



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
“DR. JACOBO BUCARAM ORTÍZ”  
CARRERA AGRONOMÍA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO  
PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA AGRÓNOMA**

**ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE  
DESINFECCIÓN Y PROPAGACIÓN CON GEL DE *Aloe vera* EN  
SEGMENTOS NODALES DE GUANÁBANA *IN VITRO***

**AUTORA**

**NAVARRETE CADMELENA KENNYA KATERINE**

**TUTOR**

**ING. AMAYA MÁRQUEZ DARLYN**

**GUAYAQUIL - ECUADOR**

**2024**



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ  
CARRERA AGRONOMÍA**

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y PROPAGACIÓN CON GEL DE *Aloe vera* EN SEGMENTOS NODALES DE GUANÁBANA *IN VITRO***, realizado por la estudiante **NAVARRETE CADMELENA KENNYA KATERINE**; con cédula de identidad N°0932578438 de la carrera AGRONOMÍA, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Guayaquil, 15 de octubre del 2024.



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **“ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y PROPAGACIÓN CON GEL DE *Aloe vera* EN SEGMENTOS NODALES DE GUANÁBANA *IN VITRO*”**, realizado por la egresada **NAVARRETE CADMELENA KENNYA KATERINE**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

---

Ing. Winston Espinoza Morán, Msc.  
**PRESIDENTE**

---

Ing. Joaquín Moran Bajaña, Msc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

---

Ing. Darlyn Amaya Márquez, Msc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

Guayaquil, 15 de octubre del 2024.

## **DEDICATORIA**

A Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada paso de este camino. Por brindarme la sabiduría y la perseverancia necesarias para alcanzar esta meta.

A mi madre Rosa Cadmelema, mi ejemplo de amor y dedicación incondicional, por ser mi pilar en todo momento, por creer en mi cuando las fuerzas flaqueaban, y por acompañarme siempre con su cariño y apoyo inquebrantable. Este logro es tanto de ella como mío.

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Universidad Agraria del Ecuador por brindarme la oportunidad de formarme y crecer tanto en el ámbito académico como personal.

Al Ing. Darlyn Amaya, mi tutor de tesis, por su orientación, paciencia y apoyo constante durante todo este proceso.

A los docentes que han sido parte de mi formación, quienes con su dedicación y esfuerzo han dejado una huella imborrable en mi vida académica. En especial, al Dr. Daniel Mancero, cuya inspiración y pasión por la enseñanza, me motivaron a seguir mi vocación con entusiasmo y determinación y al Padre Douglas Bohórquez, cuyo aliento y palabras de ánimo me ayudaron a mantener firme y a no rendirme en los momentos difíciles, a la Ing, Hypatia que me guió en el proceso de mi tesis con gran paciencia y dedicación y al Ing. Joaquín Morán por su gran colaboración para la realización de este proyecto , por medio de su experiencia y su gran profesión como docente.

Quiero expresar mi agradecimiento a mis mejores amigos por su apoyo y compañía.

## **Autorización de Autoría Intelectual**

Yo **NAVARRETE CADMELENA KENNYA KATERINE**, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre **“ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y PROPAGACIÓN CON GEL DE *Aloe vera* EN SEGMENTOS NODALES DE GUANÁBANA *IN VITRO*”** para optar el título de **INGENIERA AGRÓNOMA**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, octubre 15 del 2024

---

**NAVARRETE CADMELENA KENNYA KATERINE**  
**C.I. 0932578438**

## RESUMEN

La guanábana, es un cultivo frutícola de alto valor económico y nutricional en el Ecuador, sin embargo, su propagación *in vitro* presenta desafíos significativos debido a la alta contaminación microbiana y a la oxidación fenólica. El presente estudio tuvo como objetivo principal evaluar el efecto del gel de *Aloe vera* como agente desinfectante y fitorregulador en la micropropagación de segmentos nodales de guanábana, buscando optimizar los protocolos existentes. Se establecieron distintos protocolos de desinfección utilizando concentraciones de gel de *Aloe vera* al 10%, 15% y 20% contrastando con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%. Los resultados indicaron que el gel de *Aloe vera* redujo parcialmente la contaminación fúngica; sin embargo, no fue posible el control por contaminación bacteriana, ni la prevención de la oxidación, lo que resultó en la inviabilidad de los explantes. Asimismo, no se observó un efecto fitorregulador, ya que la carga por contaminación endófito fue persistente, lo que imposibilitó el desarrollo de brotes. El hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% mostró un mejor control en la reducción de la contaminación fúngica con 92% de explantes libres a los 21 días de evaluación; no obstante, no controló la oxidación, ni la contaminación bacteriana. Por medio de esta investigación, se comprobó que el gel de *Aloe vera* no presentó una contaminación cero en los explantes, ni un control de la oxidación fenólica, ya que para evaluar el efecto como fitorregulador es necesario las condiciones físicas adecuadas del tejido vegetal que permitan el desarrollo de los explantes.

**Palabras clave:** *Annona muricata*, Contaminación, Endófito, Explantes, Oxidación.

## ABSTRACT

Soursop is a fruit crop of high economic and nutritional value in Ecuador; however, its *in vitro* propagation presents significant challenges due to high microbial contamination and phenolic oxidation. The main objective of the present study was to evaluate the effect of *Aloe vera* gel as a disinfectant and phytochemical agent in the micropropagation of soursop nodal segments, seeking to optimize existing protocols. Different disinfection protocols were established using concentrations of *Aloe vera* gel at 10%, 15% and 20% contrasting with a 1% sodium hypochlorite (NaClO) solution. The results indicated that *Aloe vera* gel partially reduced fungal contamination; However, control for bacterial contamination or prevention of oxidation was not possible, which resulted in the nonviability of the explants. Likewise, a phytochemical effect was not observed, since the load due to endophytic contamination was persistent, which made the development of shoots impossible. Sodium hypochlorite (NaClO) at 1% showed better control in reducing fungal contamination with 92% of explants free after 21 days of evaluation; However, it did not control oxidation or bacterial contamination. Through this research, it was proven that the *Aloe vera* gel did not present zero contamination in the explants, nor a control of phenolic oxidation, since to evaluate the effect as a phytochemical it is necessary to have adequate physical conditions of the plant tissue that allow the development of explants.

**Key words:** *Annona muricata*, Contamination, Endophyte, Explants, Oxidation.

## ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR .....	ii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
Autorización de Autoría Intelectual .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>16</b>
1.1 Antecedentes del problema.....	16
1.2 Planteamiento y formulación del problema .....	16
<i>1.2.1 Planteamiento del problema .....</i>	<i>16</i>
<i>1.2.2 Formulación del problema .....</i>	<i>17</i>
1.3 Justificación de la investigación .....	17
1.4 Delimitación de la investigación .....	17
1.5 Objetivo general .....	18
1.6 Objetivos específicos.....	18
1.7 Hipótesis .....	18
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
2.1 Estado del arte.....	19
2.2 Bases teóricas .....	21
<i>2.2.1 Importancia de la guanábana en el Ecuador .....</i>	<i>21</i>
<i>2.2.2 taxonomía de la guanábana (Annona muricata).....</i>	<i>21</i>
<i>2.2.3 Descripción morfológica .....</i>	<i>21</i>
2.2.3.1. Raíz.....	21
2.2.3.2. Tallo.....	21
2.2.3.3. Hojas .....	22
2.2.3.4. Flor .....	22
2.2.3.5. Fruto .....	22
2.2.3.6. Condiciones ambientales .....	22

2.2.3.6.1. <i>Luminosidad</i> .....	22
2.2.3.6.2. <i>Temperatura</i> .....	22
2.2.3.6.3. <i>Precipitación</i> .....	22
2.2.3.6.4. <i>Humedad relativa</i> .....	23
2.2.3.6.5. <i>Suelos</i> .....	23
2.2.3.7. Principales enfermedades de la guanábana.....	23
2.2.3.7.1. <i>Diplodia (Diplodia Sp)</i> .....	23
2.2.3.7.2. <i>Antracnosis (Colletotrichum gloesporioides Penz)</i> .....	23
2.2.4 <i>Propagación</i> .....	23
2.2.4.1. Sexual.....	23
2.2.4.2. Asexual .....	23
2.2.4.3. Injerto .....	24
2.2.4.4. Estacas.....	24
2.2.5 <i>Micropropagación in vitro</i> .....	24
2.2.5.1. Etapas del cultivo in vitro.....	24
2.2.5.1.1. <i>Fase 0: Preparación de la planta madre</i> .....	24
2.2.5.1.2. <i>Fase 1: Desinfección del material</i> .....	24
2.2.5.1.3. <i>Fase 2: Introducción de material in vitro</i> .....	25
2.2.5.1.4. <i>Fase 3: Multiplicación</i> .....	25
2.2.5.1.5. <i>Fase 4: Enraizamiento</i> .....	25
2.2.5.1.6. <i>Fase 5: Aclimatación</i> .....	25
2.2.6 <i>Medios de cultivo</i> .....	26
2.2.6.1. Reguladores de crecimientos .....	26
2.2.6.2. Auxinas .....	26
2.2.6.3. Citoquininas .....	26
2.2.6.4. Ácidos giberélicos .....	27
2.2.6.5. Etileno .....	27
2.2.6.6. Ácido abscísico .....	27
2.2.7 <i>Sábila (Aloe vera)</i> .....	27
2.2.7.1. Morfología.....	27
2.2.7.2. Composición química.....	28
2.2.7.3. Obtención del gel .....	28
2.3 Marco legal.....	28
2.3.1 <i>Constitución de la República del Ecuador (2008)</i> .....	28

