis de la quinina en 1944, las poblaciones de esta especie, han sido drásticamente reducidas en su abundancia en América del Sur, por ejemplo, en Bolivia, Colombia y Ecuador. Como

consecuencia, *C. pubescens* es extremadamente rara en el Ecuador y tiene una tasa de regeneración baja (Santos 2010). En su lugar introducido, *C. pubescens* ha alcanzado un crecimiento exitoso, razón por la cual es considerada como una especie invasora (Jäger 2011).

#### **2.2.4.2. Estado de conservación**

Pese a tener un rango de distribución amplio, las poblaciones de *C. pubescens* parecen estar conformadas por pocos individuos; debido a la sobre-explotación que ha sufrido dicha especie, además, la expansión de la frontera agrícola, es otro factor que ha influido en la reducción de sus poblaciones. Estos factores son los que han llevado a que se catalogue a *Cinchona pubescens*, una especie amenazada (Günther et al. 2004). Por ende, su estado de conservación es crítico.

#### **2.2.5. Usos de la especie**

El uso más conocido para esta especie, es el de su corteza, que contiene quinina, la cual es un remedio eficaz para curar la malaria y otras enfermedades que causan fiebres. Así mismo, se ha empleado para tratar dolores de cabeza, artritis y enfermedades del estómago, entre otros males. Es usada para tratar afecciones del corazón, es tónica eupéptica (favorece a la digestión) (Etnia no especificada-Bolívar). La corteza mezclada con aguardiente, se usa para tratar el resfrío y la carraspera de garganta (Etnia no especificada-Loja) (Red Nacional de Jardines Botánicos 2009).

De la corteza también se extrae el sulfato de quinina que es usado en la fabricación de preservativos anticonceptivos (Etnia no especificada-Bolívar) (Red Nacional de Jardines Botánicos 2009).

Como uso maderable, esta especie también es empleada en carpintería (Red Nacional de Jardines Botánicos 2009).

### **2.2.6. Plagas y enfermedades**

En el área de distribución natural de *C. pubescens*, se producen siete hongos asociados con la especie (por ejemplo, *Elsinoe cinchonae* (JENKINS), *Phytophthora cinnamomi* (RANDS), *Prillieuxina cinchonae* (J.A. STEV). El patógeno que causa la sarna *Elsinoe cinchonae* (JENKINS), se registró también en *C. pubescens* desde el oeste de Ecuador. Sin embargo, no hay evidencia de que estas especies son patógenos de importancia económica. En Galápagos, los patógenos secundarios fueron aislados de *C. pubescens*, principalmente *Fusarium spp.* (Jäger 2011).

### **2.2.7. Requerimientos ecológicos**

#### **2.2.7.1. Suelo**

Crece bien en suelos volcánicos, ricos en materia orgánica, así también en zonas muy rocosas, donde las raíces son expuestas al aire. En la región sur del Ecuador la *Cinchona pubescens* es exclusiva de suelos arcillo-arenoso, con un pH de 5.1, que significa poco ácido, con una temperatura de suelo de 16,3°C (Global Invasive Species Database 2006).

#### **2.2.7.2. Clima**

En general, en su área de distribución natural, los árboles de *Cinchona* requieren climas cálidos con alta precipitación y humedad casi todo el año para un crecimiento óptimo. En Ecuador, las temperaturas varían entre 10 y 23 ° C y a menudo la especie crece en quebradas escarpadas de difícil acceso y en hábitats perturbados (Jäger 2011).

### **2.3. Generalidades sobre plantas introducidas en Galápagos**

En el Archipiélago de Galápagos existe una flora nativa muy reducida: alrededor de 500 especies de plantas, de las cuales 180 son endémicas.

Pero la vegetación de las islas, también está conformada por especies de plantas introducidas por el ser humano: más de 640 plantas vasculares han sido introducidas por personas a Galápagos, desde el descubrimiento de las islas en 1535.

El 90 % de las especies introducidas, son consideradas plantas útiles (desde un punto de vista antropocéntrico) entre ellas se incluyen algunos frutales, hortalizas y otros cultivos, maderables, plantas medicinales y ornamentales.

Hay especies que se han introducido a las islas por casualidad, y se han diseminado debido al carácter abierto y de poca competencia existente en sus ambientes. Sin embargo, pocas de éstas plantas introducidas por casualidad han causado problemas graves a la biota nativa.

Por el contrario, muchas de las plantas introducidas como cultivos se han dispersado y se constituyen actualmente en una grave amenaza para las especies nativas y sus hábitats. Las peores especies introducidas son aquellas que logran transformar los hábitats en los que están presentes; entre ellas, se pueden incluir a algunos árboles (como por ejemplo, *Cinchona pubescens*, *Psidium guajava*), capaces de invadir zonas de Galápagos que en forma natural no tenían árboles, algunos arbustos y trepadoras (como *Aristolochia*) y algunas especies herbáceas, especialmente pastos.

La especie *Cinchona pubescens*, fue introducida en la parte alta de la isla Santa Cruz en el año 1940, donde la quinina nunca fue explotada y en la actualidad es altamente invasiva. Su rango de distribución va desde los 180 hasta los 860 m snm (Jäger 2011).

Nunca ha sido realizado un inventario completo de plantas introducidas, pero actualmente el área de Botánica de la Fundación Charles Darwin está empeñada en realizar el primero, cubriendo todas las zonas habitadas por humanos en Galápagos, zonas a las que se considera la fuente de donde escapan las especies que invaden el Parque Nacional. El propósito es lograr un inventario completo de todas las especies de plantas introducidas presentes en Galápagos (Fundación Charles Darwin 2011).

Actualmente las plantas invasoras constituyen un potencial problema en las zonas agrícolas y en las áreas naturales del Archipiélago. Muchas de ellas se introdujeron primero en la zona agrícola en donde son un problema y desde allí se han dispersado agresivamente hacia áreas del Parque Nacional (Rentería 2006).

## **2.4. Micorrizas**

### **2.4.1. Definición**

El término micorriza proviene del griego: *myco*, (hongo), y *rhyza*, (raíz), este término fue acuñado por A.B. Frank en 1885, para describir las asociaciones simbióticas entre raíces vegetales y hongos del suelo. En esta simbiosis el hongo funciona como una extensión del sistema radical de la planta facilitando, a través de su red de hifas, una mayor absorción de nutrientes de poca movilidad en el suelo como P, N, Zn y Cu (Smith y Read 1997). Se estima que aproximadamente el 95 % de las especies vegetales pertenecen a familias característicamente micorrizicas (Loján y Carrillo 2007).

Las micorrizas cumplen una función muy importante en el desarrollo de las plantas, ya que permiten la absorción de nutrientes, mayor captación de agua y estimulan el crecimiento aéreo y radicular (Smith y Read 1997).

Son varios los beneficios que tiene la asociación simbiótica de las micorrizas con las plantas, entre ellos están: facilitan el reciclaje de nutrientes, ayudan a la planta a crear mecanismos de resistencia al ataque de microorganismos patógenos, estimulan la formación de hormonas que ayudan al crecimiento de las plantas, sirven como una extensión de las raíces que le permiten a la planta tener una mayor área de absorción (Ocampo et al. 2011).

### **2.4.2. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)**

#### **2.4.2.1. Descripción de los HMA**

Los hongos micorrízicos arbusculares se asocian con las raíces de la mayoría de las especies vegetales y les proporcionan múltiples beneficios: mayor captación de nutrientes, resistencia a las condiciones de estrés provocadas por patógenos de hábitos radicales, salinidad, sequía, acidez y elementos tóxicos. También son responsables de influenciar en la diversidad vegetal y la productividad en ecosistemas naturales (Smith y Read 1997). Estos hongos presentan un crecimiento intra e intercelular en la corteza de la raíz de la planta, una característica específica es la formación de estructuras intraradicales

denominadas arbuscúlos que consisten en ramificaciones dicotómicas repetidas de un hifa, hasta dar una estructura similar a un árbol muy ramificado (Van Derheijden 1998).

#### **2.4.2.2. Arquitectura de la Micorriza Arbuscular**

##### **a. Hifas**

Las hifas son estructuras filamentosas que en conjunto forman un micelio. Existen tres tipos de hifas: las intercelulares, intracelulares y las extraradicales.

Hifas intercelulares: Son aquellas que crecen entre la pared de las células de la raíz (Figura 1a).

Hifas intracelular: Son aquellas que crecen dentro de la pared de las células de la raíz (Figura 1b).

Hifas extraradicular: Este tipo de hifas se clasifican en tres subtipos según su morfología y las funciones que llevan a cabo: hifas infectivas, son las que inician los puntos de colonización en una o varias raíces; hifas absorbentes son las que se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrientes y las hifas fértiles son las que llevan las esporas (Guzmán 2005). (Figura 1c).

##### **b. Apresorios**

Son apéndices, que se forman cuando una hifa hace contacto con la superficie de una célula epidérmica de la raíz, esta estructura facilita la penetración del hongo. (Figura 1d).

##### **c. Vesículas**

Son órganos de paredes delgadas que almacenan lípidos y glicolípidos se forman a partir del hinchamiento de una hifa terminal. Las vesículas pueden ser inter o intracelulares y pueden ser encontradas tanto en el interior como en las capas externas del parénquima cortical. Estas no están presentes en todos los géneros de HMA (Figura 1e).



#### d. Arbúsculos

Son minúsculas ramificaciones dicotómicas, sirven como sitio de intercambio nutrimental entre el hongo y el hospedero. Son de corta duración 9 a 15 días, al cabo de lo cual colapsan o son digeridos por la célula hospedera, después de un gran período de actividad metabólica (León 2006). (Fig. 1f).

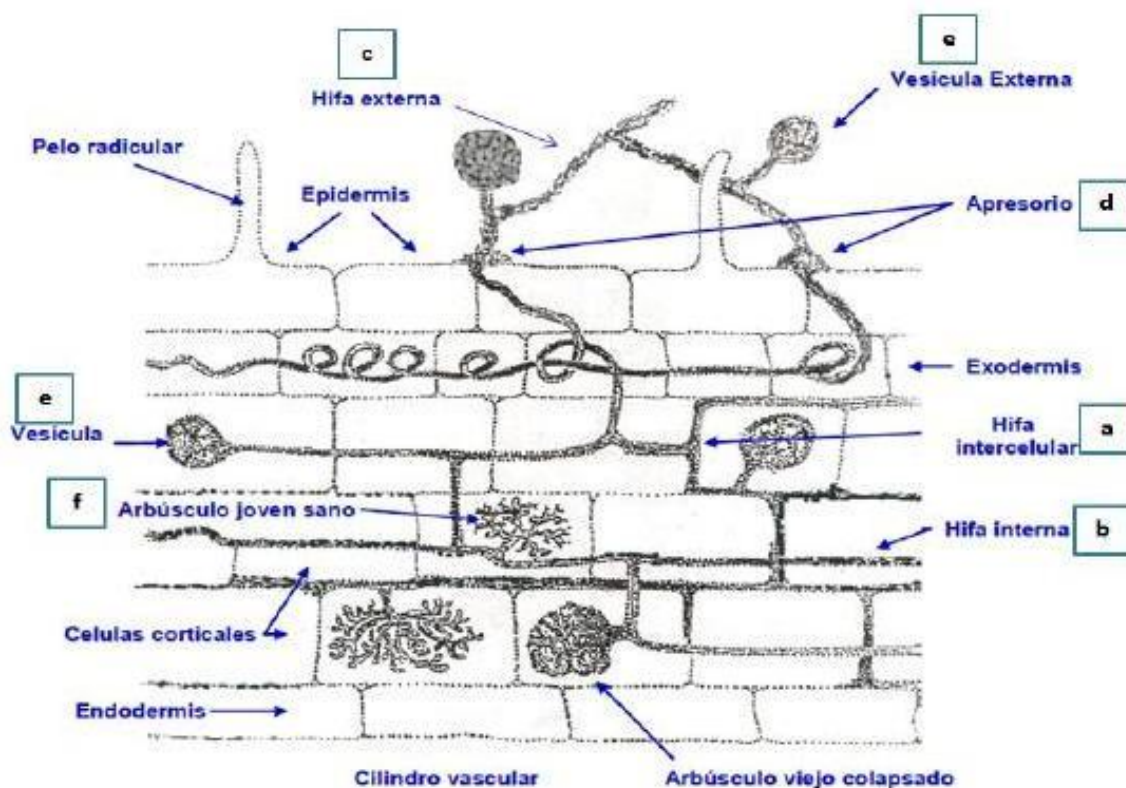


Figura 1. Anatomía de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (Figura tomada de Chung 2005).

#### 2.5. Importancia de los nutrientes en las plantas

Los nutrientes cumplen una función importante para el crecimiento de las plantas, éstas los obtienen del suelo a través del agua que absorben por las raíces. La deficiencia de los nutrientes en las plantas, pueden causar que éstas no se desarrollen bien en el vivero, y que sean más sensibles al ataque de enfermedades en el campo (World Agroforestry Centre 2011).

Los nutrientes químicos tienen diferente origen y composición, por lo cual cada uno de los elementos que los componen cumple una función importante para el crecimiento de las plantas (Rizobacter 2009).

### **2.5.1. Importancia del Nitrógeno**

El nitrógeno es un elemento esencial para la vida de las plantas y de cualquier organismo vivo. En el campo de la agronomía, la presencia del nitrógeno es elemental porque interviene en la composición de las moléculas esenciales para la vida de las plantas, condicionando la calidad de sus estructuras y los procesos en las que éstas intervienen. Su disponibilidad es uno de los factores determinantes de la productividad de los cultivos.

Sin nitrógeno y clorofila, las plantas no podrían utilizar la luz del sol como fuente de energía para llevar a cabo sus funciones vitales.

Cuando el aspecto de una planta es amarillento y el crecimiento es reducido, rápidamente nos damos cuenta de que ésta carece de Nitrógeno (Rizobacter 2009).

### **2.5.2. Importancia del Fósforo**

El fósforo es un elemento esencial para la vida. Las plantas lo necesitan para crecer y desarrollar su potencial genético. Lamentablemente, el fósforo no es abundante en el suelo, además, mucho del fósforo presente en el suelo no está en formas disponibles para la planta. Las fuentes de fósforo como nutrimento para las plantas son los fertilizantes minerales y los fertilizantes orgánicos. Los fertilizantes minerales son compuestos inorgánicos de fósforo que se extraen de los grandes yacimientos de “roca fosfórica”. Estos compuestos minerales, son tratados para hacerlos más solubles para que así, sean disponibles para las plantas y puedan ser utilizados por estas en la formación de tejidos y órganos vegetales (International Plant Nutrition Institute 2011).