2.3.2 <i>Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable</i> .....	28
2.3.3 <i>Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria</i> .....	29
3. MATERIALES Y METODOS.....	30
3.1 Enfoque de la investigación .....	30
3.1.1 <i>Tipo de investigación</i> .....	30
3.1.2 <i>Diseño de investigación</i> .....	30
3.1.2.1. Investigación descriptiva .....	30
3.1.2.2. Investigación explicativa .....	30
3.1.2.3. Investigación experimental .....	30
3.2 Metodología .....	30
3.2.1 <i>Variables</i> .....	30
3.2.1.1. Variable dependiente para fase I de protocolos de desinfección .	30
3.2.1.2. Variable independiente para fase II de medios de cultivo .....	30
3.2.1.2.1. <i>Porcentaje de contaminación (%)</i> .....	31
3.2.1.2.2. <i>Porcentaje de oxidación (%)</i> . .....	31
3.2.1.2.3. <i>Porcentaje de explantes viables (%)</i> .....	31
3.2.1.3. Variable dependiente para fase II de medios de cultivo .....	31
3.2.1.3.1. <i>Número de brotes</i> .....	31
3.2.1.3.2. <i>Tamaño del explante (cm)</i> . .....	31
3.2.2 <i>Tratamientos</i> .....	32
3.2.3 <i>Diseño experimental</i> .....	33
3.2.4 <i>Delimitación experimental</i> .....	34
3.2.5 <i>Recolección de datos</i> .....	34
3.2.5.1. Recursos .....	34
3.2.5.1.1. <i>Recursos bibliográficos</i> . .....	34
3.2.5.1.2. <i>Materiales y herramientas</i> . .....	34
3.2.5.1.3. <i>Material experimental</i> .....	34
3.2.5.1.4. <i>Recursos humanos</i> .....	34
3.2.5.1.5. <i>Recursos económicos</i> . .....	35
3.2.5.2. Métodos y técnicas .....	35
3.2.5.2.1. <i>Métodos</i> . .....	35
3.2.5.2.2. <i>Técnicas</i> .....	36
3.2.6 <i>Análisis estadístico</i> .....	38

3.2.6.1. Hipótesis estadística.....	38
3.2.6.1.1. <i>Fase I de protocolos de desinfección.</i> .....	38
3.2.6.1.2. <i>Fase II de establecimiento de medios de cultivo</i> .....	38
4. RESULTADOS.....	39
4.1 Establecimiento de los protocolos de desinfección y propagación.....	39
4.1.1 <i>Resultados del establecimiento de medios de cultivo</i> .....	39
4.2 Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de <i>Aloe vera</i> en la desinfección .....	40
4.2.1 <i>Contaminación por hongos</i> .....	40
4.2.2 <i>Contaminación por bacterias</i> .....	41
4.2.3 <i>Oxidación</i> .....	42
4.3 Análisis del impacto fitorregulador del extracto de <i>Aloe vera</i> en la propagación de explantes de guanábana .....	42
5. DISCUSIÓN .....	44
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	47
6.1 Conclusiones.....	47
6.2 Recomendaciones.....	47
BIBLIOGRAFIA .....	48
ANEXOS .....	53

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. <i>Pre ensayos para protocolos de desinfección</i> .....	32
Tabla 2. <i>Pre ensayo para medios de cultivos</i> .....	33
Tabla 3. <i>Ensayo para la fase I de protocolos de desinfección</i> .....	34
Tabla 4. <i>Ensayo para la fase II de establecimiento en medios de cultivo..</i>	34
Tabla 5. <i>Valoración económica</i> .....	35
Tabla 6. <i>Porcentaje de explantes establecidos de acuerdo con la contaminación y oxidación durante 21 días de evaluación (%)</i> .....	39
Tabla 7. <i>Establecimiento de protocolos de desinfección</i> .....	40
Tabla 8. <i>Número de explantes de contaminación por hongos durante 21 días de evaluación</i> .....	41
Tabla 9. <i>Número de explantes contaminados por bacterias durante 21 días de evaluación</i> .....	41
Tabla 10. <i>Número de explantes oxidados durante 21 días de evaluación</i>	42
Tabla 11. <i>Establecimiento de medios de cultivo</i> .....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reactivos para la propagación <i>in vitro</i> .....	53
Figura 2. Esterilización de los materiales .....	53
Figura 3. Planta madre de la Universidad Agraria del Ecuador .....	54
Figura 4. Preparación de ramas .....	54
Figura 5. Preparación de medios de cultivo.....	55
Figura 6. Desinfección de explantes.....	55
Figura 7. Esterilización de frascos para medios .....	56
Figura 8. Esterilización de frascos .....	56
Figura 9. Inmersión de ramas en fungicida.....	57
Figura 10. Revisión de explantes inoculados .....	57
Figura 11. Supervisión del tutor .....	58
Figura 12. Verificación de hongos en los explantes inoculados .....	58
Figura 13. Hongo presente en los explantes inoculados .....	59
Figura 14. Establecimiento de protocolos de desinfección y medios de cultivo .....	59
Figura 15. Recolección de ramas .....	60
Figura 16. Guía del tutor para realización de protocolos de desinfección .	60
Figura 17. Presencia de hongo en los explantes inoculados.....	61
Figura 18. Explante oxidado .....	61
Figura 19. Explantes de protocolo de desinfección a los 7 días .....	62
Figura 20. Explantes de protocolo de desinfección 14 días.....	62
Figura 21. Explantes de protocolo de desinfección 21 días.....	63
Figura 22. Explantes del establecimiento de medios de cultivo a los 7 días .....	63
Figura 23. Explantes del establecimiento de medios de cultivo a los 14 días .....	64
Figura 24. Explantes del establecimiento de medios de cultivo a los 21 días .....	64
Figura 25. Explantes del establecimiento de medios de cultivo a los 28 días .....	65
Figura 26. Preparación del gel de <i>Aloe vera</i> .....	65
Figura 27. Referencia de la efectividad de uno de los protocolos en arándano .....	66

Figura 28. Desinfección superficial con Riflaxina .....	66
Figura 29. Medios con altas dosis de fungicidas y bactericida .....	67
Figura 30. Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Hongos .....	67
Figura 31. Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Hongos .....	68
Figura 32. Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Hongos .....	68
Figura 33. Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Bacterias.....	69
Figura 34. Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Bacterias.....	69
Figura 35. Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Bacterias.....	70
Figura 36. Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Oxidación.....	70
Figura 37. Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Oxidación.....	71
Figura 38. Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Oxidación.....	71

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes del problema

La guanábana (*Annona muricata L.*) es una especie que presenta gran popularidad en la industria agrícola y farmacéutica debido a sus propiedades nutricionales, delicioso sabor y contenido en calcio, fósforo, vitaminas y fibra. Además de sustancias como las acetogeninas con actividad citotóxicas en células cancerígenas (Echenique y Mollo, 2020).

Este cultivo está restringido por su método de reproducción por semillas. La aplicación de la tecnología de cultivo de tejidos *in vitro* para la propagación masiva de árboles promisorios surge como una alternativa viable para incrementar la disponibilidad de plantas para el desarrollo de plantaciones en campo (Echenique y Mollo, 2020).

El gel de *Aloe vera* tiene un efecto inhibitorio con propiedades que ayudan a prevenir la contaminación como en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae*; Navarro et al. (2019) demuestran que la aplicación de gel de *Aloe vera* funciona como un fungicida que tiene una capacidad del 81% de inhibición en *Colletotrichum musae* con 2.0 ml de *Aloe vera*, presenta una leve resistencia, por lo que se recomienda ampliar la investigación con el uso de gel de *Aloe vera*.

En las técnicas de cultivo *in vitro* es esencial el uso de agentes solidificantes como el agar en complemento con los reguladores de crecimiento, por lo que presentan una gran demanda y sus costos son elevados, por lo cual disminuye la propagación masiva de plantas; Despaigne (2021) demuestra que el gel de *Aloe vera* tiene potencialidades para ser utilizado como sustrato en el cultivo *in vitro* de *Coffea canephora* y se recomienda utilizar dosis de 0.5 ml para mejores resultados y así poder sustituir el uso de gel convencional por el gel de *Aloe vera*, ya que proporciona un medio nutritivo para el crecimiento de los tejidos vegetales.

### 1.2 Planteamiento y formulación del problema

#### 1.2.1 Planteamiento del problema

El cultivo de guanábana se puede propagar a través de semillas o propagación vegetativa, pero presenta dificultades a través de su reproducción por semillas limitando su producción, con variaciones en la calidad del fruto, altura y con producción tardía (Echenique y Mollo, 2020).