### **2.5.3. Importancia del Potasio**

Es un nutriente esencial; elemento irremplazable en el proceso metabólico: fotosíntesis, síntesis de proteínas y carbohidratos, regulador de la presión osmótica, motor de la

turgencia celular; tiene gran incidencia en el balance de agua y en el crecimiento meristemático. Por ambas acciones es fundamental en el crecimiento vegetativo, la fructificación, la maduración y la calidad de los frutos (International Plant Nutrition Institute 2011).

#### **2.5.4. Síntomas comunes de deficiencias de nutrientes**

**2.5.4.1. Deficiencia de Nitrógeno:** Éste es un nutriente móvil, lo cual significa que, cuando hay deficiencia de N, las plantas lo trasladan desde el follaje más viejo al más joven y producen hojas en forma activa. Las hojas más viejas (las que están más abajo en el tronco del árbol) se vuelven amarillas primero, mientras que las hojas nuevas permanecen verdes.

**2.5.4.2. Deficiencia de Fósforo:** Toda la plántula está atrofiada, especialmente durante la primera etapa de desarrollo. Según la especie, las hojas se pueden volver de color verde opaco, amarillas o púrpuras. El color púrpura de las hojas es un síntoma clásico, pero a veces no hay diferencias de color en las hojas y, por lo tanto, el diagnóstico visual no siempre es confiable. El color púrpura no debe ser confundido con el de las hojas nuevas, que a menudo se ven púrpuras o rojas en la primera foliación.

**2.5.4.3. Deficiencia de Potasio:** Los síntomas aparecen primero en las hojas más viejas, que comienzan a volverse amarillas en los bordes y son en parte verdes en la base. Más tarde, los bordes de las hojas se vuelven de color café, pueden arrugarse o enroscarse y a veces aparecen pequeñas manchas necróticas (muertas). Las plantas pueden marchitarse aun cuando haya suficiente agua en el sustrato. Cuando las deficiencias son severas, las hojas mueren (Rizobacter 2009).

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Ubicación del área de estudio**

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Nacional de Loja; situada a 2 160 m snm. con una temperatura y precipitación media anual de 16°C y 967,6 mm entre las siguientes coordenadas: 04°02'90'' S y 79°11'49'' W.

La primera parte, correspondiente a la germinación de semillas, se desarrolló en el Laboratorio de Fisiología Vegetal; mientras que la evaluación del crecimiento de las plántulas, se realizó en el invernadero del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.

Se utilizaron semillas de *Cinchona pubescens* procedentes de Galápagos y Loja. Las semillas de Galápagos fueron colectadas de la parte alta de la isla Santa Cruz en marzo del 2010, mientras que las de Loja, se colectaron en el Jardín Botánico “Reinaldo Espinosa”, en noviembre del 2010.

#### **3.2. Germinación de las semillas de *Cinchona pubescens* de las dos procedencias, Loja y Galápagos, a nivel de laboratorio.**

El proceso se inició en el campo con la colección de las semillas de cada procedencia, para posteriormente trabajar en la germinación en laboratorio bajo condiciones controladas. La siembra de las semillas y evaluación del porcentaje de germinación se realizó tomando en cuenta los parámetros de germinación de las Normas ISTA (2007).

##### **3.2.1. Colección de semillas**

Los frutos en forma de cápsula, fueron colectados directamente de los árboles antes de que éstos se abran y dispersen sus semillas. Después de permanecer almacenados por varios días, las cápsulas se abrieron y expulsaron las semillas, que fueron colectadas y separadas cuidadosamente.

### 3.2.2. Germinación

Se tomó ocho muestras de 100 semillas puras por cada procedencia (en total 800 semillas por procedencia). Se utilizó ocho cajas Petri, por cada procedencia y se colocaron 100 semillas por caja, se les agregó Vitavax al 2 % por 3 minutos para desinfectarlas. Luego se las enjuagó con agua destilada y se dejó las semillas en remojo en agua destilada por 24 horas, como tratamiento pre-germinativo.

Se colocaron las semillas en 16 cajas Petri previamente esterilizadas, preparadas con papel toalla saturado en agua destilada, distribuyendo 50 semillas por caja; teniendo un total de 800 semillas de Loja y 800 de Galápagos.

Se colocaron las 16 cajas Petri de Loja y 16 de Galápagos, en la cámara de germinación a una temperatura de 20° C y una humedad relativa del 60 %.

A partir del primer día de la siembra, se realizaron lecturas diarias de la germinación durante siete semanas, tiempo promedio que duró la germinación. Se utilizó una matriz especializada para registrar los datos (Ver Cuadro 1).

Cuadro 1. Registro de los datos de germinación de las semillas de *Cinchona pubescens*

Días de siembra	Germinación de <i>Cinchona pubescens</i> (Loja)								Germinación	
	Repeticiones								Diaria	Acumulada
	C.p	C.p	C. p	C.p	C.p	C.p	C.p	C.p		
1	2	3	4	5	6	7	8			
1										
2										
3										
..										
..										
..										

Una matriz similar se utilizó para registrar los datos de germinación de las semillas de *C. pubescens* de Galápagos.

Para determinar el porcentaje de germinación, una vez finalizado el período de observación, se realizó una relación simple tomando como base el total de semillas del ensayo que corresponde al 100 % de germinación.

### **3.2.3. Fase de aclimatación**

Luego de finalizada la fase de germinación de las semillas de *C. pubescens* de las dos procedencias, se sacó las cajas Petri del germinador y se las colocó sobre un mesón. Se mantuvo las plántulas durante un mes en las cajas, regando con agua destilada y bajo una lámpara de luz infrarroja que le proporcionó temperatura constante hasta que las plántulas pudieron resistir al repique.

### **3.3. Evaluación de la respuesta al trasplante y el crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens*, de Loja y de Galápagos, en el invernadero después de la aplicación de micorrizas y nutrientes.**

#### **3.3.1. Primer repique en el laboratorio**

Este proceso se realizó en el mismo laboratorio donde germinaron las plántulas. Primeramente se preparó un sustrato con una parte de arena y una parte de tierra negra de páramo (mezcla 1:1), y se lo esterilizó con vapor de agua en carretillas eléctricas. El sustrato fue colocado en germinadores plásticos de 3x3 cm y 4 cm de profundidad (Ver Figura 2). Con una pinza se sacó una por una las plántulas de las cajas Petri y se procedió a sembrarlas en los germinadores, debidamente identificados según la procedencia de las plántulas.

Para mantener un microclima adecuado para las plántulas, se colocó un plástico fino y transparente a una altura aproximada de 30 cm encima de los germinadores para cubrir las plántulas y evitar que éstas pierdan rápidamente la humedad. Los germinadores permanecieron en el laboratorio durante cuatro semanas, después del repique; luego fueron llevados al invernadero.

En el invernadero las plántulas permanecieron en los germinadores cubiertas por el plástico durante un mes más. Luego el plástico fue retirado y de esta manera las plántulas se fueron adaptando al microclima del invernadero.



Figura 2. Germinadores plásticos utilizados para el repique de las plántulas de *Cinchona pubescens* en el laboratorio.

### **3.3.2. Preparación del inóculo de micorrizas para la planta trampa**

Existen varios métodos para producir inóculos, el más común y confiable es el cultivo en maceta, que consiste en mezclar fragmentos de raíces o esporas tamizadas del suelo con un sustrato estéril y colocarlo en una maceta, sembrando posteriormente una planta trampa, luego de 3 a 6 meses se obtendrá raíces infectadas y esporas de HMA (Salas 2000). El inóculo de micorrizas se preparó en el invernadero.

#### **3.3.2.1. Elección de la planta trampa**

Se seleccionó como planta trampa al llantén menor (*Plantago lanceolata*), para lo cual se colectó semillas de esta especie en los alrededores del invernadero. El *Plantago* fue escogido como “planta trampa” por ser una especie de rápido crecimiento y con características adecuadas para el hospedaje y la multiplicación de los HMA. Se dejaron las semillas en remojo por un día y se procedió a sembrar en sustrato estéril colocado en una tarrina plástica y dentro de una funda térmica denominada “sunbag”. Se esperó hasta que

las plántulas llegaron a una altura de aproximadamente 5 cm, en un tiempo aproximado de cuatro semanas.

### **3.3.2.2. Colección del material**

Se colectó suelo y las raicillas más finas provenientes de árboles adultos de *C. pubescens* de ambas procedencias. El suelo y raíces de Galápagos se obtuvo de árboles de la parte alta de la Isla Santa Cruz, mientras que el suelo y raíces de Loja se colectaron de árboles encontrados en el cantón Celica.

### **3.3.2.3. Multiplicación de las micorrizas**

Las raicillas de los árboles de *C. pubescens* de Loja y Galápagos, fueron cortadas en segmentos de 2 cm y se las mezcló con el suelo correspondiente a cada procedencia. Se colocó 2/3 de arena esterilizada en cada tarrina y se agregó 60 g de la mezcla anterior, luego se procedió a sembrar dos plantas de *Plantago* por tarrina. Esto se repitió para el sustrato procedente de Loja y Galápagos. De cada procedencia se tuvieron 25 tarrinas que fueron posteriormente ubicadas en “sunbags”.

Estas tarrinas se mantuvieron en el invernadero durante cuatro meses para lograr la multiplicación de los HMA y se regó las plantas una vez a la semana con agua destilada. Dos semanas antes de la utilización del inóculo, se sometió a las plantas de *Plantago* a un “estrés hídrico”, es decir, se redujo el riego con el fin de tener mayor cantidad de esporas en el suelo.

### **3.3.2.4. Preparación del inóculo de micorrizas para las plántulas de *Cinchona pubescens* de Loja y de Galápagos**

Se pesó 300 g de suelo de cada tarrina y de cada procedencia, se cortó las raíces de *Plantago* en segmentos de 2 cm y luego se mezcló el suelo con las raíces y de esta manera quedó preparado el inóculo, para la siembra de las plántulas de *C. pubescens* en los diferentes tratamientos.



El inóculo se dividió en dos partes: una parte se utilizó para inocular directamente las plantas de *C. pubescens* en los diferentes tratamientos; y la otra parte se autoclaveó a 1,5 ATM de presión y 127°C de temperatura por una hora para esterilizar las micorrizas, este inóculo inerte fue aplicado a las plántulas del tratamiento sin micorrizas. Este proceso se realizó para que las plántulas con y sin micorrizas estén expuestas a las mismas condiciones, es decir que reciban los elementos del suelo y microorganismos diferentes de las micorrizas, que están presentes en el inóculo.

Además, se pesó 200 g de inóculo preparado de cada procedencia y se lo mezcló con 2 litros de agua destilada, en recipientes separados. Se batió la mezcla por varios minutos y se procedió a filtrar en un nuevo recipiente, utilizando embudos con un filtro con poros de 11 micras. Se aplicó 10 ml de esta solución antes del trasplante al suelo de las plantas del tratamiento que no reciben micorrizas. De esta manera se garantiza que las plantas del tratamiento sin micorrizas están expuestas a los mismos microorganismos que las del tratamiento con micorrizas.

### 3.3.3. Diseño experimental

Para evaluar la influencia de las micorrizas y los nutrientes, en el crecimiento de las plántulas de *C. pubescens* en el invernadero, se utilizó un “Diseño Simple al Azar en Arreglo Factorial 2 x 2 x 4”, en el cual se analizaron tres factores: procedencia, micorrizas y nutrientes. En el cuadro 2, se presentan los factores del experimento con sus respectivos niveles.

Cuadro 2. Descripción de los factores del experimento

Factores	Niveles
Procedencia (2)	Loja, Galápagos
Micorrizas (2)	Micorrizas vivas, Micorrizas autoclaveadas
Nutrientes (4)	Nitrógeno, Fósforo, Nitrógeno+Fósforo y Control

Como resultado de este arreglo factorial, se tuvieron 16 tratamientos en el experimento. Se tomó como unidad experimental cada plántula y de esta manera se obtuvieron 48 repeticiones por cada tratamiento (Ver Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos (T) aplicados a las plántulas de *Cinchona pubescens* en el invernadero

Tratamientos	Procedencia (A1-A2)	Micorrizas (B1-B2)	Nutrientes (C1, C2, C3, C4)	Código	Número de repeticiones
T1	Loja	Vivas	Nitrógeno	A1B1C1	48
T2	Loja	Vivas	Fósforo	A1B1C2	48
T3	Loja	Vivas	Nitrógeno & Fósforo	A1B1C3	48
T4	Loja	Vivas	Control	A1B1C4	48
T5	Loja	Esterilizadas	Nitrógeno	A2B1C1	48
T6	Loja	Esterilizadas	Fósforo	A2B1C2	48
T7	Loja	Esterilizadas	nitrógeno & fósforo	A2B1C3	48
T8	Loja	Esterilizadas	Control	A2B1C4	48
T9	Galápagos	Vivas	Nitrógeno	A1B2C1	48
T10	Galápagos	Vivas	Fósforo	A1B2C2	48
T11	Galápagos	Vivas	Nitrógeno & Fósforo	A1B2C3	48
T12	Galápagos	Vivas	Control	A1B2C4	48
T13	Galápagos	Esterilizadas	Nitrógeno	A2B2C1	48
T14	Galápagos	Esterilizadas	Fósforo	A2B2C2	48
T15	Galápagos	Esterilizadas	Nitrógeno & Fósforo	A2B2C3	48
T16	Galápagos	Esterilizadas	Control	A2B2C4	48

#### 3.3.4. Distribución de las fundas en el invernadero

La distribución de las fundas en el invernadero se realizó de una manera completamente aleatoria. Para aleatorizar las fundas sobre las mesas del invernadero, se asignó un número aleatorio a cada código de los tratamientos, con la ayuda del programa Excel (“random number”). De esta manera las plántulas quedaron distribuidas aleatoriamente en cada mesa según los tratamientos aplicados en el invernadero (Ver Anexo 2).

Se tuvo 48 plántulas de cada tratamiento, y en total en 768 de todo el experimento.

### **3.3.5. Trasplante en el invernadero**

Las plántulas de *C. pubescens* provenientes del laboratorio, se trasplantaron luego de tres meses de permanecer en el invernadero. Para esto se mezcló 3 partes de arena con 1 de tierra negra de páramo (relación 3:1) y se lo esterilizó en las carretillas eléctricas. Con este sustrato se procedió a llenar fundas de polietileno de 5x7 pulgadas y se colocó una etiqueta de plástico con el código correspondiente al tratamiento.

El inóculo de micorrizas vivas y micorrizas esterilizadas se aplicó en las fundas antes del trasplante. Para esto se extrajo la tercera parte del sustrato de la funda y se lo mezcló con los 18 g de inóculo. Luego se llenó nuevamente la funda con el sustrato mas el inóculo, haciendo un hoyo con una estaca en el centro de la misma. Se sacó las plántulas cuidadosamente de los germinadores, se las limpió del sustrato para tener la raíz desnuda y se colocó la plántula en la funda, apelmazando suavemente para no dañar sus raíces.