La iniciación o establecimiento *in vitro* de guanábana se ha visto afectada debido a la contaminación por hongos y bacterias, además de presentar problemas

por la oxidación fenólica de los explantes, por lo que se debe realizar más investigaciones en cada una de estas etapas de micropropagación (Cruz et al., 2020).

El gel de *Aloe vera* posee acción antimicrobiana porque está compuesto por saponinas, flavonoides, taninos, ácido ascórbico, entre otros compuestos que han permitido comprobar su efectividad fungistático en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* (Peralta et al., 2023).

### **1.2.2 Formulación del problema**

¿Cuál es el impacto que ejerce el extracto de *Aloe vera* en los protocolos de desinfección y medios de cultivo en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de guanábana?

### **1.3 Justificación de la investigación**

Los productos agrícolas tienen una considerable demanda debido al gran consumo en Ecuador. Entre ellos, el cultivo de frutales es de interés comercial por su aporte en vitaminas y minerales, por lo cual el desarrollo de técnicas de cultivo *in vitro* se implementa en árboles frutales como en el cultivo de guanábana, en particular, destaca por su valor nutricional y sus beneficios para la salud.

La técnica de propagación *in vitro* es de gran utilidad porque permite el cultivo de tejido para la obtención de plántulas con características adecuadas y sanidad de esta especie (*Annona muricata*), ya que las semillas son recalcitrantes, lo que se traduce en un prolongado periodo de germinación y una elevada susceptibilidad a enfermedades y plagas.

Para la obtención de plantas sanas y libres de agente microbianos el cultivo *in vitro* es una técnica muy utilizada que consiste en cultivar plantas en un medio aséptico que permiten a su vez controlar dentro de un frasco de vidrio.

El gel de *Aloe vera* posee una importante capacidad antimicrobiana porque está compuesto por antraquinonas que se encargan de la protección contra patógenos, sobre todo tiene la capacidad de actuar como un fitoregulator natural por la presencia de gibelinas y ácido salicílico.

### **1.4 Delimitación de la investigación**

**Espacio:** Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de biotecnología, Campus Universitario “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz” Guayaquil.

**Tiempo:** La elaboración del proyecto tuvo una duración seis meses

**Población:** Este trabajo de investigación fue dirigido a los fruticultores principal productores a nivel nacional del cultivo de guanábana.

### **1.5 Objetivo general**

Evaluar el efecto antimicrobiano y propagativo con gel de *Aloe vera* en el crecimiento de plantas *in vitro* de segmentos nodales de guanábana.

### **1.6 Objetivos específicos**

- Establecer protocolos de desinfección y de propagación para explantes de guanábana *in vitro*.

- Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de *Aloe vera* en la desinfección de explantes de guanábana *in vitro*.

- Analizar el impacto fitorregulador del extracto de *Aloe vera* en la propagación de explantes de guanábana en condiciones controladas.

### **1.7 Hipótesis**

Uno de los protocolos utilizado reduce la contaminación de los explantes a nivel *in vitro* y el tipo de medio de cultivo influye en el crecimiento vegetativo de los segmentos.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Estado del arte

El gel de *Aloe vera* presenta una capacidad biofúngica. se puede comprobar en la investigación de Reyes (2022) que el uso de jabón líquido povidona, 10% p/v gel Aloe vera, alcohol al 70%, 1.25% v/v NaClO es el protocolo de desinfección más eficaz, mostró resultados favorables como el número y tamaño de explantes adecuados, así como la baja contaminación del 3% y una mortalidad del 10% a los 28 días post-siembra, lo que permite el adecuado desarrollo de los explantes de babaco in vitro. Existen diversos productos utilizados que son a base de fitorreguladores sintéticos, aunque estos presentan dificultades para ser adquiridos, para ellos se ha presentado como alternativa el uso de especies vegetales que tienen la capacidad de actuar como un fitorregulador natural en la propagación de otras especies, Esto indicaron Tucuch et al. (2022) con el uso del gel de *Aloe vera* para producción de plántulas de *Capsicum Chinense*; dio como resultado un desarrollo radicular del 18%, con una altura y biomasa fresca total alrededor del 13% el diámetro del tallo y numero de hojas.

Establecer protocolos efectivos de desinfección para controlar la contaminación por microorganismos endófitos representa un reto considerable en los cultivos in vitro. Según Rodríguez et al. (2021), estos microorganismos endófitos pueden permanecer en estado latente dentro de los tejidos vegetales y se activan en respuesta a la senescencia o el estrés del hospedador. El uso de antibiótico en los protocolos de desinfección ha permitido un control de la contaminación bacteriana conforme a lo investigado por Echenique y Huanca (2022), donde el antibiótico Eritromicina ayuda a minimizar las pérdidas ocasionadas por bacterias, además García y Comstock (2018) indican que el uso de antibiótico al controlar la bacteria, tienen menor capacidad de competir, dejando recursos disponibles para que los hongos puedan proliferar y multiplicarse.

Según Jaramillo et al. (2017) sobre el efecto biofungicida del gel de *Aloe vera*, en el agente causal de la sigatoka negra en Musa , donde los resultados arrojaron que el gel de *Aloe vera* presentó una moderada actividad antifúngica en el crecimiento Micelial de *Mycosphaerella fijiensis* con un porcentaje de inhibición Micelial del 44.84% a diferencia del testigo con un PIM del 73.10% , por lo que indica el autor que el extracto podría ser adecuado para el control de Sigatoka

Negra y que es importante experimentar con diferentes concentraciones a las ya estudiadas.

En la propagación *in vitro* de guanábana es esencial, porque permite un mayor número de plantas para el establecimiento de cultivos en campo para obtener plantas con características deseadas, por lo que es importante desarrollar protocolos eficientes para el establecimiento *in vitro*, porque este cultivo presenta dificultades en este proceso. Mongelos et al. (2020) Indicaron que el hipoclorito de sodio al 5%, con un tiempo de inmersión de cinco minutos presentó un 62.5% de explantes viables y un 37.5% de contaminación por hongos y bacterias, respecto a la oxidación se constató que el protocolo aplicado, dio un 100% en la oxidación en diferentes niveles, asociadas a los compuestos fenólicos por lo que se concluye que no está relacionado a los protocolos de desinfección. Además, Se puede comprobar el comportamiento de inhibición con la ayuda del extracto de *Aloe vera* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* con concentraciones de 40 y 50% con halos de inhibición de 4.22 mm y 9.34 mm, permitió inhibir esta bacteria en un periodo de 24 horas, esta capacidad inhibitoria es atribuida a las antraquinonas y al acemanano (Hernández y Nieto, 2018).

El uso de reguladores de crecimiento para la propagación *in vitro* es esencial, porque estos estimulan el desarrollo de explantes. Según López (2018), el uso de fitohormonas como ANA y AIB permiten el enraizamiento de esquejes de guanábana, para el aumento de plantas propagadas, aplicaron un tratamiento T2 en concentración de 3000 mg/Kg demostraron un resultado FC (83%), PE (75%), NR (2.3), NB (2.44) y LB (2.50 cm) con resultados superiores en comparación con los otros tratamientos.

Se comprobó que la aplicación de extracto de *Aloe vera* tiene eficacia al 4% y 6% dio como resultado valores de (15 – 16 cm) en altura de la planta, (6- 7) # de hojas y (0.7 – 0.8 mm) diámetro del pseudo tallo , para el número de raíces el 6% del uso de *Aloe vera* obtuvo (ocho raíces), y para la longitud de las raíces las aplicaciones foliares con el 4 y 6% de *Aloe vera* los mejores resultados con (13 cm.) tuvo efectividad en el enraizamiento de vitro plantas de banano por las propiedades nutricionales que presenta el gel de *Aloe vera*, también se verificó que el uso de gel de *Aloe vera* permite proporcionar un buen desarrollo a las plantas , por la presencia de triptófano que es precursor del ácido indol-3-acético en la que se puede

encontrar fitohormonas esenciales como auxinas y giberelinas , que promueven la división celular (García et al., 2020).

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Importancia de la guanábana en el Ecuador**

Existe un gran reto para la exportación de productos agrícola no tradicionales dentro un mercado globalizado, sin embargo, el poder iniciar dentro de este mercado ha tenido una historia que incluye la transformación desde la parte rural hasta política, social y cultural (Triviño, 2018).

En el Ecuador el cultivo de guanábana es muy apetecido por sus costos dentro del mercado. Es uno de los principales cultivos en las provincias como Santa Elena y Guayas, en algunos sitios esta tecnificado; en las comunidades del sur de Manabí y parte de Santo Domingo de los colorados se dedican a recolectar esta fruta de forma orgánica, lo que indica que es un cultivo de gran importancia en el Ecuador (Baquerizo, 2023).

### **2.2.2 taxonomía de la guanábana (*Annona muricata*)**

En la taxonomía de la guanábana (*Annona muricata*) pertenece al reino vegetal y se encuentra en la división *Spermatophytia*, que agrupa a las plantas que producen semillas. Además, es una angiosperma, lo que significa que es una planta con semillas que produce flores. En la clasificación de las angiospermas, se encuentra en la clase Dicotiledónea, en la subclase *Archychiarnydeae*. El orden al que pertenece es Ranales, y se ubica en la familia *Anonaceae*. La guanábana se agrupa bajo el género *Annona* y se identifica como la especie *Muricata* (Meza y Bautista, 2004).

### **2.2.3 Descripción morfológica**

#### **2.2.3.1. Raíz**

El rizoma es ramificado y firme, extendiéndose en un principio alrededor del tronco a una profundidad aproximada de 30 cm. El sistema de raíces se expande, con la capacidad de soportar raíces de hasta un metro de profundidad en suelos óptimos durante períodos secos (Ayón et al., 2023).

#### **2.2.3.2. Tallo**

Los tallos viejos son gruesos, de color marrón claro, compactos, sin lentes y rumiantes; Los tallos jóvenes son regordetes, verdes, compactos, pubescentes, rodeados por una capa de pelos simples, densos, transparentes, flexibles y sin glándulas (Baquerizo, 2023).

### **2.2.3.3. Hojas**

Hojas elípticas-ovaladas, de 2 a 6 cm de ancho, de 6 a 12 cm de largo, por lo general puntiagudas en la punta, afiladas o ligeramente redondeadas en la base, de color verde oscuro, brillantes en la parte superior (Terán et al., 2019).

### **2.2.3.4. Flor**

Sus flores son solitarias, tripartitas, perfectas; Tallos regordetes, curvos y pubescentes rodeados por una gruesa capa de pelos transparentes, de hasta 6-9 mm de largo. Cáliz trilobulado, triangular, coriáceo a carnoso, marrón oscuro por fuera, verde lechoso por dentro, vena principal no distinta, 4-6 mm de largo, 4-5 mm de ancho, rama de 7-10 mm de diámetro durante la floración. Corola 3(-6) lobuladas, bilobuladas, lóbulos deltoides carnosos, marrón oscuro distalmente cónicos. Tiene muchos estambres. El superovario consta de muchos carpelos contiguos o continuos; estilo carnoso, sésil o peciolado (Leiva et al., 2018).

### **2.2.3.5. Fruto**

Es un fruto de la familia Annonaceae. Es de color verde, ovalado, cubierto de púas muy especiales, la pulpa es blanca, dulce, fragante y el hueso es liso y negro, su diámetro puede alcanzar los 50 cm y el peso puede alcanzar los tres kilogramos; Su origen no está claro, pero es tradicional en algunos países (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

### **2.2.3.6. Condiciones ambientales**

#### **2.2.3.6.1. Luminosidad.**

Este frutal requiere de gran iluminación, porque cuando las plantas se desarrollan bajo sombra se elongan y trastornan su correcto crecimiento. Luz mínima requerida es de 2000 horas de luz/año (Orlando et al., 2016).

#### **2.2.3.6.2. Temperatura.**

La temperatura es un factor clave para el desarrollo y la producción de las plantas de guanábana esta especie resistente al frío requiere un clima más tropical, húmedo y cálido (23 a 30°C) caracterizado por altitudes inferiores a los 1000 m sobre el nivel del mar (Sierra et al., 2022).

#### **2.2.3.6.3. Precipitación.**

1200 a 1500 mm / año

Altitud: 300 a 700 msnm (Anaya et al., 2021).

#### **2.2.3.6.4. Humedad relativa.**

En el cultivo de guanábana la humedad relativa alta puede provocar que sea más susceptible a la antracnosis, logrando daños en la cosecha, mientras que una humedad relativa baja, afecta la polinización y niveles de producción (Orlando et al., 2016).

#### **2.2.3.6.5. Suelos.**

La guanábana es una planta que prefiere la luz solar directa, se adapta bien a suelos húmedos y ricos en humus, pero también puede crecer en suelos arenosos y arcillosos. Además, tiende a prosperar en suelos con abundantes nutrientes (Leiva et al., 2018).

#### **2.2.3.7. Principales enfermedades de la guanábana**

##### **2.2.3.7.1. *Diplodia (Diplodia Sp).***

La pudrición de la raíz es una enfermedad provocada por varios hongos fitopatógenos entre ellos *Diplodia sp.*, se suele desarrollar en suelos pesados, mal drenados y con un alto contenido de materia orgánica. Este hongo se adaptada a la alta humedad, lo que lo hace más notorio durante la temporada de lluvias (Dávila et al., 2016).

##### **2.2.3.7.2. *Antracnosis (Colletotrichum gloesporioides Penz).***

Esta enfermedad es de importancia económica porque causa necrosis y pérdida de brotes, hojas, inflorescencias y frutos durante todo el año. En la inflorescencia se desarrollan lesiones marrones o negras en los pétalos, lo que provoca la caída temprana de los pétalos y la desaparición completa de la estructura floral (Ayón et al., 2023).

#### **2.2.4 Propagación**

##### **2.2.4.1. Sexual**

La reproducción sexual es el método primordial para propagar la guanábana (*Annona muricata*). Se recomienda obtener semillas de frutas provenientes de árboles sanos y productivos. Los árboles jóvenes pueden ser trasplantados al área de siembra permanente cuando alcanzan una edad de aproximada de tres meses (Tencio, 1992).

##### **2.2.4.2. Asexual**

El método de propagación asexual más frecuente es el injerto, con un énfasis especial en el injerto de yema y el injerto de enchapado. Además, los métodos de

corona y púa lateral son con frecuencia utilizados de forma comercial (Bonilla, 2022).

#### **2.2.4.3. Injerto**

El injerto es un método que se utiliza con frecuencia en la agricultura para combinar dos partes distintas de una planta: la parte aérea en desarrollo de la planta (injerto), y el sistema radicular (patrón). La técnica de injerto por empalme, también conocida como injerto convencional, se distingue por su alta velocidad y capacidad para completar un número importante de injertos en una sola hora (Alomia et al., 2022).

#### **2.2.4.4. Estacas**

Las estacas tienen un papel esencial, ya que los esquejes de este frutal en estado juvenil ofrecen una serie de beneficios, que incluyen mayor productividad, uniformidad en las plantaciones, simplicidad en el procesamiento y la capacidad de replicar genotipos distintivos. Además, permite que la reproducción comience antes de la madurez del árbol, lo que resulta beneficioso para preservar genotipos idénticos a la planta madre y es un proceso común en la horticultura que permite obtener un mayor número de plantas (Pérez et al., 2018).

#### **2.2.5 Micropropagación in vitro**

El método más relevante para el cultivo de tejidos vegetales es la micropropagación. El cultivo de meristemas puede dar como resultado plantas genéticamente idénticas a la planta madre, gran escala de especies de alto valor, especies en peligro de extinción y nuevas variedades o especies con reproducción natural limitada (Gonzales et al., 2019).

##### **2.2.5.1. Etapas del cultivo in vitro**

###### **2.2.5.1.1. Fase 0: Preparación de la planta madre.**

Se debe elegir una planta con buenas características en salud, vitalidad e intensidad al estrés (es decir, resistente a enfermedades causadas por hongos y virus) de esta manera se obtienen cultivos libres de contaminación (Luna et al., 2023).

###### **2.2.5.1.2. Fase 1: Desinfección del material.**

En la fase de desinfección para propagación in vitro de guanábana los explantes fueron sometidos a un pretratamiento mediante la aspersion de Captan 2.0 g/l, Benomilo 1.0 g/l y Estreptomocina 2.0 g/l. En el laboratorio se lavan los explantes con agua corriente y jabón, se sumerge la muestra vegetal en alcohol al

70% durante dos minutos. Se sumerge en una solución de NaClO al 30% durante 15 minutos y se enjuaga cuatro veces con agua destilada estéril para sumergir la muestra en ácido ascórbico al 1% durante una hora (Cruz et al., 2020).

#### **2.2.5.1.3. Fase 2: Introducción de material *in vitro*.**

En la fase dos para la Introducción de material *in vitro* después de que se realiza la desinfección superficial, se debe colocar en un medio estéril el material vegetal seleccionado, con el fin de mantener el proceso de forma aséptica. Entre una semana o 15 días, se da un proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, es así como inicia el proceso del cultivo *in vitro* (Cabral et al., 2022).

#### **2.2.5.1.4. Fase 3: Multiplicación.**

En la etapa de multiplicación de Quishuar Las semillas o parte vegetativa no deben tener fragmentos de plantas de 2-3 cm de largo. Se utilizan diferentes medios (MS o WPM) para transferir los fragmentos, con o sin el uso de hormonas. Las hormonas BAP (benciladenina) y ácido giberélico AG3 a 0.5 g/l y 0.1 g/l, esperando de esta forma el desarrollo de nuevos brotes, para subcultivar a otro medio de cultivo específico (Jiménez et al., 2020).

#### **2.2.5.1.5. Fase 4: Enraizamiento.**

Durante esta fase de enraizamiento se utiliza un medio semisólido que contiene la mitad de la concentración de sales y otros complementos para estimular la formación de raíces, con el objetivo de promover y facilitar el proceso de enraizamiento en el cultivo *in vitro* (Jiménez et al., 2019).