De una manera ordenada se sembró las plántulas de cada procedencia y tratamiento. Por ejemplo, se sembró primero las plántulas de Loja con micorrizas vivas, luego las de Galápagos con micorrizas vivas y después las de Loja y Galápagos con micorrizas esterilizadas. Se sembraron 48 plántulas por tratamiento, teniendo 384 plántulas por procedencia y un total de 768 plántulas distribuidas aleatoriamente en el invernadero. Al final se procedió a regar todas las plantas con agua destilada.

### **3.3.6. Clasificación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares**

En el laboratorio de Fisiología Vegetal se realizó la clasificación de los diferentes morfotipos y clasificación morfológica de los HMA, este proceso se desarrolló en base a las esporas encontradas en el suelo de Loja y en el suelo de Galápagos. La identificación de las esporas micorrízicas, se realizó para el suelo colectado de los alrededores de los árboles de *C. pubescens* de cada procedencia para asegurar que contengan esporas de HMA.

La metodología utilizada para la separación de esporas fue tomada de (Gerdemann y Nicholson 1963) y consiste en lo siguiente:

Se pesó 100 g de suelo de cada procedencia, las muestras de suelo fueron colocadas en vasos de precipitación y se agregó agua destilada. Se mezcló y agitó el suelo por varios minutos hasta disolver por completo la parte sólida.

Se filtró la mezcla en tamices de 125 y 38 micras respectivamente en orden de mayor a menor. Se recogió el contenido de cada tamiz y se colocó en tubos Eppendorf (1,5 ml de volumen) con una solución de sacarosa al 70 %, luego los mismos fueron colocados en una centrífuga a 15000 revoluciones por minuto (RPM) por 3 minutos.

Se dejó reposar por varios minutos y luego se tomó el sobrenadante de los tubos y se colocó en el tamiz más pequeño (38  $\mu\text{m}$ ), se enjuagó con agua destilada y se almacenó nuevamente en los tubos Eppendorf con alcohol al 70 % para conservar las esporas.

La parte restante del suelo centrifugado de los tubos también se pasó por el tamiz de 38  $\mu\text{m}$  y se enjuagó varias veces con agua destilada y se almacenó en tubos con alcohol. Luego se colocó el contenido de los tubos en cajas Petri y bajo un estereoscopio se extrajo las esporas con una pipeta Pasteur de vidrio, contabilizando y almacenando nuevamente en los tubos Eppendorf para su posterior clasificación.

Se procedió a separar las esporas según su morfotipo; primeramente se dividió las esporas según sus características más relevantes, como el color, el tamaño y la forma y se las separó en tubos debidamente etiquetados.

Posteriormente, se procedió a realizar los montajes de las esporas de cada procedencia, en placas de vidrio, agregando una gota de Reactivo de Melzer (teñidor que sirve para dar color a las esporas y facilitar la observación de sus características principales) y una gota de Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG). Luego se llevaron las placas al microscopio, bajo el lente de 40x, se observó las estructuras de los morfotipos y se hizo mediciones para determinar a qué género pertenecen, de acuerdo a la metodología de (Gerdemann y Nicholson 1963).

#### **3.3.6.1. Determinación de la colonización micorrizal**

Esta metodología se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología Vegetal. Para determinar la colonización de las micorrizas en las raíces de los árboles de *C. pubescens*, de Loja y

Galápagos se realizó la tinción de las raíces, con el fin de observar las diferentes estructuras de las micorrizas, como arbuscúlos, vesículas e hifas. Para esto se utilizó la metodología modificada y adaptada de (Koske y Gemma 1989) y (Schmidt y Reeves 1984), la misma que se detalla a continuación.

Primeramente, se extrajo las raíces más finas de los árboles de la parte alta de la isla Santa Cruz y las raíces más finas de los árboles de Celica, se las lavó con agua destilada. Las raíces fueron cortadas en segmentos de 1 cm y colocadas en tubos Eppendorf (10 segmentos por procedencia). Luego se llevó a cabo los siguientes pasos:

Se agregó hidróxido de potasio (KOH) al 2,5 % y se colocaron las muestras en la estufa a 65° C durante 9 horas.

Se desechó el KOH y se enjuagó las raíces 4 veces con agua destilada y se agregó ácido clorhídrico (HCl) al 1 %, dejando las raíces a temperatura ambiente por la noche.

Se desechó el HCl y se agregó azul de tripano (0,05 %) en glicerol acidificado (50 ml de glicerol, 45 ml de agua destilada, 5 ml de ácido clorhídrico al 1 %); se colocó los tubos Eppendorf en la estufa a 65° C por 9 horas.

Se desechó el azul de tripano y se enjuagó las raíces 3 veces con agua destilada.

Las raíces fueron dejadas en una solución de destinción (glicerol acidificado) por 3 días y se realizó el montaje de las raíces en placas de vidrio con PVLG para observar sus estructuras.

Se colocaron 5 segmentos de raíces de 1 cm en cada placa, 2 placas por procedencia y bajo el microscopio con el lente de magnificación de 40 (40 x) se evaluó cada raíz según la metodología de (Trouvelot et al. 1986). Con este método se asignó un porcentaje de 0 a 100 % de acuerdo a la presencia de las hifas, arbuscúlos, vesículas y coils de las micorrizas (Ver Anexo 5 y 6). En la Figura 3. se muestra el porcentaje de colonización de las micorrizas en segmentos de raíces de 1cm.

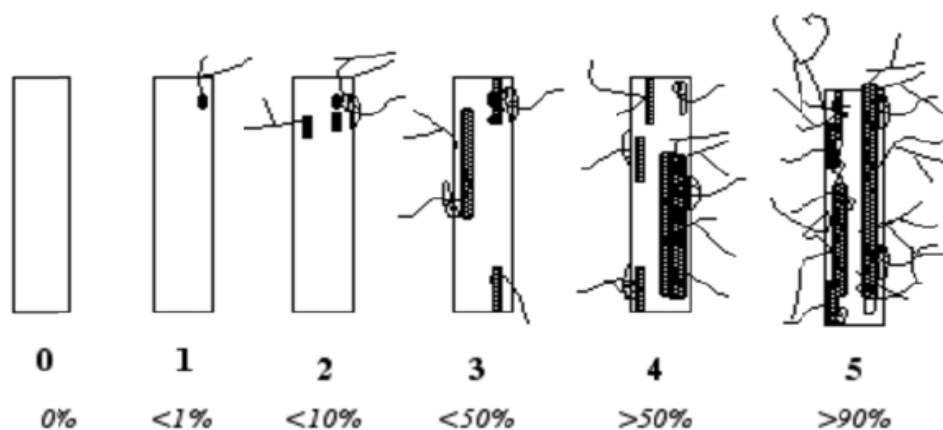


Figura 3. Determinación de la colonización micorrizial en clases de 0 a 5.

### 3.3.7. Aplicación de los nutrientes a las plántulas de *Cinchona pubescens* en el invernadero

Los nutrientes que se aplicaron a las plántulas de acuerdo a cada tratamiento se detallan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Nutrientes que se aplicaron a las plántulas de *Cinchona pubescens* en el invernadero, con diferentes concentraciones de acuerdo a cada tratamiento.

Componente de elemento químico	Solución madre Gramos por litro de agua	Cantidad de ml tomados de la solución madre y diluidos en 20 litros de agua			
		*T1	*T2	*T3	*T4
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	80	10	1	10	1
KNO <sub>3</sub>	202	25	2,5	25	2,5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136	0,5	5	5	0,5
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	493	5	5	5	5
CaCl <sub>2</sub>	111	20	20	20	20

\*T1: Tratamiento de nitrógeno; T2: tratamiento de fósforo; T3: tratamiento de nitrógeno + fósforo; T4: control.

Como se observa en el cuadro 4, se aplicaron los mismos nutrientes a todas las plántulas de *C. pubescens*, pero dependiendo de cada tratamiento la concentración de los mismos fue diferente.

Por ejemplo, para preparar el Tratamiento 1 (T1), se utilizó 10 ml de (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), 25 ml de (KNO<sub>3</sub>), 0,5 ml de (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 5 ml de (MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O) y 20 ml de (CaCl<sub>2</sub>), se los mezcló en un chimbuzo con 20 litros de agua destilada; y además, se agregó 5 ml de una solución de micronutrientes, y 5 ml de una solución de hierro. De igual manera se prepararon los demás tratamientos (T2, T3 y T4), de acuerdo a la concentración que se indica en el cuadro 4.

Para preparar la solución de micronutrientes se utilizó lo siguiente: 2,86 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1.81 g de MnCl<sub>2</sub>, 0.22 g de ZnSO<sub>4</sub>, 0.05 g de CuSO<sub>4</sub> y 0.12 g de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.

La solución de hierro se preparó con los siguientes componentes: 56.1 g de KOH, 10.4 g de EDTA.2Na y 7.8 g de FeSO<sub>4</sub>.

Cada plántula recibió la cantidad de 20 ml del tratamiento correspondiente, y se lo aplicó dos veces al mes durante los primeros cuatro meses. Luego de esto se realizó la aplicación de los tratamientos una vez a la semana.

### **3.3.8. Evaluación del crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens***

La evaluación de las plántulas se realizó una vez al mes, durante seis meses, a partir de la primera aplicación de los nutrientes. Se midió la altura de las plántulas (cm), el diámetro del tallo (mm) y el número de las hojas. Para medir la altura de las plántulas con micorrizas y sin micorrizas, se utilizó dos reglas de plástico; una regla se utilizó para medir solamente las plántulas que recibieron micorrizas, y la otra para medir las plántulas sin micorrizas. Esto se hizo con el fin de evitar la contaminación del suelo a través de las esporas de las micorrizas (Ver Anexo 2: foto 7 y 8). La matriz utilizada para la toma de datos se presenta en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Hoja de monitoreo para la evaluación del crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens* de Loja y de Galápagos en el invernadero.

Monitoreo del crecimiento de plántulas de <i>Cinchona pubescens</i>					
Fecha:					
Código	N° de planta	Altura (cm)	Diámetro (mm)	N° de hojas	Observación
<b>A1B1C1</b>					
<b>A1B1C2</b>					
<b>A1B1C3</b>					
...					
...					
...					

### 3.3.9. Cosecha de las plántulas de *Cinchona pubescens*

Luego de seis meses de monitoreo de las plántulas en el invernadero, se realizó la cosecha para evaluar el porcentaje de micorrización y determinar la cantidad de biomasa de las mismas.

Primeramente se sorteó las plántulas a ser cosechadas con programa Excel (“random number”). De las 48 plántulas inicialmente sembradas por tratamiento, se sortearon 10 plántulas por cada tratamiento, lo que equivale al 21 %; en total se cosecharon 160 plántulas de todo el experimento.

Las plántulas fueron extraídas cuidadosamente de las fundas, limpiando manualmente los restos de tierra; se cortó la raíz y se lavó con agua destilada, luego se midió el largo de la raíz y el largo del tallo, las dos partes de la planta se colocaron en fundas de papel por separado para luego ser pesadas y llevadas a la estufa a una temperatura de 60° C por 48 horas; luego las muestras fueron pesadas nuevamente, con estos datos se determinó el peso de la biomasa con la siguiente fórmula:

$$B = \text{peso seco} * r$$

Donde

B= biomasa



$$“r” = \frac{\text{peso seco}}{\text{peso fresco}}$$

Para registrar los datos de la cosecha se utilizó la matriz que se presenta en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Matriz para registrar los datos de la cosecha de las plántulas de *Cinchona pubescens*

N° de Planta	Código Tratamiento	Tallo			Raíz		
		largo (cm)	peso fresco (g)	peso seco (g)	largo (cm)	peso fresco (g)	peso seco (g)
1							
2							
3							
...							
...							
...							

Para determinar la micorrización en las raíces de las plántulas de *C. pubescens*, se sacó los segmentos más finos de las raíces de 3 plántulas por cada tratamiento y se realizó el mismo procedimiento de la tinción y evaluación de la micorrización de las raíces de los árboles de *Cinchona* de Loja y de Galápagos.

### 3.3.10. Análisis Estadístico

El análisis de los datos obtenidos del crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens* de Loja y de Galápagos en el invernadero se realizó con el Software “Minitab” con el cual se hizo un Análisis de Varianza (ANOVA), estableciendo diferencias significativas con el test de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

### 3.4. Difusión de los resultados obtenidos

La difusión de los resultados se realizó mediante la elaboración de trípticos con la información más relevante de la presente investigación. Además, se elaboró un póster ilustrativo con los resultados de la misma, los cuales están a disposición de las personas interesadas.

Durante el desarrollo del presente trabajo de investigación se desarrollaron varias visitas de estudiantes y demás personas interesadas en conocer la metodología aplicada y los resultados obtenidos hasta el momento de la visita.

También se elaboró un artículo científico con los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación; el mismo que está sometido en una revista para su posterior publicación.

Además, los resultados también se difundieron en la exposición final de la tesis, en la carrera de Ingeniería Forestal, en donde estuvieron presentes estudiantes y docentes.

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Germinación de *Cinchona pubescens* a nivel de laboratorio, con semillas de dos procedencias Loja y Galápagos

La germinación de las semillas de *Cinchona pubescens* de ambas procedencias, Loja y Galápagos a nivel de laboratorio, sobrepasó el 80 %. La curva de germinación empieza su ascenso a los 17 días y se estabiliza a los 50 días (ver Figura 4).

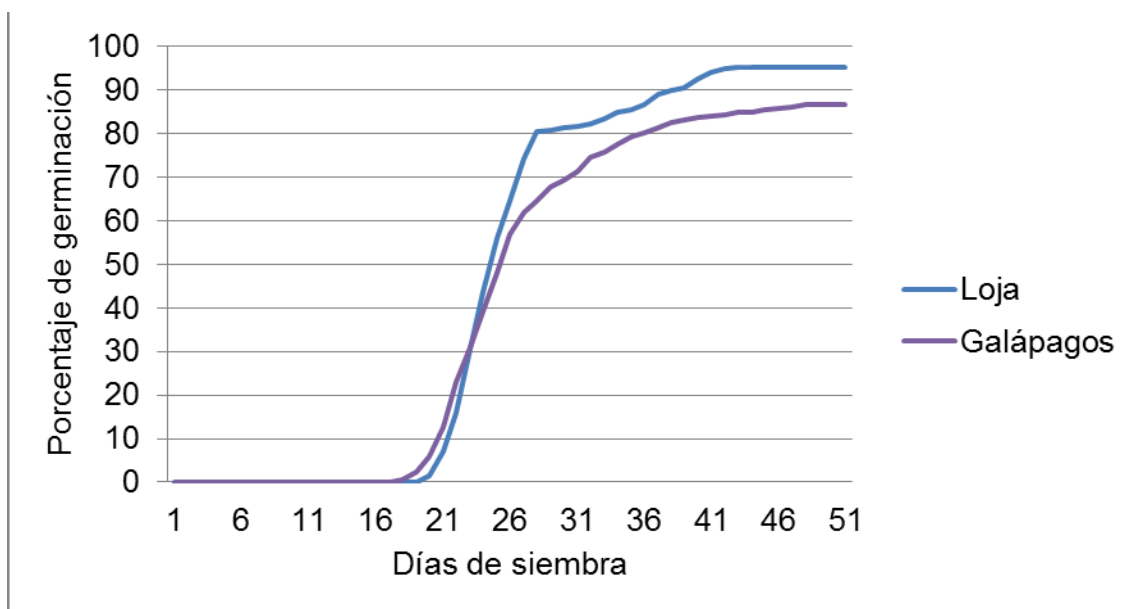


Figura 4. Germinación de las semillas de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos a nivel de laboratorio.

La germinación de las semillas de Loja fue mayor que la germinación de las semillas de Galápagos, alcanzando un 95,2 % mientras que las de Galápagos obtuvieron un 86,6 % de germinación del total de 800 semillas.

## 4.2. Evaluación del crecimiento y respuesta al trasplante de las plántulas de *Cinchona pubescens*, de las dos procedencias, en el invernadero.

### 4.2.1. Altura de las plántulas en el invernadero

La primera variable a evaluar para comparar el crecimiento de las plántulas de *C. pubescens* de Loja y Galápagos fue la variable “altura”. Los datos que se presentan a continuación son el resultado del monitoreo mensual, durante seis meses, del crecimiento en altura de las plántulas a nivel de invernadero, medido en centímetros. Se observa mayor crecimiento en las plántulas de Galápagos sin micorrizas, que alcanzaron un crecimiento promedio de 6,8 cm, mientras que las plántulas de Loja con micorrizas tuvieron un promedio de 5,9 cm en altura (Ver Figura 5).

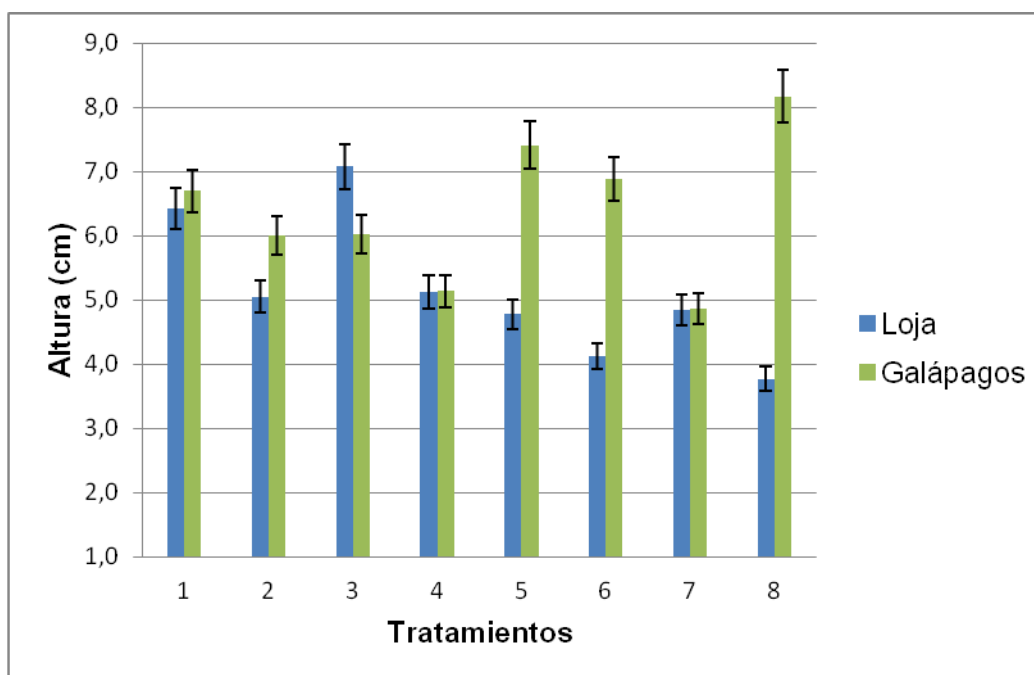


Figura 5. Crecimiento promedio y desviación estándar de las plántulas de los diferentes tratamientos de *Cinchona pubescens* a nivel de invernadero. (Las líneas verticales representan la desviación estándar.)

#### 4.2.1.1. Análisis de las varianzas para Altura

En el Cuadro 7, se indica que para el factor procedencia, y la interacción entre procedencia versus micorrizas si existen diferencias significativas, ya que el valor de P es < que 0,05. Con un nivel de confianza del 95 %.

Cuadro 7. Análisis de Varianza realizado para la variable “altura” con la interacción de los tres factores

Origen de las variaciones	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Procedencia	1	172,10	137,45	137,45	12,70	0,000
Micorrizas	1	0,11	4,58	4,58	0,42	0,516
Nutrientes	3	41,66	33,31	11,10	1,03	0,381
Procedencia*Micorrizas	1	109,95	91,59	91,59	8,46	0,004
Procedencia*Nutrientes	3	43,24	69,77	23,26	2,15	0,094
Micorrizas*Nutrientes	3	50,81	55,74	18,58	1,72	0,164
Procedencia*Micorrizas*Nutrientes	3	37,80	37,80	12,60	1,16	0,324
Error	305	3300,70	3300,70	10,82		
Total	320	3756,36				

S = 3,28967 R-Sq = 12,13% R-Sq(adj) = 7,81%

DF: grados de libertad; Seg SS: sumatoria de cuadrados; Adj MS: promedio de cuadrados; F: valor crítico de f; P: probabilidad.

#### 4.2.2. Incremento diamétrico de las plántulas en el invernadero

Otra variable que se tomó en cuenta para comparar el crecimiento de las plántulas de *C. pubescens* de Loja y Galápagos fue el “diámetro”. A simple vista se pudo apreciar que hubo mayor incremento diamétrico en las plántulas de Galápagos (13,3 mm), mientras que las plántulas de Loja alcanzaron 11,1 mm. Los datos obtenidos corresponden a la evaluación

mensual del diámetro durante seis meses. En la Figura 6, se presentan los resultados del incremento diamétrico de las plántulas en el invernadero.

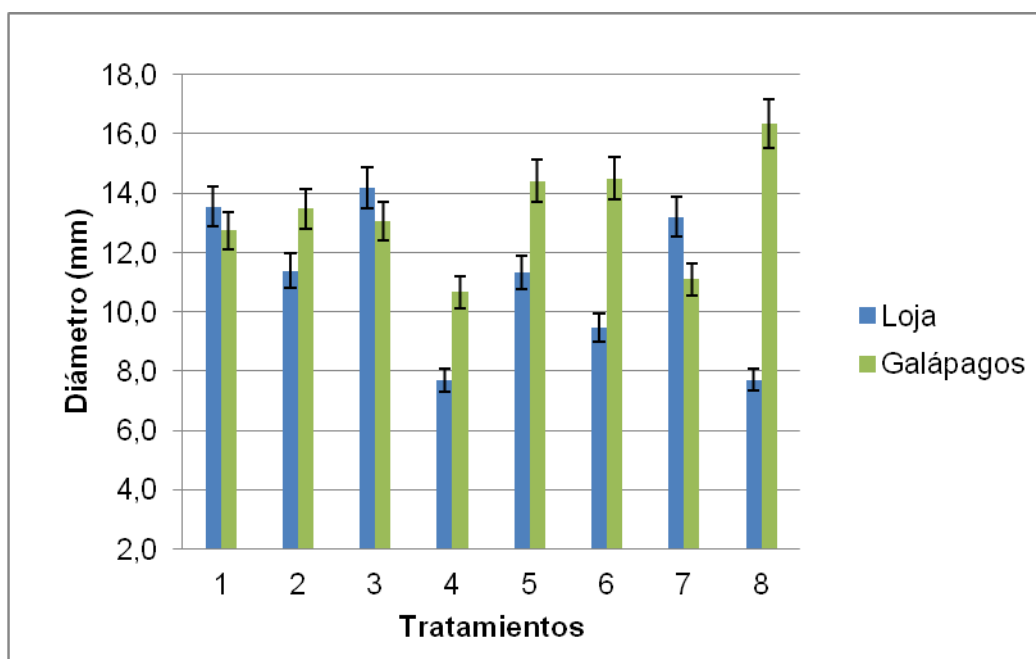


Figura 6. Incremento diamétrico promedio y desviación estándar de las plántulas de los diferentes tratamientos de *Cinchona pubescens* a nivel de invernadero. (Las líneas verticales representan la desviación estándar.)

#### 4.2.2.1. Análisis de las varianzas para Diámetro

Según el análisis de varianzas para el diámetro, no se encontraron diferencias significativas entre los factores y las interacciones analizados, (nivel de confianza: 95 %) (Ver Cuadro 8).

Cuadro 8. Análisis de varianza realizado para el “incremento diamétrico” con la interacción de los tres factores

Origen de las variaciones	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Procedencia	1	277,43	230,50	230,50	3,51	0,062
Micorrizas	1	22,02	3,19	3,19	0,05	0,826

Nutrientes	3	147,54	100,21	33,40	0,51	0,677
Procedencia*Micorrizas	1	211,98	194,29	194,29	2,96	0,086
Procedencia*Nutrientes	3	229,44	288,57	96,19	1,46	0,224
Micorrizas*Nutrientes	3	242,52	254,39	84,80	1,29	0,278
Procedencia*Micorrizas*Nutrientes	3	60,26	60,26	20,09	0,31	0,821
Error	305	20033,47	20033,47	65,68		
Total	320	21224,65				

S = 8,10454 R-Sq = 5,61% R-Sq(adj) = 0,97%

DF: grados de libertad; Seg SS: sumatoria de cuadrados; Adj MS: promedio de cuadrados;  
F: valor crítico de f; P: probabilidad.

#### 4.2.3. Biomasa

En la Figura 7, se presentan los resultados obtenidos de la determinación de la biomasa, a partir de la cosecha de las plántulas. Se puede observar que se produjo mayor cantidad de biomasa en las plántulas de Galápagos en casi todos los tratamientos. Se determinó un peso de 0,7 g de biomasa como promedio de las plántulas de Galápagos, y 0,6 g de biomasa para las plántulas de Loja.

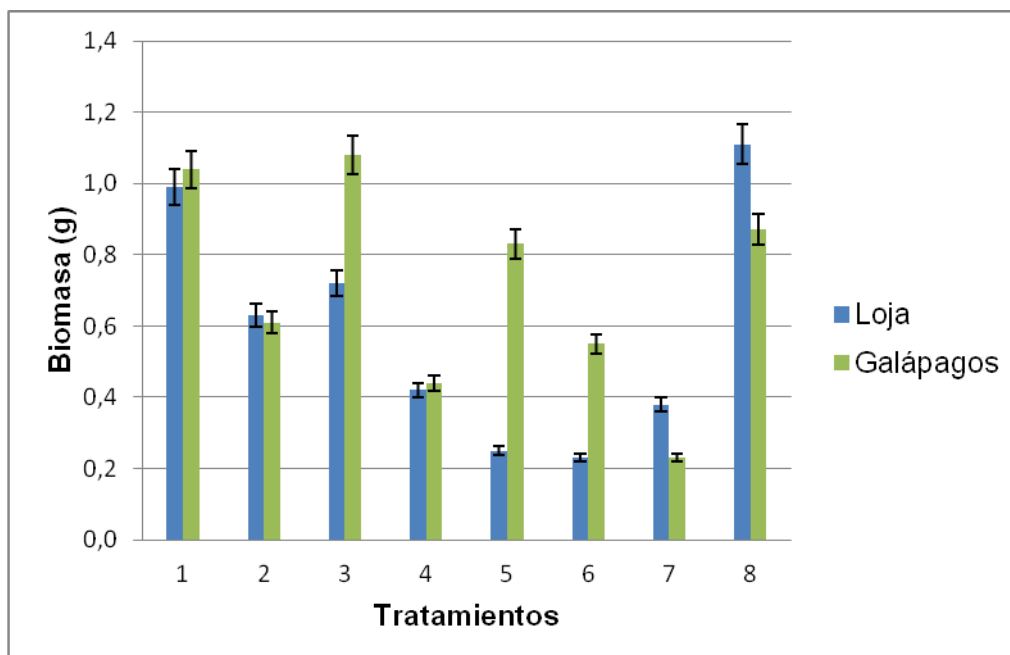


Figura 7. Promedio de la Biomasa y desviación estándar obtenida de la cosecha de las plántulas de *C. pubescens* de Loja y de Galápagos en el invernadero. (Las líneas verticales representan la desviación estándar.)

#### 4.2.3.1. Análisis de varianza para la biomasa

En el análisis de varianzas para “biomasa”, no se encontraron diferencias significativas entre los factores y las interacciones analizados. En el cuadro 9, se presentan los datos obtenidos. (nivel de confianza: 95 %).

Cuadro 9. Análisis de varianza realizado para la variable “biomasa” con la interacción de los tres factores

Origen de las variaciones	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Procedencia	1	0,505	0,505	0,505	0,37	0,545
Micorrizas	1	1,357	1,357	1,357	0,99	0,322
Nutrientes	3	1,737	1,737	0,579	0,42	0,737
Procedencia*Micorrizas	1	0,007	0,007	0,007	0,01	0,943



Procedencia*Nutrientes	3	0,886	0,886	0,295	0,22	0,886
Micorrizas*Nutrientes	3	8,159	8,159	2,720	1,98	0,119
Procedencia*Micorrizas*Nutrientes	3	1,819	1,819	0,606	0,44	0,723
Error	144	197,528	197,528	1,372		
Total	159	211,998				

S = 1,17121 R-Sq = 6,83% R-Sq(adj) = 0,00%

DF: grados de libertad; Seg SS: sumatoria de cuadrados; Adj MS: promedio de cuadrados;  
F: valor crítico de f; P: probabilidad.

En este análisis no se detectó diferencias significativas entre los factores e interacciones analizados.

#### 4.2.4. Sobrevivencia de las plántulas en el invernadero

El porcentaje de sobrevivencia de las plántulas de *C. pubescens* se determinó con los datos del último monitoreo, a los seis meses. Se pudo apreciar a simple vista que hubo mayor sobrevivencia en las plántulas de Galápagos, que alcanzaron un promedio de 43,8 %, lo que equivale a 168 plántulas vivas; mientras que las plántulas de Loja tuvieron una sobrevivencia de 39,8 %, es decir 153 plántulas vivas. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 8.