#### **2.2.5.1.6. Fase 5: Aclimatación.**

La fase de la aclimatación en medios de cultivo para la propagación en entornos *in vitro* se refiere a la adaptación de las plantas, ya que algunas de estas suelen tener estomas que no funcionan de forma adecuada y cutículas poco desarrolladas, por lo que esta fase es crucial. Esto se debe a la alta humedad relativa en los frascos de cultivo y a la limitada fotosíntesis que ocurre en estas condiciones. Estos explantes son mixotróficos en cultivo *in vitro*, lo que significa que apenas realizan fotosíntesis y obtienen la mayor parte de su carbono orgánico de los azúcares añadidos al medio de cultivo. Por lo tanto, antes de trasplantarlas a condiciones exteriores, es necesario someterlas a un proceso de aclimatación gradual, que incluye protección contra la luz y regulación de la transpiración de las estomas y la cutícula (Espinosa et al., 2019).

### **2.2.6 Medios de cultivo**

Los medios de cultivo para propagación in vitro son soluciones diseñadas para brindar condiciones nutricionales controladas a las plantas. Su utilidad abarca la multiplicación eficiente de plantas a partir de material vegetal, la producción de plantas de alta calidad libres de enfermedades, la conservación del germoplasma, la manipulación genética y la investigación científica en biología vegetal. En resumen, estos medios son herramientas esenciales en la propagación y mejora de plantas, así como en la investigación y aplicación de la biotecnología vegetal (Flores et al., 2017).

#### **2.2.6.1. Reguladores de crecimientos**

Las fitohormonas son compuestos producidos por las plantas que desempeñan un papel importante en la regulación de diversas funciones a nivel celular. Estas sustancias, presentes en concentraciones bajas, contribuyen a la regulación fisiológica de la planta, incluyendo procesos como el crecimiento, desarrollo, elongación, floración y fructificación. En la propagación de plantas, se utilizan citoquinas, auxinas, giberelinas y brasinoesteroides como reguladores de crecimiento. Estos compuestos son sintetizados químicamente y se emplean en la propagación in vitro. A menudo, estos reguladores de crecimiento sintéticos son más potentes que las fitohormonas (Alcantara et al., 2019).

#### **2.2.6.2. Auxinas**

Las auxinas son fitohormonas que desempeñan un papel importante en el alargamiento y división de las células, la formación de tejidos, la respuesta a estímulos como la luz y la gravedad (tropismos), la reducción de la caída de órganos, la promoción de la formación de raíces adventicias, la inducción de la diferenciación vascular y el control del crecimiento de los brotes apicales (Ventura et al., 2020).

#### **2.2.6.3. Citoquininas**

La combinación de citoquininas en concentraciones más bajas y en un menor número de subcultivos promueve la formación de yemas adventicias, su multiplicación y regeneración, lo que permite emplearlo en programas de mejora genética en bananos. La citoquinina más utilizada es la 6-Bencilaminopurina (6-BAP), que favorece la generación de nuevos brotes. La citoquinina concentraciones elevadas, puede limitar el crecimiento y aumentar la aparición de plantas con características no deseadas (Bermúdez et al., 2019).

#### **2.2.6.4. Ácidos giberélicos**

El ácido giberélico a diversos cultivos ha demostrado ser un regulador vegetal clave con efectos beneficiosos sobre el crecimiento y la resistencia a condiciones adversas. Sin embargo, el efecto puede variar en función de varios factores, según la especie, el momento de aplicación y la concentración utilizada. Se ha demostrado que la aplicación poscosecha de cultivos de hortalizas y frutas mejora la resistencia al estrés por congelación durante el almacenamiento (Palma et al., 2022).

#### **2.2.6.5. Etileno**

El etileno es una fitohormona esencial relacionada con la expansión y multiplicación de las células, lo que provoca un estímulo en el crecimiento de las plantas. Interviene en procesos vitales como el desarrollo de las flores, la maduración de los frutos y la respuesta a situaciones de estrés biótico y abiótico. Además, el etileno es conocido por su capacidad de acelerar la senescencia de los tejidos y la caída de órganos vegetales (Ventura et al., 2020).

#### **2.2.6.6. Ácido abscísico**

Interviene en la germinación de las semillas, la división celular, la regulación de la estructura de las raíces, el control de la apertura y cierre de las estomas, la inducción de la dormancia de las semillas y la respuesta a diversos tipos de estrés, como la salinidad, la sequía y la radiación (Ventura et al., 2020).

#### **2.2.7 *Sábila (Aloe vera)***

El Aloe vera es una planta suculenta que contiene propiedades esenciales, utilizada desde hace miles de años, por varias industrias entre ellos la medicina, cosmetología, farmacéuticas. Esta planta es cultivada en muchas partes del mundo, por sus beneficios.

##### **2.2.7.1. Morfología**

El *Aloe vera* es una planta que consta de raíz, tallo, hojas y flores durante su periodo de floración. Sus hojas crecen en forma de roseta alrededor del tallo y están protegidas por espinas. La estructura de las hojas incluye una corteza exterior cubierta por una película cuticular, que representa entre el 20% y el 30% del peso total de la planta y puede variar en color. En el centro de la hoja está el parénquima o gel, que constituye un aproximado entre el 65% y el 80% del peso total de la planta. Durante la floración, el tallo central produce racimos de flores tubulares amarillas o rojas (Grindlay y Reynolds, 1986).

### **2.2.7.2. Composición química**

El Aloe vera se caracteriza por su composición química, que incluye constituyentes fenólicos como cromonas y antraquinonas, como la aloensina, algunas antraquinonas contenidas en la aloína con efectos antiviral y con sustancias beneficiosas como saponinas, taninos, heterósidos antracénicos, esteroides, triacilglicéridos, aminoácidos, ARN, trazas de alcaloides, vitaminas (Fernández et al., 2012).

### **2.2.7.3. Obtención del gel**

Existe el método de separación mecánica y manual y frotación de las hojas para la obtención del gel de Aloe vera que consiste en cortar las hojas por sus orillas se separa de forma manual una de las caras, para luego proceder a raspar con una malla de acero. Este proceso es de bajo rendimiento y fácil, pero la separación provoca que, en ocasiones, el material vegetal presente en las paredes de las hojas entre en contacto con el gel reduciendo la calidad (Fernández et al., 2012).

## **2.3 Marco legal**

La siguiente investigación se fundamenta en bases legales como leyes y normas indicando el capítulo tercero de la constitución de la Republica del Ecuador. Asimismo, la Ley Orgánica de agrobiodiversidad, semillas y fomento de la agricultura sustentable y La ley Orgánica de sanidad agropecuaria.

### **2.3.1 Constitución de la República del Ecuador (2008)**

**Art. 281.-** La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma permanente. Para ellos, será responsabilidad del estado:

3. Fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria.
8. Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiadas para garantizar la soberanía alimentaria.
9. Regular bajo normas de bioseguridad el uso y desarrollo de biotecnología, así como su experimentación, uso y comercialización (Constitución de la República del Ecuador, 2008, Art. 281).

### **2.3.2 Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable**

**Art 1.-** Objeto. La presente Ley tiene por objeto proteger, revitalizar, multiplicar y dinamizar la agrobiodiversidad en lo relativo a los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura; asegurar la producción, acceso libre y permanente a semillas de calidad y variedad, mediante el fomento e investigación científica y la regulación de modelos de agricultura

sustentable; respetando las diversas identidades, saberes y tradiciones a fin de garantizar la autosuficiencia de alimentos sanos, diversos, nutritivos y culturalmente apropiados para alcanzar la soberanía alimentaria y contribuir al Buen Vivir o Sumak Kawsay (p. 9).

**Art 17.-** De las zonas de agrobiodiversidad. La Autoridad Agraria Nacional, en coordinación con la Autoridad Ambiental Nacional, los Gobiernos Autónomos Descentralizados Provinciales, institutos públicos de investigación y centros de educación superior, identificarán con la participación de los productores y organizaciones sociales, las áreas de agrobiodiversidad que fortalezcan la protección, conservación, manejo y uso sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura, para garantizar la soberanía alimentaria (Asamblea Nacional del Ecuador, 2017, Art. 1, 17).

### **2.3.3 Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria**

**Art 1.-** Objeto. - La presente Ley regula la sanidad agropecuaria, mediante la aplicación de medidas para prevenir el ingreso, diseminación y establecimiento de plagas y enfermedades; promover el bienestar animal, el control y erradicación de plagas y enfermedades que afectan a los vegetales y animales y que podrían representar riesgo fito y zoonosológico (p. 3).

**Art 4.-** De los fines. - La presente Ley tiene las siguientes finalidades:

- a) Garantizar el ejercicio de los derechos ciudadanos a la producción permanente de alimentos sanos, de calidad, inocuos y de alto valor nutritivo para alcanzar la soberanía alimentaria;
- c) Fortalecer el vínculo entre la producción agropecuaria y el consumo local mediante la tecnificación de los procesos fito y zoonosológicos de control y aseguramiento de la calidad de los productos agropecuarios (p. 4).