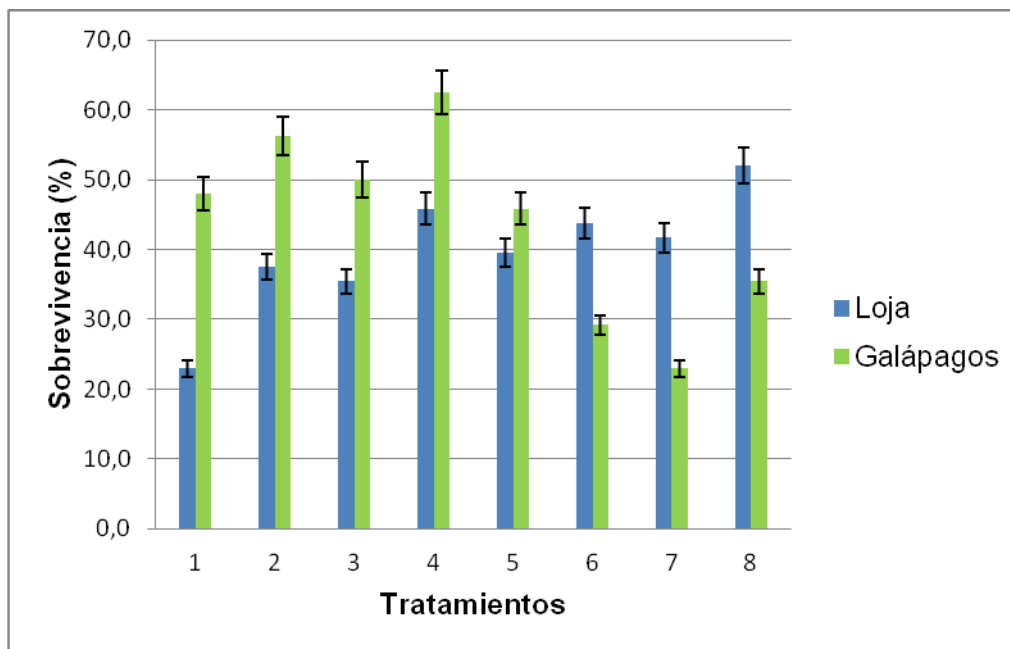


Figura 8. Porcentaje de sobrevivencia y desviación estándar de las plántulas de *Cinchona pubescens* después de la aplicación de los diferentes tratamientos. (Las líneas verticales representan la desviación estándar.)

#### 4.2.5. Micorrización de las plántulas de *Cinchona pubescens* en el invernadero

La colonización se dio a partir del trasplante en el invernadero. Al contrario de las otras variables, la micorrización fue más alta para las plántulas de Loja que para las de Galápagos. Las plántulas que fueron inoculadas con micorrizas vivas alcanzaron un promedio de colonización de 58,75 % para Loja, y 46,25 % para Galápagos. En las plántulas inoculadas con micorrizas esterilizadas el porcentaje de colonización no llegó al 1 % en ambas procedencias; las plántulas de Loja obtuvieron 0,7 % de colonización, mientras que las de Galápagos solo el 0,5 %, en promedio.

El porcentaje de micorrización de las plántulas de *C. pubescens* de todos los tratamientos se presenta en la Figura 9.

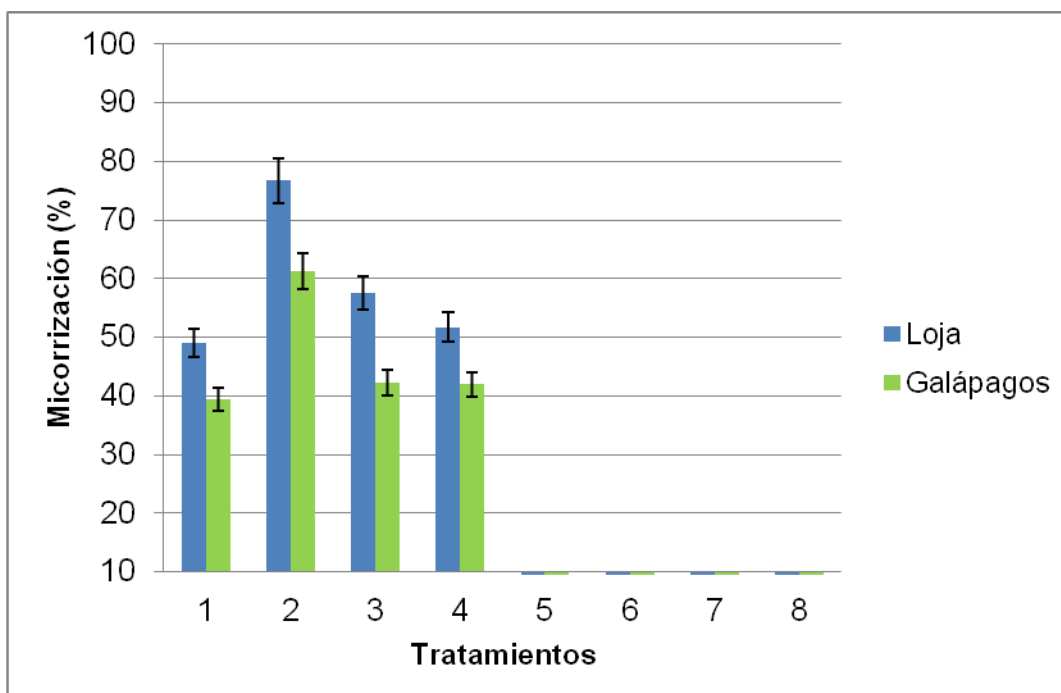


Figura 9. Porcentaje de colonización de las micorrizas y desviación estándar en los diferentes tratamientos aplicados a las plántulas de *Cinchona pubescens* en el invernadero. (Las líneas verticales representan la desviación estándar.)

#### 4.2.5.1. Clasificación morfológica de las esporas micorrízicas obtenidas del suelo de Loja y Galápagos.

En forma preliminar, se identificó tres posibles géneros de micorrizas, de las esporas obtenidas del suelo de Galápagos y del suelo de Loja. En el cuadro 10, se presentan los géneros obtenidos para ambas procedencias.

Cuadro 10. Cuadro resumen de la Clasificación Morfológica de los HMA

Procedencia	Posible Género	Número de esporas
Loja	<i>Glomus</i>	25
	<i>Acaullospora</i>	15
	<i>Scutellospora</i>	3
Galápagos	<i>Glomus</i>	21
	<i>Acaullospora</i>	15
	<i>Scutellospora</i>	10

En el Anexo 3 y 4, se presentan todos los datos obtenidos para la clasificación morfológica de las esporas de los HMA, con el debido respaldo fotográfico.

#### 4.2.5.2. Colonización de las micorrizas en las raíces de los árboles de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos

Luego de hacer la tinción de las raíces de los árboles de *Cinchona* de Loja y Galápagos, en el laboratorio, se obtuvo un porcentaje de colonización muy bajo; 33,75 % y 36,25 % para Loja y Galápagos, respectivamente. En el cuadro 11, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de estas raíces:

Cuadro 11. Datos obtenidos en la evaluación de la colonización de HMA en los árboles de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos.

Procedencia	Montaje	Raíz (segmentos)	Colonización HMA (%)	Clase	Observaciones	
Loja	placa 1	1	60	IV	Hifas	
		2	50	IV		
		3	50	IV		
		4	40	III		
	placa 2	1	10	III	Vesículos	
		2	20	III		
		3	10	III		
		4	30	III		
			Total	33,75	III	
	Galápagos	placa 1	1	40	III	Hifas
2			20	III		
3			50	IV		
4			40	III		
placa 2		1	10	III	Coils	
		2	60	IV		
		3	10	III		
		4	60	IV		
			Total	36,25	III	

### **4.3. Difusión de los resultados**

Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron publicados a través de trípticos informativos (Ver Anexo 5). Además de la elaboración de un poster ilustrativo (Anexo 6).

También se cumplieron con las visitas de estudiantes de las carreras de Ingeniería Forestal e Ingeniería Ambiental, durante las pasantías realizadas bajo la dirección del Ingeniero Darling Gonzáles, en donde conocieron la metodología aplicada y los resultados obtenidos en el presente trabajo hasta el momento de la visita.

Forma parte de esta difusión el artículo científico titulado “Evaluación del crecimiento de dos procedencia de *Cinchona pubescens* con la aplicación de micorrizas y nutrientes a nivel de invernadero”.

## 5. DISCUSIÓN

En el presente capítulo se analiza la información generada con cada uno de los objetivos planteados.

### 5.1. Germinación de semillas de *Cinchona pubescens* de Loja y de Galápagos, a nivel de laboratorio.

Según Armijos y Pérez (2011), en ensayos de germinación realizados sobre papel absorbente se determinó que *C. officinalis*, *C. pubescens* y *Cinchona sp.*, sin tratamientos pre-germinativos tuvieron un porcentaje promedio de germinación de 60 %, pero el tiempo supera los 90 días. En la presente investigación se obtuvo un porcentaje más alto en menos tiempo, las semillas de *Cinchona pubescens* de Loja, alcanzaron 95 %, mientras que las semillas procedentes de Galápagos alcanzaron el 87% de germinación a los 50 días de la siembra. 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 resultados obtenidos en el presente estudio indican que se alcanzó un alto porcentaje en ambas procedencias.

La razón probable por la cual se obtuvo menor porcentaje de germinación con las semillas de Galápagos, fue porque las semillas pierden rápidamente su viabilidad Nair (1980); ya que éstas fueron colectadas siete meses antes que las semillas de Loja. Rentería (2002), indica que las semillas de *Cinchona* en Galápagos perdieron su viabilidad después de aproximadamente un año. 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 (Moreno 1996).

### 5.2. Evaluación del crecimiento y respuesta al trasplante de *Cinchona pubescens* de Loja y de Galápagos en el invernadero.

Con respecto al crecimiento, solamente en la variable altura existieron diferencias estadísticamente significativas en el factor procedencia y en la interacción micorrizas versus procedencias; pero no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Es decir, que los nutrientes aplicados a las plántulas no influyeron significativamente en su crecimiento; se evidenció que las plántulas provenientes de semillas de Galápagos

crecieron en altura 22,4 % más que las plántulas de semillas de Loja, es decir 1,3 cm más. En promedio, con respecto a los nutrientes las plántulas de Loja alcanzaron una altura de 5,1 cm y las plántulas de Galápagos 6,4 cm de altura.

Al existir diferencias significativas en la interacción entre micorrizas versus procedencias, se cree que las plántulas procedentes de Galápagos, en su primera fase de crecimiento, se desarrollan mejor sin estar asociadas con hongos micorrízicos, ya que en los datos obtenidos se pudo observar que hubo un mayor crecimiento de las plántulas en los tratamientos sin micorrizas (promedio de altura 6,8 cm); mientras que en los tratamientos con micorrizas el promedio de altura fue de 6 cm. En las plántulas de Loja ocurrió lo contrario, las plántulas que recibieron micorrizas alcanzaron un promedio de 5,9 cm y las que no recibieron micorrizas llegaron a un promedio de 4,4 cm de altura. Esto puede ser debido a que una misma especie de hongo no tiene el mismo efecto sobre todas las plantas de modo que, éstas responden de manera diferente a la micorrización (Guachón 2012). Por otro lado, la alta concentración de fósforo en el suelo, inhibe la acción de las micorrizas con las plantas a nivel de invernadero (N. Urgiles 2011 com. pers.).

Además, las características biológicas de *Cinchona pubescens* como planta invasora en Galápagos tales como: la abundante producción de semillas y un crecimiento muy rápido de las plántulas, según indica Jäger (2011) (crecen 1 metro por año y a la edad de 2 años ya producen semillas), pueden haber influido de alguna manera en su crecimiento en el invernadero, aun cuando estaban bajo las mismas condiciones que las plántulas de Loja.

En las otras variables analizadas como diámetro y biomasa, las plántulas de Galápagos, superaron a las plántulas de Loja; alcanzando un incremento diamétrico de 13,3 mm y un peso de 0,7 g de biomasa, las plántulas de Loja tuvieron 11,1 mm y 0,6 g de incremento diamétrico y biomasa, respectivamente. Pero no existieron diferencias significativas entre las procedencias, con micorrizas ni con la aplicación de los nutrientes. Sin embargo, Urgiles et al. (2009) si encontró diferencias significativas en el diámetro y biomasa entre plantas inoculadas con micorrizas y fertilizantes, y las plantas control.

Con respecto a los nutrientes, el crecimiento general de las plántulas se vio afectado posiblemente por la alta concentración de los mismos. Otro estudio sobre el efecto del

fósforo y el nitrógeno en el crecimiento de *Cinchona*, indica que su crecimiento puede ser limitado bajo ciertas condiciones, si la concentración de fósforo es demasiado alta. También indica que el requerimiento de fósforo de la *Cinchona* es relativamente bajo y que para el crecimiento óptimo, el fósforo debe estar disponible en la proporción correcta de nitrógeno (Loustalot y Winter 1947).

Aunque existió una alta tasa de mortalidad en las plántulas de ambas procedencias, las plántulas provenientes de las semillas de Galápagos tuvieron un porcentaje de sobrevivencia de 63 %, mientras que las plántulas de Loja alcanzaron un 52 % de sobrevivencia en el invernadero, 11 % menos que las de Galápagos. La alta concentración de los nutrientes en los diferentes tratamientos pudo ser una de las probables causas que provocaron la alta tasa de mortalidad de las plantas, ya que el exceso puede quemar las raíces provocando síntomas similares al exceso de agua y además, se debió considerar que mientras más fino sea el sistema radicular mayor debe ser la dilución del fertilizante (Silva 1999). El tamaño de las semillas también sería una desventaja, puesto por que su tamaño pequeño aporta con pocos nutrientes al crecimiento de la nueva planta y ésta depende muy pronto de los nutrientes disponibles en su medio, por lo que su riesgo de morir es muy alto (Perissé 2002).

Con respecto a las esporas micorrízicas obtenidos del suelo de Loja y Galápagos, los géneros encontrados, como *Glomus*, *Acaullospora* y *Scutellospora* son los más comunes que se presentan en la simbiosis micorrizas versus plantas (Dávila et al. 2009). Probablemente el tener solamente tres géneros de micorrizas en el suelo de ambas procedencias pudo influir para que el porcentaje de colonización de las mismas sea bajo en las plántulas de *C. pubescens* del invernadero. Aunque el género *Glomus* fue el más abundante para ambas procedencias, (25 esporas en suelo de Loja y 21 en suelo de Galápagos), Urgiles et al. (2005), indica que utilizar el número de esporas como una medida indicadora de la importancia de determinada especie de HMA en un suelo, es una evaluación sesgada favorablemente hacia las especies que esporulan más abundantemente; pues la capacidad de producir esporas varía entre las distintas especies. El hospedero puede ser selectivo en la reproducción de ciertos hongos micorrízicos arbusculares.