**Art 22.-** De las medidas fitosanitarias. - Para mantener y mejorar el estatus fitosanitario, la Agencia de Regulación y Control, implementará en el territorio nacional y en las zonas especiales de desarrollo económico, las siguientes medidas fitosanitarias de cumplimiento obligatorio:

- b) Campañas de sanidad vegetal, de carácter preventivo, de control y erradicación;
- c) Diagnóstico, vigilancia y notificación fitosanitaria de plantas y productos vegetales;
- d) Tratamientos de saneamiento y desinfección de plantas y productos vegetales, instalaciones, equipos, maquinarias y vehículos de transporte que representen un riesgo fitosanitario (Asamblea Nacional del Ecuador, 2017, Art. 1, 4, 22).

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Enfoque de la investigación

##### 3.1.1 Tipo de investigación

Este proyecto es de tipo experimental, se aplicó enfoques explicativo y correlacional, ya que se midió más de una variable, para ayudar a describir de una forma más profunda, eficiente el estudio que se realizó, para tener un mejor desarrollo del proyecto y enriquecer la comprensión del caso de estudio.

##### 3.1.2 Diseño de investigación

###### 3.1.2.1. Investigación descriptiva

Se recolectó datos relevantes procedente de otras investigaciones realizadas, relacionadas con el tema de investigación que aportó a los objetivos de este estudio, para obtener un análisis de datos, con el fin de comprender de una mejor forma el caso a estudiar.

###### 3.1.2.2. Investigación explicativa

Se presentó con detalles los sucesos dentro del desarrollo del estudio para conocer más acerca del proyecto, de esta manera llegar a una correcta conclusión que permitió replicar el estudio con el fin de dar nuevos puntos de vistas y aportar a las investigaciones experimentales realizadas.

###### 3.1.2.3. Investigación experimental

En esta investigación se utilizó las variables independientes que determinó el efecto en las variables dependientes lo que permitió una investigación más precisa, ya que se basa en el análisis estadístico, con el fin de aceptar o rechazar una hipótesis, donde se aplicó tratamientos para la desinfección y medios de cultivo en los segmentos nodales de guanábana.

#### 3.2 Metodología

##### 3.2.1 Variables

###### 3.2.1.1. Variable dependiente para fase I de protocolos de desinfección

Utilización de protocolos para la desinfección de segmentos nodales de guanábana mediante la desinfección con gel de *Aloe vera* y productos convencionales.

###### 3.2.1.2. Variable independiente para fase II de medios de cultivo

En las variables independiente se empleó el uso de fitohormonas de gran importancia como las sintéticas: giberelina (GA3), citoquinina (6-BAP) Auxinas (2,4-D) y orgánicos presentes en el gel de *Aloe vera* que se aplicó en los medios de

cultivo para los tratamientos que se utilizó como estimulantes en el desarrollo vegetativo de segmentos nodales de guanábana.

#### **3.2.1.2.1. Porcentaje de contaminación (%).**

Para medir la variable de contaminación se observó de forma detallada cada uno de los frascos con el objetivo de registrar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos como bacterias y hongos, con la siguiente fórmula establecida por (Borges y Estrada, 2009).

$$PC = \left( \frac{\text{número de muestras contaminadas}}{\text{total de muestras}} \right) \times 100$$

#### **3.2.1.2.2. Porcentaje de oxidación (%).**

Con el fin de determinar la oxidación presente en los explantes para esta variable se procedió a inspeccionar y a registrar en una libreta de laboratorio la presencia o ausencia de oxidación, para los protocolos de desinfección como para el establecimiento de medios de cultivo, estos datos se obtuvieron por medio de la aplicación de la siguiente fórmula establecida por (Borges y Estrada, 2009).

$$PO = \left( \frac{\text{número de tejidos dañados por oxidación}}{\text{total de tejidos analizados}} \right) \times 100$$

#### **3.2.1.2.3. Porcentaje de explantes viables (%).**

Se llevó un registro de los explantes viables para procesos de desinfección y medios de cultivo del número de explantes viables; es decir, la cantidad de explantes que mostraron un desarrollo saludable, con la siguiente fórmula establecida por (Borges y Estrada, 2009).

$$PEV = \left( \frac{\text{número de explantes con crecimiento saludable}}{\text{total de explantes analizados}} \right) \times 100$$

### **3.2.1.3. Variable dependiente para fase II de medios de cultivo**

#### **3.2.1.3.1. Número de brotes.**

Se realizó un conteo del número de brotes o yemas que se desarrolló a partir de los tejidos vegetales cultivados, este proceso se realizó a intervalos específicos (periodos de 7,14,21,28 días).

#### **3.2.1.3.2. Tamaño del explante (cm).**

Se llevó a cabo la medición con una regla, la cual se extendió desde la base hasta el punto más alto de los brotes en crecimiento, con el fin de recolectar los datos de una forma más precisa (periodos de 7,14,21,28 días).

La elección de los ensayos establecidos en el presente estudio responde a la necesidad de optimizar los protocolos de desinfección para la propagación de explantes de guanábana y así identificar el protocolo adecuado que garantice el desarrollo del tejido vegetal. Los protocolos fueron formulados con el objetivo de identificar las concentraciones y tiempos de inmersión más efectivas de agentes desinfectantes y condiciones de tratamiento, para reducir la contaminación fúngica, bacteriana, prevenir la oxidación y asegurar una alta viabilidad de los explantes (Tabla 1)

### 3.2.2 Tratamientos

**Tabla 1.**  
**Pre ensayos para protocolos de desinfección**

N# de protocolos	Tratamientos
1	3 gotas /1L Tween 20 (10 min) + Alcohol 70% (30 seg) +1% NaClO (10 min) y (8 min)
2	0.15 g/L Ácido cítrico (10 min) +3 gotas /1L Tween 20 (10 min) + 10%,15% y 20% <i>Aloe vera</i> (30 min) + 70% Alcohol (30 seg) +1% NaClO (10 min)
3	0.15 g/L Ácido cítrico (10 min) +2 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas /1L Tween 20+ 3ml/L povidona (10 min) + 10%,15% y 20% <i>Aloe vera</i> (30 min) + 70% Alcohol (30 seg) +1% NaClO (10 min)
4	Ácido cítrico 0.1 g/L (10 min) + 6 ml/L Azoxytrobin (15 min), (20 min) + Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 10% <i>Aloe vera</i> (30 min) + 70% Alcohol (30 seg) +1% NaClO (10 min)
5	0.15 g/L Ácido cítrico (10 min) + 2.0 g/L Captan (5 min) + Tween 20+ 3ml/L povidin (10 min) + 10% y 20% <i>Aloe vera</i> (30 min) + 70% Alcohol (30 seg) +1% NaClO (10 min)
6	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Acido ascórbico (10 min) +8 ml/L Azoxytrobin (8 min) +2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) + 20% <i>Aloe vera</i> (5 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (5 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio
7	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Acido ascórbico (10 min) +6 ml/L Azoxytrobin+2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 10%,15% y 20% <i>Aloe vera</i> (15 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (10 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio
8	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Ácido ascórbico (10 min) +4.0 g/L Captan (5min) +0.5 g/L Riflaxina (5 min) + 1% NaClO (8 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio
9	10 ml/L Azoxytrobin+2.5 g/L Fosetyl aluminium (8 min) + 1.40 g/L Riflaxina (8 min) +3ml/L povidona (3 min) + 1% NaClO (8 min) +4 g /L Cisteína
10	10 ml/L Azoxytrobin (5 min) +2.5 g/L Fosetyl aluminium (8 min) + 1.40 g/L Riflaxina (8 min) +4 g /L Cisteína
11	8.0 ml/L Azoxytrobin (24 h) +2.0 g/L Fosetyl aluminium (24 h) + 0.5 g/L Riflaxina (10 min) + 20% <i>Aloe vera</i> (3 min) +3 % NaClO (10 min) +4 g /L Cisteína

Elaborador por: La Autora, 2024

La selección de los medios de cultivo se orientó a la optimización de las condiciones para la propagación de explantes de guanábana, mediante la evaluación de diversas combinaciones de reguladores de crecimiento y reactivos. Los tratamientos se formularon con el propósito de identificar el medio más eficaz para promover el crecimiento saludable de los explantes. Cada pre ensayo para medios de cultivo se registró y comparó entre ellos, ya que los explantes según los tratamientos de medios, responden de manera diferente. Todos los medios están conformados con medios de cultivo, fungicidas y fitohormonas con el fin de establecer un medio adecuado para la fase de propagación (Tabla 2).