La colonización de las micorrizas evaluadas en las raíces de los árboles de *C. pubescens* de Loja alcanzó un 33,7 % y de Galápagos 36, 2 %, que los ubica en la clase III según la metodología de Trouvelot et al. (1986). En un estudio similar con *Alnus acuminata* y *Morella pubescens* Urgiles et al. (2010), obtuvo un porcentaje de colonización micorrizica de 50 % y 70 % para cada especie, ubicándolas en la clase III y IV respectivamente. La colonización fue representativa debido a la alta diversidad de HMA entre ellos *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora* descritos en el inóculo producido en el invernadero. En dicho estudio, también se comprobó que las plántulas que no recibieron el inóculo de micorrizas crecieron significativamente menos que las que recibieron el inóculo.

Por otro lado, las micorrizas que fueron esterilizadas e inoculadas en las plántulas de *C. pubescens* en el invernadero, posiblemente perdieron su efecto de colonización, ya que su porcentaje de micorrización en las raíces fue muy bajo; en las plántulas de Loja se obtuvo un promedio de 0,7 % de colonización, mientras que en las de Galápagos el promedio fue de 0,5 %.

## 6. CONCLUSIONES

- En el laboratorio, y bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, la germinación de *Cinchona pubescens* con semillas procedentes de Loja fue mayor que las semillas procedentes de Galápagos debido a que éstas últimas perdieron su viabilidad. En su lugar introducido como Galápagos el porcentaje de germinación va del 50 al 85 % según Jäger (2011) mientras que en su estado natural la regeneración por semillas es muy baja (Anda 2002).
- Las plántulas de *Cinchona pubescens* de las semillas procedentes de Galápagos, tuvieron estadísticamente un mayor incremento en la altura, donde se evidenció un crecimiento de 22,4 % más que las plántulas procedentes de Loja; esto debido posiblemente a las características propias de la especie como planta invasora en Galápagos, (crecimiento de 1-2 m al año).
- En cuanto al incremento diamétrico, las plántulas *Cinchona pubescens* de Loja alcanzaron un incremento promedio de 11,1 mm y las plántulas de Galápagos llegaron a 13,3 mm en un tiempo de seis meses. Sin embargo, las diferencias en el incremento diamétrico no fueron estadísticamente significativas para las procedencias de Loja y Galápagos.
- De igual manera los resultados de la determinación de la biomasa de las plántulas arrojó un promedio de 0,6 g para las plántulas de Loja y 0,7 g para las plántulas de Galápagos; datos que al realizar el análisis de varianzas no presentaron diferencias significativas.
- La sobrevivencia de las plántulas de *Cinchona pubescens* a nivel de invernadero, fue mayor en las plántulas procedentes de Galápagos (63 %), 11 % más que las plántulas de Loja; esto debido posiblemente, a características propias de la especie considerada invasora en Galápagos.
- Los tratamientos de: nitrógeno, fósforo, nitrógeno + fósforo y control no influyeron significativamente en las diferencias de crecimiento de las plántulas de *Cinchona*

*pubescens* a nivel de invernadero. debido posiblemente a que las concentraciones de las mismas no fue adecuada.

- Se encontraron tres posible géneros de las esporas de las micorrizas en el suelo de Loja y Galápagos: *Glomus*, *Acaullospora* y *Scutellospora*; estos géneros son los más comunes en las micorrizas.

- Las micorrizas esterilizadas no lograron una colonización significativa en las plántulas de *C. pubescens* que fueron inoculadas; el porcentaje de micorrización no llegó al 1 % en ambas procedencias.

## 7. RECOMENDACIONES

- Para la germinación de semillas de *Cinchona pubescens* a nivel de laboratorio, se recomienda utilizar en las cajas Petri un papel menos poroso, por ejemplo el papel filtro; para evitar que las raíces de las plántulas que germinan se introduzcan por los poros del papel y se destruyan al momento del trasplante.
- Se recomienda probar la germinación de *Cinchona pubescens*, directamente sobre sustrato estéril a nivel de vivero.
- Para evitar una alta tasa de mortalidad al momento del trasplante, se recomienda seguir una fase de aclimatación de las plántulas, para disminuir la pérdida de humedad en las mismas.
- Para la propagación de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA), se recomienda probar también otras especies como plantas hospederas, por ejemplo: *Lolium perenne*, *Allium cepa* o *Tagetes patula* por ser plantas de rápido crecimiento, y que también han sido utilizadas para este fin en otras investigación.
- Se recomienda realizar más trabajos investigativos que incluyan *Cinchona pubescens*, ya que en la actualidad, sólo se encuentran trabajos relacionados a su propagación “in vitro”, pero no, se realiza un seguimiento de su crecimiento.
- En ensayos con micorrizas, es mejor no utilizar nutrientes con alto contenido de fósforo, ya que este inhibe la acción de las micorrizas con las plantas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado C. y D. Encalada. 2010. Estudio fenológico, análisis y almacenamiento de semillas, de seis especies forestales nativas en el bosque tropical montano, potenciales para la reforestación en la Estación Científica San Francisco (ECSF). Tesis Ingeniero Forestal. Escuela de Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador, 88 p.
- Anda A. 2002. La Cascarilla. Ed. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja – Ecuador. 192 p.
- Armijos R. y C. Pérez. 2011. Germinación y multiplicación *in vitro* en *Cinchona pubescens* Vahl y *Cinchona officinalis* Linneo. Laboratorio de Fisiología Vegetal, Universidad Técnica Particular de Loja (Ecuador). Departamento de Biología Vegetal, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid (España). 10p.
- Cuenca P. 2006. Impacto de la hojarasca de Cascarilla (*Cinchona pubescens*) sobre la vegetación nativa de la isla Santa Cruz, Galápagos (Datos Preliminares). Journal of Ecology and application. 11 pp. Disponible en: <http://www.lyonia.org/downloadPDF.php?pdfID=2.467.1>. (Consultado marzo 1, 2011).
- Dávila L., C., Ramos y C. Rosales. 2009 Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares MA nativos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en maíz (*Zea mays*) bajo distintos tratamientos agronómicos. Tesis de Licenciado en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Facultad de Ciencias Básicas Y Educación. Universidad Popular del Cesar. Valledupar, Colombia, 97p.
- Frank A. 1885. On the root symbiosis depending nutrition through hypogeous fungi of certain trees. Proc. Amer. Conf. Myc, 6:18-25.

- Fundación Charles Darwin. 2011. Especies invasoras de Galápagos: malezas maléficas. Disponible en: <http://www.hear.org/galapagos/invasoras/temas/manejo/plantas/index.html>. (Consultado marzo 21, 2011).
- Garmendia S. 2005. El árbol de la Quína (*Cinchona spp.*). Distribución, caracterización de su hábitat y arquitectura. Editorial Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.
- Gerdemann J. y T. Nicholson. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society, 46: 235-244.
- Global Invasive Species Database (ISSG) 2006. *Cinchona pubescens*. Disponible en: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp> (Consultado marzo 1, 2011).
- Global Invasive Species Program (GISP). 2002. Global Invasive Species Database: Ecology of *Cinchona pubescens*. Disponible en: <http://www.issg.org/> (Consultado marzo 1, 2011).
- Günter S., B. Stimm y M. Weber. 2004. Silvicultural contributions towards sustainable management and conservation of forest genetic resources in Southern Ecuador. Lyonia 6, 1: 75-91. Disponible en: [http://www.lyonia.org/articles/rbusmann/article\\_307/pdf/article.pdf](http://www.lyonia.org/articles/rbusmann/article_307/pdf/article.pdf) (Consultado marzo 2, 2011).
- Guzmán S. y J. Farías. 2005. Biología y regulación molecular de la micorriza Arbuscular, Avances en Investigación Agropecuaria, 9:17-31.
- Guachón M. y M. Prado. 2012. Evaluación del efecto del inóculo Micorrízico arbuscular en el crecimiento de *Cinchona pubescens* y *Cinchona officinalis* en condiciones de

vivero. Tesis Bioquímico – Farmacéutico. Escuela de Bioquímica y Farmacia, Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador, 86 p.

International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). 2011. Disponible en:  
<http://www.invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/classification.htm> (Consultado marzo 1, 2011).

International Plant Nutrition Institute. 2011. Importancia del fósforo en el suelo. Disponible en:  
[http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/\\$webindex/0D2745E9793640FD06256AAE00136ECB?opendocument&navigator=home+page](http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/$webindex/0D2745E9793640FD06256AAE00136ECB?opendocument&navigator=home+page) (Consultado marzo 1, 2011).

International Plant Nutrition Institute. 2011. Importancia del potasio en el suelo. Disponible en:  
[http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/\\$webindex/9EC7575DCDE53D4786256AB100208547?opendocument&navigator=home+page](http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/$webindex/9EC7575DCDE53D4786256AB100208547?opendocument&navigator=home+page) (Consultado marzo 1, 2011).

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 2007. International rules for seed testing. Edition 2007. Adopted at the ordinary Meeting 2006, Glattbrugg/Zurich, Switzerland to become effective on 1<sup>st</sup> January 2007 288 p.

Jäger H. 2011. *Cinchona pubescens*. Enzyklopädie der Holzgewächse. Wiley VCH Verlag, Weinheim, Alemania (in press).

Jäger H., I. Kowarik y A. Tye. 2009. Destruction without extinction: long-term impacts of an invasive tree species on Galápagos highland vegetation. *Journal of Ecology* 97: 1252-1263.

- León D. 2006. Evaluación y Caracterización de Micorrizas Arbusculares asociadas a Yuca (*Manihot esculenta sp*) en dos regiones de la amazonia colombiana. Trabajo de tesis para el título de microbiólogo, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Loján P. y C. Carrillo. 2007. Establecimiento de cultivos monospóricos de hongos micorrízicos arbusculares en *Plantago lanceolata* y *Lolium perenne*. Tesis Ingeniero Agropecuario. Escuela de Ingeniería Agropecuaria, Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador. 56 p.
- Loustalot A. y H. Winter. 1947. The effect of three factorial levels of nitrogen and phosphorus on the growth and composition of *Cinchona ledgeriana*.
- Mahecha G., A. Ovalle, D. Camelo, A. Rozo y D. Barrero. 2004. Vegetación del territorio CAR. 450 especies de sus llanuras y montañas. Bogotá, Colombia, 871 p.
- 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>. (Consultado septiembre 17, 2012).
- Nair P. 1980. Agroforestry species. A crop sheet manual. ICRAF. Nairobi, Kenya, 336 p.
- World Agroforestry Centre. 2011. Nutrientes de las plantas. Publicación. Disponible en: <http://www.worldagroforestry.org/NurseryManuals/CommunityESP/LosNutrientes.pdf> (Consultado marzo 2, 2011)
- Ocampo M., L. Gallego y A. Camacho. 2011. Las micorrizas, las mejores amigas de las plantas. Folleto. Colombia, 26 p.
- Palacios J. 1993. Efecto de *Cinchona succirubra* KLOTZSCH sobre la comunidad de *Miconia robinsoniana* COGN. en la Isla Santa Cruz, Galápagos. Tesis de Licenciatura, Universidad Central del Ecuador, Quito, 181 p.



- Perissé P. 2002. Semillas un punto de vista agronómico, 1ª edición, Impreso en Argentina, Cyta. Disponible en:  
[www.cyta.com.ar/semilla/diseminación/diseminación.htm](http://www.cyta.com.ar/semilla/diseminación/diseminación.htm)/[www.cyta.com.ar/semilla/caracteristicas/b\\_caracteristicas.htm](http://www.cyta.com.ar/semilla/caracteristicas/b_caracteristicas.htm). (Consultado septiembre 17, 2012).
- Read D. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experiencia* 47: 376-391.
- Red Nacional De Jardines Botánicos. 2008. Catálogo de la Biodiversidad de Colombia. *Cinchona pubescens* VAHL. Disponible en:  
<http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=1438&method=displayAAT> (Consultado marzo 1, 2011).
- Rentería J., R. Atkinson, A., Guerrero y J. Mader. 2006. Manual de identificación y manejo de malezas en las Islas Galápagos. Fundación Charles Darwin. 2da edición.
- Rentería J. 2002. Ecología y manejo de la cascarilla (*Cinchona pubescens* VAHL) en Santa Cruz, Galápagos. Tesis de Ingeniería Forestal, Universidad Nacional de Loja, Ecuador.
- Rizobacter S. 2009. Importancia del nitrógeno para las plantas. Disponible en:  
<http://www.rizobacter.com.ar/>. (Consultado marzo 1, 2011).
- Rodríguez J. y V. Nieto. 1999. Investigación en semillas forestales nativas. CONIF. Serie Técnica/N|43. Bogotá, 89 p.
- Rodríguez J. 2000. Protocolos de germinación para la certificación de semillas forestales. CONIF. Serie Técnica/N|43. Bogotá, 53 p.
- Salas E. 2000. Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Costa Rica. 11 p.

- Santos A. 2010. Influencia de la disminución de nutrientes, y agentes osmóticos sobre el crecimiento de los tejidos de *C. officinalis*. Tesis de Ingeniera en Gestión Ambiental. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, 80 p.
- Schuessler A., D. Schwarzott y C. Walker 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycology Research* 105: 1413-1421.
- Silva F. 1999. Manual de análisis químicas de suelos, plantas y fertilizantes. Embrapa Informática agropecuaria. Brasilia. 370 p.
- Smith S. y D. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Elsevier Science. San Diego. California. USA, 589 p.
- Sociedad Española De Ciencias Forestales (SECF). 2005. Diccionario forestal. Mundi-Prensa Libros. 1294 pp. Disponible en: [http://books.google.com/books?id=Cy-Frn9-k6QC&printsec=frontcover&dq=sociedad+espa%C3%B1ola+de+ciencias+forestales+diccionario+forestal&source=bl&ots=g48NpQcRVM&sig=4\\_DIEjpN00x\\_EXlv3ISK0bmDFBs&hl=es&ei=Gz9uTZcelMG2B5emtfkO&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=Cy-Frn9-k6QC&printsec=frontcover&dq=sociedad+espa%C3%B1ola+de+ciencias+forestales+diccionario+forestal&source=bl&ots=g48NpQcRVM&sig=4_DIEjpN00x_EXlv3ISK0bmDFBs&hl=es&ei=Gz9uTZcelMG2B5emtfkO&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false) (Consultado marzo 1, 2011).
- Trópicos 2011. Missouri Botanical Garden. Saint Luis, Missouri, USA. Disponible en <http://www.tropicos.org/Name/27900681>. (Consultado marzo 2, 2011).
- Urgiles N., J. Duchicela y M. Zuleta. 2005. Reproducción de propágulos de suelo de hongos arbusculares con vistas a su aplicación viverística y agroecológica a gran escala.
- Urgiles N., P. Lojan, N. Aguirre, H. Blaschke, S. Günter, B. Stimm e I. Kottke. 2009. Application of mycorrhizal roots improves growth of tropical tree seedlings in the nursery: a step towards reforestation with native species in the Andes of Ecuador.