**Tabla 2.**  
***Pre ensayo para medios de cultivos***

<b>N# de Medios de cultivo</b>	<b>Tratamientos</b>
1	MS 43.40 gr/L+1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> + 0.5g/L Tetraciclina
2	0.53 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> + 10 y 15% <i>Aloe vera</i> +0.5g/L Tetraciclina
3	0.53 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> +10%y 15% <i>Aloe vera</i> + 0.5g/L Tetraciclina+ 0.1 mg CuSO <sub>4</sub>
4	0.265 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> +10%y 15% <i>Aloe vera</i> + 0.5 g/L Tetraciclina+ 3.0 ml/L Azoxytrobín
5	0.53 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP+2.0 mg/L 2.4-D +4 mg/L GA <sub>3</sub> +0.5 g/L Tetraciclina+ 3.0 ml/L Azoxytrobín + 2.5 g/L Carbón activado
6	0.53 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP+2.0 mg/L 2.4-D +4 mg/L GA <sub>3</sub> +0.5 g/L Riflaxina+ 2.5 g/L Carbón activado +1.32 ml/L Azoxytrobín+ 2 g/L Fosetyl
7	0.53 gr/L WPM+1.5 mg/L 6-BAP+2.0 mg/L 2.4-D +4 mg/L GA <sub>3</sub> +5 g/L Riflaxina+ 1.0 g/L Carbón activado +13.2 ml/L Azoxytrobín+ 2 g/L Fosetyl

**Elaborado por: La Autora, 2024**

### ***3.2.3 Diseño experimental***

Se aplicó un diseño completo al azar (DCA) para las dos fases del proyecto con cuatro tratamientos y cinco repeticiones para protocolos de desinfección y medios de cultivo (20 unidades experimentales) cada unidad experimental fue conformada por cinco réplicas, un explante por réplica, en total se utilizó cien explantes.

### 3.2.4 Delimitación experimental

**Tabla 3.**

***Ensayo para la fase I de protocolos de desinfección***

Variables	Descripción
Tipo de siembra	<i>In vitro</i>
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	5
Número de réplicas por repetición	5
Número de unidades experimentales	20
Número total de explantes	100

**Elaborado por: La Autora, 2024.**

**Tabla 4.**

***Ensayo para la fase II de establecimiento en medios de cultivo***

Variables	Descripción
Tipo de siembra	<i>In vitro</i>
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	5
Número de réplicas por repetición	5
Número de unidades experimentales	20
Número total de explantes	100

**Elaborado por: La Autora, 2024**

### 3.2.5 Recolección de datos

#### 3.2.5.1. Recursos

##### 3.2.5.1.1. Recursos bibliográficos.

Se investigó en otros proyectos digitales como tesis, libros, informes, artículos científicos en revistas de alto impacto.

##### 3.2.5.1.2. Materiales y herramientas.

Se utilizó materiales como frascos de vidrio, tubos de ensayo pinzas, bisturí, matraz, vasos de precipitación, papel de aluminio, plástico film, cloro, agua destilada, cajas de cartón, agar, microscopios, ph-metros, cuarto de crecimiento, balanza analítica, autoclave, cámara de flujo laminar, medidor de pH, entre otros materiales de laboratorio.

##### 3.2.5.1.3. Material experimental.

Las plantas de guanábana y la sábila, el alcohol al 70%, NaClO al 5%, jabón líquido-povidin.

##### 3.2.5.1.4. Recursos humanos.

Tesista y tutor del proyecto.

### 3.2.5.1.5. Recursos económicos.

**Tabla 5.**  
**Valoración económica**

<b>Materiales</b>	<b>Valor total (\$)</b>
Medios de cultivo	50
Azúcar	1
Agar-agar	15
2,4-D	40
6BAP (citoquinina)	80
Cloro al 5%	3
Alcohol 70%	8
Alcohol 96%	3
Jabón líquido povidyn 120 ml	8
Cisteína	66
Carbón activado	80
Otros materiales	120
<b>Total</b>	<b>\$ 474</b>

**Elaborado por: La Autora, 2024**

### 3.2.5.2. Métodos y técnicas

#### 3.2.5.2.1. Métodos.

- Método inductivo

Este método inductivo que se aplicó en el proyecto posibilitó la evaluación de los resultados con el propósito de cumplir con los objetivos e hipótesis establecidas, por medio de la observación y la experimentación de los datos recolectados, para analizar la información que permitió validar la investigación.

- Método deductivo

Este método permitió la observación detallada de casos específicos que se han evaluado para la comprobación de las hipótesis, con el fin de realizar un análisis más rápido. El aplicar este método, se garantizó un proceso que se dirige desde lo general a lo particular, basado en los resultados y no en interpretaciones subjetivas.

- Método sintético

El empleo de este método facilitó la conexión coherente de los resultados obtenidos en el estudio, la construcción de la discusión y conclusiones en el contexto general del proyecto, por medio de la observación de diferentes fases y factores que influyen en el desarrollo del proyectos, como el tipo de medio de cultivo, la concentración de nutrientes y fitohormonas, y las condiciones ambientales controladas.

### 3.2.5.2.2. Técnicas.

#### Manejo del ensayo

- Procesos del proyecto experimental

Se seleccionó cada segmento con su yema axilar a partir de la yema terminal de la rama, tomando en cuenta características fenotípicas, producción y estado fitosanitario de la planta.

Para los tratamientos en protocolos de desinfección los explantes tratados se colocaron en medios de cultivo como WPM, Murashige y Skoog en complemento con los reguladores de crecimiento y agar. Los protocolos de desinfección para todos los tratamientos son con Azoxystrobin, Fosetil aluminio, jabón líquido-povidin con tween 20, Alcohol al 70%, e NaClO al 1% y gel de *Aloe vera* al 10,15 y 20%.

- Obtención del gel de *Aloe vera*

Para obtener el extracto de *Aloe vera*, primero se seleccionó una hoja de sábila grande, madura y en buen estado. La hoja se lavó con jabón líquido y se secó. Se colocó la hoja en un recipiente con agua destilada durante un período de ocho a 12 horas para obtener la aloína. El gel de *Aloe vera* se raspa de la hoja con una cuchara. Para un gel de *Aloe vera* más puro y sin residuos se pasó por un colador, se procedió a diluir con 5 ml de agua destilada junto con la aloína.

- Fase I: Protocolos de desinfección

Para el proceso de protocolo de desinfección se esterilizó el agua, la solución preparada de gel de *Aloe vera* y todos los materiales dentro del autoclave.

Cada segmento con su yema axilar se cortó de uno a 2 cm, para luego en la cámara de flujo laminar, realizar los siguientes procedimientos:

Se preparó los fungicidas en 800 ml de agua y se agito durante cinco minutos, seguido de tres enjuagues. El jabón líquido povidona junto con el tween 20 se colocó en un frasco con agua, luego se agitó alrededor de diez minutos, se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril.

Los segmentos de nodales se sumergieron durante 15 min en 10%,15% y 20% de gel de sábila.

Los explantes se colocaron en alcohol al 70% durante 1 min y luego se enjuagó una vez con agua destilada. En un vaso precipitado de 800 ml, se procedió a sumergir los explantes con NaClO al 1% v/v se agitó durante diez minutos. Se realizó tres lavados, antes de la siembra se sumergió los explantes en hidróxido de sodio.

Los explantes se sembraron en sus respectivos frascos y se utilizó pinzas que fueron esterilizadas. Se sellaron los frascos con papel de aluminio y se cubrió con film plástico.

- Fase II: Establecimiento en medios de cultivo

Se dividió en cuatro tratamientos, cada uno de los cuales involucro el uso variado de medio WPM, gel de *Aloe vera*, combinado con reguladores de crecimiento. A continuación, se detalla la preparación de los medios de cultivo:

En un vaso de precipitación de 500 ml, se añadió 250 ml de agua desionizada, se utilizó una varilla de vidrio para realizar la agitación.

Se procedió a pesar los componentes del medio, tanto para la preparación de los medios con MS, WPM, gel de *Aloe vera*, los reguladores de crecimiento sintéticos y el agar. Estos componentes fueron incorporados en el vaso de precipitación, a excepción del agar, mientras se mantuvo una agitación constante hasta su completa disolución.

Luego, se ajustó el volumen hasta alcanzar los 500 ml, se agregó agua desionizada con un pH de 5.7 previo a la esterilización.

La solución fue calentada en un agitador magnético con control de temperatura y se añadió el agar. Todos los materiales se sometieron a un proceso de esterilización en autoclave a 121°C y 1 atm durante un periodo de 20 minutos.

Los materiales esterilizados, se trasladaron a una cámara de flujo, se llenaron los frascos con 15 ml de la solución de los medios preparados. Para su posterior almacenamiento, los frascos se volvieron a sellar con papel de aluminio y plástico film, para evitar el crecimiento de agentes patógenos.

Se manejo un fotoperiodo de 15 horas luz y ocho de oscuridad a una temperatura de  $26 \pm 2$  °C.

- Registro de datos

Cada semana, se registró todas las observaciones de las variables correspondientes a los diferentes tratamientos junto con sus repeticiones. En el caso de los tratamientos relacionados con los protocolos de desinfección, se llevó a cabo una evaluación semanal del progreso de cada repetición, siete días después de la siembra, hasta alcanzar un período total de 21 días. Durante la fase de establecimiento en medios de cultivo. Se evaluó el progreso de cada repetición en intervalos de siete días después de la siembra con un periodo total de 28 días de desarrollo de los explantes.