Urgiles N., L. Quichimbo, A. Schuessler y C. Krueger. 2010. Evaluación del efecto de la inoculación con hongos micorrízicos en la propagación de *Alnus acuminata* H.B.K y *Morella pubescens* H. y B. Revista de Ecología forestal, Universidad Nacional de Loja. V.1: 33-40.

Van Derheijden M. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure, *Ecology*, 79(6): 2082-2091. Disponible en: [http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-6588\(2000\)79\[2082:ADAMFSA\]2.0.CO;2](http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-6588(2000)79[2082:ADAMFSA]2.0.CO;2)?journalCode=ecol. (Consultado junio 29, 2012).

## 9. ANEXOS

**Anexo 1.** Gráfico de la distribución aleatoria de las plántulas de *Cinchona pubescens* sobre las mesas en el invernadero

### MESA 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	A1B2C4	A1B1C1	A1B1C2	A1B2C2	A2B1C3	A2B1C4	A1B1C4	A2B1C2	A2B2C2	A2B2C4	A1B1C3	A1B2C1	A2B1C1	A1B2C3	A2B2C3	A2B2C1
2	A2B1C1	A2B1C2	A2B1C3	A1B2C3	A1B2C2	A2B2C4	A2B2C2	A1B2C1	A1B1C1	A1B1C4	A2B2C3	A2B2C1	A1B2C4	A2B1C4	A1B1C3	A1B1C2
3	A1B1C2	A1B2C4	A1B2C1	A2B1C1	A2B2C2	A1B1C1	A2B1C3	A2B1C4	A2B2C1	A1B2C3	A1B2C2	A2B2C3	A1B1C4	A1B1C3	A2B2C4	A2B1C2
4	A1B2C3	A1B1C1	A2B2C2	A2B2C3	A1B2C1	A1B1C4	A1B1C2	A2B2C4	A2B1C4	A1B2C2	A2B1C2	A2B1C1	A1B1C3	A1B2C4	A2B2C1	A2B1C3
5	A2B1C1	A1B1C3	A1B1C2	A2B1C4	A2B2C3	A2B2C2	A2B1C2	A1B2C4	A2B1C3	A1B2C2	A1B2C3	A1B2C1	A1B1C1	A2B2C1	A1B1C4	A2B2C4
6	A2B2C3	A2B2C1	A2B1C1	A2B1C2	A1B1C3	A1B1C1	A1B1C2	A2B2C4	A1B2C4	A1B2C3	A2B2C2	A2B1C3	A2B1C4	A1B2C1	A1B2C2	A1B1C4
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
7	A2B1C3	A1B1C2	A2B2C3	A1B1C1	A2B1C1	A1B2C3	A2B2C2	A1B2C2	A2B2C1	A1B2C4	A2B1C2	A1B1C3	A2B2C4	A2B1C4	A1B1C4	A1B2C1
8	A2B1C1	A1B1C1	A1B1C4	A2B2C2	A2B1C2	A2B2C3	A1B1C3	A1B2C2	A2B2C1	A2B1C4	A2B1C3	A2B2C4	A1B2C1	A1B1C2	A1B2C3	A1B2C4
9	A1B1C3	A1B2C4	A2B1C4	A1B1C1	A2B2C4	A1B2C2	A2B2C3	A2B2C1	A2B1C1	A1B2C3	A2B1C2	A2B1C3	A1B1C4	A1B1C2	A1B2C1	A2B2C2
10	A1B2C1	A1B1C2	A1B2C2	A2B1C2	A2B2C3	A1B2C4	A2B1C1	A1B1C1	A2B1C3	A2B2C4	A2B2C2	A1B2C3	A2B2C1	A1B1C3	A1B1C4	A2B1C4
11	A2B2C4	A2B2C2	A1B1C1	A2B2C3	A2B1C2	A1B1C2	A2B1C1	A2B1C4	A1B2C3	A1B1C3	A2B1C3	A1B2C1	A1B2C2	A1B2C4	A1B1C4	A2B2C1
12	A1B2C4	A2B2C4	A1B2C1	A2B1C2	A1B1C4	A1B1C1	A2B1C3	A1B2C3	A2B2C2	A2B1C4	A2B1C1	A2B2C3	A2B2C1	A1B1C3	A1B2C2	A1B1C2
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
13	A1B2C4	A1B2C2	A1B1C4	A2B2C3	A2B1C2	A2B2C1	A2B2C4	A2B1C4	A2B2C2	A2B1C1	A1B2C1	A1B1C2	A2B1C3	A1B1C1	A1B2C3	A1B1C3
14	A2B1C1	A1B2C4	A1B1C2	A2B2C1	A2B2C3	A1B1C1	A2B1C2	A2B2C4	A1B2C2	A2B1C3	A2B2C2	A1B2C3	A2B1C4	A1B1C3	A1B2C1	A1B1C4
15	A2B2C4	A1B1C3	A2B1C2	A1B1C1	A2B2C2	A1B1C4	A2B1C4	A2B1C1	A1B1C2	A1B2C2	A1B2C1	A1B2C4	A2B1C3	A2B2C3	A1B2C3	A2B2C1
16	A1B2C3	A2B1C3	A1B1C4	A1B2C4	A1B2C2	A2B1C1	A2B1C4	A2B2C3	A2B2C4	A2B2C1	A2B2C2	A1B1C1	A2B1C2	A1B1C2	A1B2C1	A1B1C3
17	A2B2C3	A1B1C2	A2B1C1	A2B1C2	A1B1C3	A1B2C1	A2B1C4	A1B2C2	A2B1C3	A1B1C4	A2B2C1	A2B2C2	A1B1C1	A2B2C4	A1B2C4	A1B2C3
18	A1B2C2	A1B2C3	A1B1C2	A2B1C3	A1B1C1	A1B2C4	A2B1C2	A1B2C1	A1B1C3	A2B2C2	A2B2C4	A2B1C4	A2B1C1	A1B1C4	A2B2C3	A2B2C1

### MESA 2

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>19</b>	A2B1C1	A1B1C1	A1B1C2	A2B2C3	A2B2C1	A1B1C4	A2B1C4	A1B1C3	A1B2C1	A2B1C3	A1B2C4	A1B2C3	A2B2C4	A2B1C2	A2B2C2	A1B2C2
<b>20</b>	A2B1C4	A1B1C4	A2B1C2	A2B1C1	A1B1C2	A2B2C1	A1B2C3	A1B2C4	A2B2C3	A1B2C2	A2B1C3	A1B2C1	A2B2C2	A2B2C4	A1B1C3	A1B1C1
<b>21</b>	A1B2C3	A2B2C3	A1B1C1	A1B2C2	A2B1C2	A2B2C2	A2B1C3	A1B1C2	A2B2C4	A1B1C3	A2B1C1	A2B1C4	A1B1C4	A1B2C1	A1B2C4	A2B2C1
<b>22</b>	A1B1C1	A1B2C3	A2B2C2	A2B2C3	A1B2C4	A2B1C2	A2B2C1	A1B2C2	A2B1C1	A2B2C4	A1B1C4	A2B1C3	A2B1C4	A1B1C3	A1B2C1	A1B1C2
<b>23</b>	A1B2C4	A2B1C2	A2B1C3	A2B2C1	A2B1C4	A2B1C1	A1B1C2	A1B1C1	A1B2C2	A1B1C3	A1B1C4	A1B2C3	A2B2C2	A2B2C4	A2B2C3	A1B2C1
<b>24</b>	A1B1C4	A2B2C4	A1B2C1	A2B2C3	A2B2C1	A2B1C2	A2B1C4	A2B2C2	A1B2C2	A2B1C3	A1B2C3	A1B1C2	A1B1C3	A2B1C1	A1B1C1	A1B2C4
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>25</b>	A1B2C2	A2B1C1	A1B1C4	A1B1C1	A2B2C4	A2B2C3	A1B1C3	A1B2C1	A1B1C2	A2B2C1	A2B1C2	A1B2C3	A2B2C2	A2B1C3	A2B1C4	A1B2C4
<b>26</b>	A2B1C1	A2B1C3	A1B2C4	A2B1C2	A1B1C1	A2B2C3	A1B2C3	A2B1C4	A1B1C2	A1B1C4	A1B1C3	A1B2C2	A1B2C1	A2B2C2	A2B2C1	A2B2C4
<b>27</b>	A2B2C2	A1B1C1	A1B1C3	A2B2C4	A2B1C2	A1B1C2	A2B1C1	A1B2C4	A2B1C4	A1B2C3	A1B2C1	A1B2C2	A2B2C1	A2B1C3	A1B1C4	A2B2C3
<b>28</b>	A1B1C3	A1B2C1	A1B1C1	A2B2C1	A2B2C2	A2B1C1	A2B2C4	A2B2C3	A2B1C2	A1B1C4	A2B1C4	A1B2C3	A1B2C4	A2B1C3	A1B1C2	A1B2C2
<b>29</b>	A1B2C4	A2B1C1	A1B2C2	A2B1C2	A2B2C3	A1B1C2	A2B2C4	A1B1C3	A2B2C1	A1B2C1	A2B1C3	A2B2C2	A1B1C1	A1B1C4	A2B1C4	A1B2C3
<b>30</b>	A2B1C2	A1B2C4	A1B2C1	A2B2C4	A2B1C1	A1B1C1	A1B1C3	A2B2C2	A2B2C3	A1B1C2	A1B2C3	A1B1C4	A2B1C4	A1B2C2	A2B2C1	A2B1C3
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>31</b>	A2B2C3	A2B1C1	A1B2C4	A2B2C1	A1B1C2	A1B1C4	A1B1C1	A1B2C1	A2B1C4	A2B1C2	A1B2C2	A2B1C3	A2B2C2	A1B1C3	A2B2C4	A1B2C3
<b>32</b>	A1B2C2	A2B1C2	A2B1C1	A1B2C4	A1B1C1	A2B2C4	A2B2C1	A1B1C3	A1B2C1	A1B1C4	A2B1C3	A1B2C3	A2B2C3	A2B1C4	A2B2C2	A1B1C2
<b>33</b>	A1B1C2	A2B1C2	A2B2C3	A1B2C3	A2B2C2	A1B1C4	A2B2C4	A1B1C3	A1B1C1	A1B2C4	A1B2C1	A1B2C2	A2B2C1	A2B1C4	A2B1C3	A2B1C1
<b>34</b>	A1B1C1	A1B1C2	A1B2C2	A2B1C1	A1B1C4	A1B2C4	A2B2C2	A2B1C4	A1B2C1	A2B2C4	A2B1C2	A2B2C3	A2B2C1	A1B2C3	A2B1C3	A1B1C3
<b>35</b>	A1B1C1	A2B2C4	A1B2C3	A2B2C2	A1B1C4	A2B1C4	A2B1C1	A1B2C2	A1B1C3	A1B1C2	A2B1C2	A2B2C3	A2B1C3	A2B2C1	A1B2C4	A1B2C1
<b>36</b>	A1B2C3	A2B1C4	A2B2C1	A1B1C3	A1B1C1	A2B2C4	A1B2C2	A2B2C2	A2B1C1	A2B1C3	A2B2C3	A2B1C2	A1B2C1	A1B2C4	A1B1C2	A1B1C4

**MESA 3**

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>37</b>	A1B2C3	A2B1C3	A2B2C1	A1B2C1	A1B1C4	A2B2C4	A2B1C1	A1B1C3	A1B2C4	A1B1C2	A2B1C4	A1B1C1	A2B2C2	A2B1C2	A1B2C2	A2B2C3
<b>38</b>	A2B2C4	A2B1C3	A1B2C3	A1B1C2	A2B1C4	A2B1C1	A1B1C1	A2B2C1	A2B2C3	A2B1C2	A2B2C2	A1B2C4	A1B1C4	A1B2C2	A1B1C3	A1B2C1
<b>39</b>	A2B1C1	A1B1C1	A2B1C3	A1B1C4	A1B2C2	A2B2C4	A2B2C3	A1B2C1	A2B1C2	A2B1C4	A1B1C3	A2B2C2	A1B1C2	A1B2C3	A2B2C1	A1B2C4
<b>40</b>	A1B2C3	A2B1C2	A1B2C1	A2B2C3	A1B1C1	A2B2C2	A1B1C3	A1B1C4	A1B1C2	A2B1C1	A1B2C2	A2B2C4	A1B2C4	A2B1C4	A2B2C1	A2B1C3
<b>41</b>	A1B1C2	A1B2C4	A2B1C3	A1B2C3	A2B2C3	A1B1C1	A2B1C1	A1B2C1	A2B2C1	A2B2C2	A2B2C4	A2B1C4	A1B1C3	A1B2C2	A2B1C2	A1B1C4
<b>42</b>	A2B1C4	A1B1C4	A1B1C2	A2B2C4	A2B1C2	A1B2C2	A1B1C3	A1B2C3	A1B2C4	A2B2C1	A2B1C1	A2B2C3	A2B1C3	A1B2C1	A1B1C1	A2B2C2
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>43</b>	A2B1C2	A1B1C1	A1B2C3	A1B2C1	A1B2C2	A1B2C4	A1B1C3	A1B1C2	A2B2C1	A2B2C4	A2B1C4	A2B2C2	A2B1C1	A2B2C3	A1B1C4	A2B1C3
<b>44</b>	A1B1C1	A2B1C1	A2B1C3	A1B1C4	A1B2C3	A2B1C4	A2B1C2	A2B2C1	A1B2C2	A1B1C3	A1B2C4	A2B2C3	A2B2C4	A1B1C2	A2B2C2	A1B2C1
<b>45</b>	A1B1C4	A2B2C3	A2B1C1	A1B2C3	A2B1C4	A1B1C1	A1B1C3	A1B2C1	A2B2C4	A1B1C2	A2B2C1	A2B1C3	A1B2C2	A1B2C4	A2B1C2	A2B2C2
<b>46</b>	A2B1C3	A1B2C4	A1B1C3	A2B2C2	A1B1C2	A1B1C4	A2B1C1	A1B2C2	A2B1C4	A1B1C1	A2B2C4	A1B2C1	A1B2C3	A2B2C3	A2B1C2	A2B2C1
<b>47</b>	A2B2C3	A1B1C1	A1B2C1	A2B1C4	A2B2C2	A2B2C1	A2B1C1	A2B1C2	A2B2C4	A2B1C3	A1B2C3	A1B1C4	A1B2C4	A1B2C2	A1B1C2	A1B1C3
<b>48</b>	A2B1C4	A2B1C3	A2B2C3	A2B2C2	A2B1C2	A1B1C2	A2B1C1	A1B1C4	A1B2C1	A2B2C4	A1B2C4	A2B2C1	A1B2C2	A1B2C3	A1B1C1	A1B1C3

**Anexo 2.** Registro fotográfico de las diferentes actividades desarrolladas en el laboratorio y en el invernadero durante el desarrollo del presente proyecto



Foto 1. Siembra de las semillas de *C. pubescens* en cajas Petri



Foto 2. Ubicación de las cajas Petri en el germinador digital

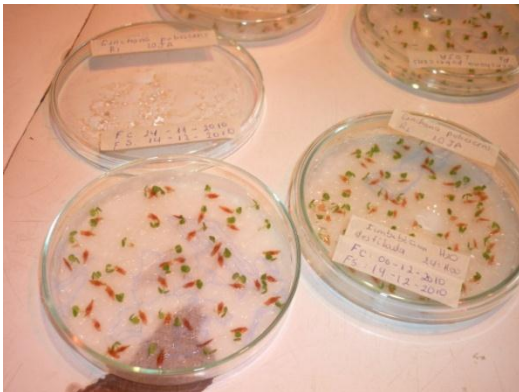


Foto 3. Germinación de las semillas de *C. pubescens* en las cajas Petri



Foto 4. Repique de las plantulas en semilleros plásticos



Foto 5. Trasplante de *C. pubescens* en fundas de polietileno



Foto 6. Aplicación de los tratamientos a las plántulas en el invernadero



Foto 7. Medición de la altura a las plántulas con micorrizas



Foto 8. Medición de la altura a las plántulas sin micorrizas



Foto 9. Medición del diámetro de las plántulas



Foto 10. Disposición de las plántulas en el invernadero

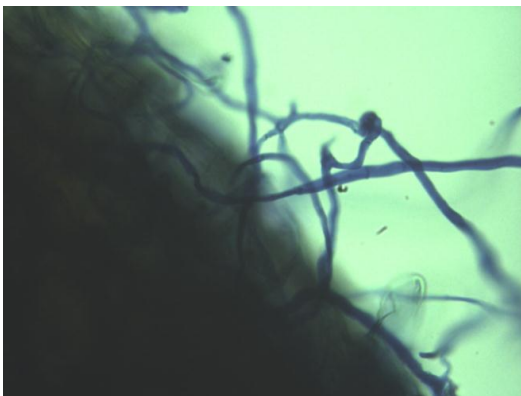


Foto 11. Estructuras micorrizicas en raíces de plántulas de Galápagos

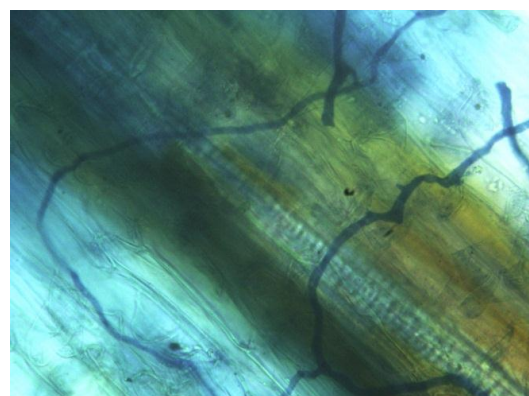

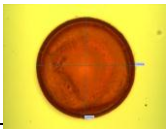
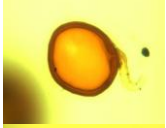

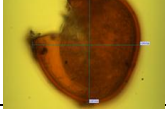
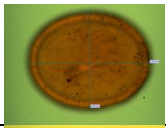
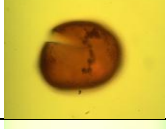

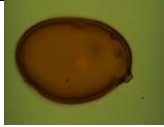
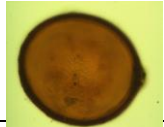

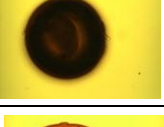

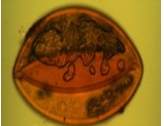
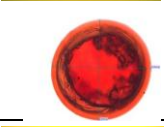
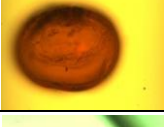



Foto 12. Estructuras micorrizicas en raíces de plántulas de Loja


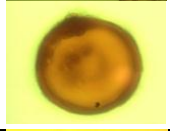
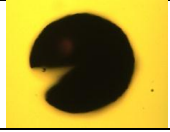

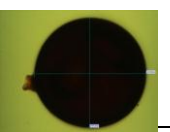
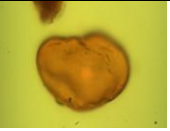
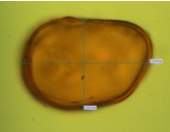



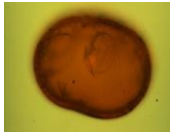

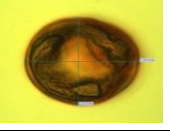
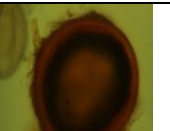
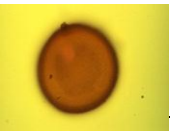
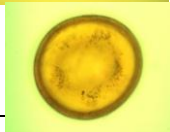
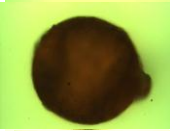

**Anexo 3.** Clasificación genética de las esporas de Hongos Micorrizicos Arbusculares provenientes del suelo de Galápagos

Morfotipo	Foto	Núm. Esporas	Color	Forma	Diámetro (µm)	Num. Paredes	Ornamentación	Hifa de suspensión	Reacción al Melzer	Posible Género
<b>A</b>										
<b>Glomus sp 1</b>		1	ocre	subglobosa	1,07	2,00	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		2	ocre	Globosa	1,00	3,00	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		3	naranja	subglobosa	1,12	3	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		4	ocre	subglobosa	1,07	2,00	ausente	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		5	ocre	Globosa	1,01	2,00	lisa	ausente	positivo	<b>GLOMUS</b>
<b>B</b>										
<b>Glomus sp 2</b>		1	ocre	anchamente elipsoidal	1,26	2,00	lisa	ausente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		2	ocre	anchamente elipsoidal	1,29	2,00	lisa	presente	positivo	<b>GLOMUS</b>
		3	ocre	basiliforme	3,1	2,00	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>

C										
<b>Acaulospora</b> <b>sp 1</b>		1	rojiza	Oblonga	1,38	3,00	lisa	presente	negativa	<b>ACAULOSPORA</b>
		2	café, rojizo	subglobosa	1,06	2,00	lisa	presente	negativa	<b>ACAULOSPORA</b>
		3	rojizo	Oblonga	1,58	3,00	lisa	presente	negativa	<b>ACAULOSPORA</b>
		4	rojiza, café oscuro	subglobosa	1,6	2,00	ausente	presente	negativa	<b>ACAULOSPORA</b>
		5	amarillo, rojizo	subglobosa	1,11	3,00	reticulada	presente	positivo	<b>ACAULOSPORA</b>
<b>D</b>										
<b>Scutellospora</b>		1	ocre, rojizo	Oblonga	1,68	3,00	lisa	presente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>
		2	ocre, rojizo intenso	subglobosa	1,12	2	ausente	ausente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>
		3	naranja	Oblonga	1,48	2	ausente	ausente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>
		4	naranja- ocre	Oblonga	1,44	2	ausente	presente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>

**Anexo 4.** Clasificación genética de las esporas de Hongos Micorrizicos Arbusculares provenientes del suelo de Loja

Morfotipo	Foto	Núm. Esporas	Color	Forma	Diámetro (µm)	Num. Paredes	Ornamentación	Hifa de suspensión	Reacción Melzer	Posible Género
A		1	amarillo pálido	Subglobasa	1,11	2	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
<b>Glomus sp. 1</b>		2	naranja	Subglobasa	1,06	2	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		3	rojizo-café	Globosa	1	2	ausente	ausente	positiva	<b>GLOMUS</b>
		4	amarillo pálido	Subglobasa	1,1	2	lisa	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		5	ocre	Globosa	1,05	2	ausente	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
<b>B</b>										
<b>Glomus sp. 2</b>		1	naranja	Oblonga	1,61	2	ausente	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		2	naranja	Oblonga	1,31	2	ausente	ausente	negativa	<b>GLOMUS</b>
		3	amarillo pálido	anchamente elipsoidal	1,16	2	ausente	presente	negativa	<b>GLOMUS</b>

		4	naranja-rojizo	anchamente elipsoidal	1,26	2	ausente	ausente	negativa	<b>GLOMUS</b>
<b>C</b>										
<b>Scutellospora</b>		1	amarillo pálido	Globosa	1,32	2	reticulada	ausente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>
		2	ocre	anchamente elipsoidal	1,18	2	ausente	ausente	negativa	<b>SCUTELLOSPORA</b>
<b>D</b>										
<b>Acaullospora</b>		1	ocre-rojizo	Globosa	1,00	2	lisa	presente	negativa	<b>ACAULLOSPORA</b>
		2	ocre-rojizo	Globosa	1,00	3	reticulada	presente	_____	<b>ACAULLOSPORA</b>
		3	amarillo pálido	Subglobosa	1,07	3	espinosa	presente	negativa	<b>ACAULLOSPORA</b>
		4	ocre	Globosa	1,02	1	reticulada	presente	negativa	<b>ACAULLOSPORA</b>
		5	amarillo-naranja	Globosa	1,04	2	reticulada	ausente		<b>ACAULLOSPORA</b>

## Anexo 5. Modelo de los tripticos informativos para la difusión de los resultados



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**Germinación en laboratorio e influencia de los hongos micorrizicos y la aplicación de nutrientes en el crecimiento de dos procedencias de *Cinchona pubescens*, a nivel de invernadero**

Proyecto de Tesis



### INTRODUCCIÓN

El género *Cinchona* de la familia Rubiaceae, conocido por su contenido de quinina, sufrió una explotación irracional, lo que ha resultado en la reducción de las poblaciones de cascarrilla y una baja regeneración natural en la provincia de Loja (Anda, 2002). En Galápagos, la especie fue introducida en los años 1940 y desde entonces se ha extendido por un área de más de 12.000 hectáreas en la parte alta de la isla Santa Cruz. En esta región, *C. pubescens* se ha vuelto invasora, esto significa que se reproduce y se propaga sin intervención humana.

La presente investigación se enmarca dentro del macro proyecto "Investigar los mecanismos de las plantas introducidas: el rol de la competencia por los nutrientes y de las características de las especies", y pretende comparar el crecimiento de dos procedencias de *C. pubescens*, y contribuir con información necesaria para su manejo adecuado en su lugar de origen y en los sitios donde ha sido introducida.

### OBJETIVOS:

**General**

- Contribuir en la investigación del comportamiento de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos, con la generación de información sobre su germinación en laboratorio y su crecimiento en invernadero con la aplicación de micorrizas y nutrientes.

**Específicos**

- Evaluar la germinación de *Cinchona pubescens* de dos procedencias, Loja y Galápagos, a nivel de laboratorio.
- Evaluar la respuesta al trasplante y el crecimiento de las plántulas de *Cinchona pubescens*, de las dos procedencias, en el invernadero después de la aplicación de micorrizas y nutrientes.
- Difundir los resultados del presente estudio.

### METODOLOGÍA

La germinación de las semillas de *C. pubescens* se realizó según los parámetros de las normas ISTA 2007. Se utilizó semillas de Galápagos y de Loja.

En el invernadero, se realizó la aplicación de micorrizas, y nutrientes. La evaluación del crecimiento de las plántulas se realizó un mes después del trasplante, se midió altura, diámetro y número de hojas durante seis meses. Al final se realizó el análisis estadístico con los datos obtenidos.

La tinción de las raíces se hizo con la metodología modificada y adaptada de Koske & Gemma (1989) y Schmidt & Reeves (1984), esto se hizo con el fin de observar las diferentes estructuras de las micorrizas, para determinar el porcentaje de colonización en las raíces de los árboles de *C. pubescens*.

En la clasificación de los morfotipos de micorrizas se utilizó la metodología de separación de esporas tomada de (Gerdemann & Nicholson, 1963).

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### Germinación

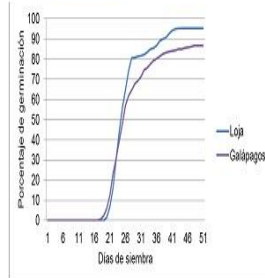


Fig. 1 Germinación de las semillas de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos a nivel de laboratorio.

#### Evaluación del Crecimiento

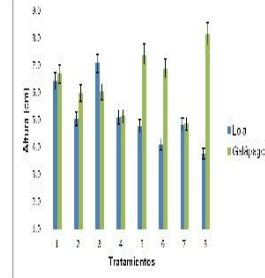


Fig. 2 Crecimiento promedio de las plántulas de *Cinchona pubescens* de Loja y Galápagos en invernadero.

La germinación de las semillas de Loja fue mayor que la de las semillas de Galápagos, alcanzando un 95,2% mientras que las de Galápagos obtuvieron un 86,6% de germinación del total de 800 semillas.

Se obtuvo menor porcentaje de germinación con las semillas de Galápagos, probablemente porque las semillas pierden rápidamente su viabilidad (Nair, 1980), ya que éstas fueron colectadas siete meses antes que las semillas de Loja. Rentería (2002), indica que las semillas de *Cinchona* en Galápagos perdieron su viabilidad después de aproximadamente un año. 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 (Moreno, 1996).

Como se ve en la Figura 2, las plántulas de Galápagos tuvieron mayor crecimiento en altura, 22% más que las plántulas de Loja. Estos diferencias son estadísticamente significativas.

Según los datos obtenidos, *C. pubescens* de Galápagos crece mejor sin estar asociada con micorrizas; contrario a las plántulas procedentes de Loja. Esto debido a que una misma especie de hongo no tiene el mismo efecto sobre todas las plantas, y éstas responden de manera diferente a la micorrización (Guachón, 2012).

Las características biológicas de *C. pubescens* como planta invasora en Galápagos (Jäger, 2011), pueden haber influido en su crecimiento en el invernadero, aun cuando estaban bajo las mismas condiciones que las plántulas de Loja.

## Anexo 6. Poster ilustrativo para la difusión de los resultados