### **3.2.6 Análisis estadístico**

Se realizó tablas de contingencia para los datos categóricos basados en una matriz de S.C y C. Cero señala ausencia de contaminación/oxidación (S.O) y 1 indica presencia de contaminación/oxidación(O). Y para la prueba de hipótesis se utilizó Ji cuadrado ( $p < 0.05$ ) y la herramienta infoStat 2020.

#### **3.2.6.1. Hipótesis estadística**

##### **3.2.6.1.1. Fase I de protocolos de desinfección.**

Ho: Los tratamientos para los protocolos de desinfección no mostraron diferencias significativas en el efecto antimicrobiano de la muestra vegetal.

Ha: al menos uno de los tratamientos de protocolos de desinfección mostró diferencias significativas en la prevención de la contaminación de los segmentos nodales.

##### **3.2.6.1.2. Fase II de establecimiento de medios de cultivo.**

Ho: Los tratamientos para los medios de cultivo no mostraron diferencias significativas en el crecimiento de la muestra vegetal.

Ha: al menos uno de los tratamientos para los medios de cultivo mostró diferencias significativas en el crecimiento de segmentos nodales.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Establecimiento de los protocolos de desinfección y propagación

Para el establecimiento de explantes viables se consideró la ausencia de contaminación y oxidación a los 21 días de evaluación. Los resultados indicaron que los protocolos no redujeron por completo la contaminación, ni la oxidación. Sin embargo, la capacidad antifúngica varió entre los protocolos, el D1, con 10% de gel de *Aloe vera*, mostró un 72% de explantes libres de contaminación por hongos. De manera similar, el protocolo D2, con 15% de gel, resultó con 72% libre de contaminación fúngica. En contraste, el protocolo D3, con 20% de gel de *Aloe vera*, minimizó la contaminación con 84% de explantes libres de hongos. El protocolo D4, presentó una reducción de contaminación por hongos del 92%.

Los resultados sugieren que los protocolos establecidos tienen la capacidad como desinfectante para minimizar la presencia de hongos, destacando el hipoclorito de sodio (NaClO) en el control fúngico. Sin embargo, en la contaminación bacteriana y oxidación los protocolos no mostraron un control en las variables evaluadas (Tabla 6).

**Tabla 6.**

***Porcentaje de explantes establecidos de acuerdo con la contaminación y oxidación durante 21 días de evaluación (%).***

Protocolos	Hongos	Bacterias	Oxidación
D1: <i>Aloe vera</i> 10%	72	0	0
D2: <i>Aloe vera</i> 15%	72	0	0
D3: <i>Aloe vera</i> 20%	84	0	0
D4: NaClO 1%	92	0	0

**Elaborado por: La Autora, 2024**

#### **4.1.1 Resultados del establecimiento de medios de cultivo**

Para la fase de propagación, se ajustó los pre ensayos de protocolos de desinfección, con el fin de controlar los agentes contaminantes y reducir la oxidación, además se realizó pre ensayos de medios de cultivos con gel de *Aloe vera*, diferentes reguladores de crecimientos y reactivos para el control de hongos, bacterias y oxidación. A pesar de los pre ensayos que se aplicaron, no se logró el establecimiento de los explantes para la evaluación de medios de cultivos para la propagación *in vitro* de guanábana, debido a la persistencia de contaminación endófito y oxidación fenólica en los explantes (Figuras 22,23,24 y 25).

## 4.2 Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de *Aloe vera* en la desinfección

En el proceso de desinfección de los explantes de guanábana se realizó varios pre ensayos, con diferentes reactivos para el control de la oxidación, también el uso de fungicidas y bactericidas, en distintas concentraciones y tiempos de inmersión, entre ellos el uso de gel de *Aloe vera* al 10,15, y 20%. El establecimiento de los protocolos se realizó con la selección de aquellos pre ensayos que mostraron los mejores resultados en el control de agentes endófitos, así como en el control de la oxidación. Sin embargo, al establecer los protocolos para los ensayos no se logró un control de las bacterias, esto puede darse porque las bacterias están latentes dentro de las plantas durante periodos prolongados (Tabla 7).

**Tabla 7.**  
***Establecimiento de protocolos de desinfección***

Tratamientos	Descripción	Días de evaluación
D1	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Ácido ascórbico (10 min) +6 ml/L Axozystrobin+2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 10% <i>Aloe vera</i> (15 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (10 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio	21
D2	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Ácido ascórbico (10 min) +6 ml/L Axozystrobin+2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 15% <i>Aloe vera</i> (15 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (10 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio	21
D3	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Ácido ascórbico (10 min) +6 ml/L Axozystrobin+2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 20% <i>Aloe vera</i> (15 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (10 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio	21
D4	0.15 g/L Ácido cítrico + 0.1 g/L Ácido ascórbico (10 min) +6 ml/L Axozystrobin+2.0 g/L Fosetyl aluminium (5min) +3 gotas Tween 20+ 3 ml/L povidin (10 min) + 70% Alcohol (1 min) +1% NaClO (10 min) +5 ml/L Hidróxido de sodio	21

Elaborado por: La Autora, 2024

### 4.2.1 Contaminación por hongos

Los cuatro protocolos de desinfección se evaluaron durante 21 días. En lo cual, no se evidenció diferencias significativas( $p>0.05$ ) en los periodos evaluados de 14 y 21 días. Sin embargo, todos los protocolos de desinfección presentaron explantes contaminados a los 21 días. El tratamiento D4, a base de hipoclorito de

sodio (NaClO), presentó dos explantes contaminados, el D3, cuatro explantes mientras que el D1 y D2 mostró siete explantes contaminados (Tabla 8).

**Tabla 8.**

**Número de explantes de contaminación por hongos durante 21 días de evaluación**

Protocolos	Día 7		Día 14		Día 21	
	S.C	C	S.C	C	S.C	C
D1 <i>Aloe vera</i> 10%	21	4	20	5	18	7
D2 <i>Aloe vera</i> 15%	22	3	19	6	18	7
D3 <i>Aloe vera</i> 20%	25	0	23	2	21	4
D4 NaClO 1%	25	0	24	1	23	2
Ji cuadrado P valor	0.0496		0.1301		0.2123	

Valor  $p > 0.05$  no muestra significancia estadística entre tratamientos según prueba Ji cuadrado. S.C: señala explantes sin contaminación. C: indica explantes contaminados.

Elaborado por: La Autora, 2024

#### 4.2.2 Contaminación por bacterias

A pesar de aplicar diversos protocolos de desinfección, se detectó contaminación bacteriana en los 25 explantes evaluados a los 21 días. En los resultados de contaminación por bacterias, se presentó un valor  $p = 0.0285$ , lo que indica diferencia significativa entre los protocolos a los siete días después de la siembra *in vitro*. No obstante, a los 14 y 21 días de evaluación, no se observó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Tabla 9).

**Tabla 9.**

**Número de explantes contaminados por bacterias durante 21 días de evaluación**

Protocolos	Día 7		Día 14		Día 21	
	S.C	C	S.C	C	S.C	C
D1 <i>Aloe vera</i> 10%	5	20	2	23	0	25
D2 <i>Aloe vera</i> 15%	1	24	0	25	0	25
D3 <i>Aloe vera</i> 20%	1	24	1	24	0	25
D4 NaClO 1%	0	25	0	25	0	25
Ji cuadrado P valor	0.0285		0.2862		0.9999	

Valor  $p > 0.05$  no muestra significancia estadística entre tratamientos según prueba Ji cuadrado. S.C: señala explantes sin contaminación. C: indica explantes contaminados.

Elaborado por: La Autora, 2024

### 4.2.3 Oxidación

De 25 explantes evaluados por cada protocolo de desinfección, se presentó una oxidación total a los 21 días después de la siembra *in vitro*. No hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos para los periodos evaluados de 7, 14 y 21 días (Tabla 10).

**Tabla 10.**  
**Número de explantes oxidados durante 21 días de evaluación**

Protocolos	Día 7		Día 14		Día 21	
	S.O	O	S. O	O	S. O	O
D1 <i>Aloe vera</i> 10%	4	21	1	24	0	25
D2 <i>Aloe vera</i> 15%	2	23	0	25	0	25
D3 <i>Aloe vera</i> 20%	6	19	3	22	0	25
D4 NaClO 1%	4	21	0	25	0	25
Ji cuadrado P valor	0.4972		0.1001		0.9999	

*Valor  $p > 0.05$  no muestra significancia estadística entre tratamientos según prueba Ji cuadrado. S.O: señala explantes sin oxidación. O: indica explantes oxidados.*

**Elaborado por: La Autora, 2024**

### 4.3 Análisis del impacto fitorregulador del extracto de *Aloe vera* en la propagación de explantes de guanábana

Durante el proceso de establecimiento para la fase de propagación, Se realizaron nuevos pre ensayos para desarrollar protocolos iniciales los cuales son fundamentales para evaluar el efecto del gel de *Aloe vera* como fitorregulador natural. Estos protocolos demostraron ser efectivos en el control de la contaminación por hongos. Sin embargo, al replicar estos protocolos para establecer la fase de propagación, se observó un incremento en la contaminación por bacterias. En consecuencia, fue necesario ajustar los protocolos establecidos y se evidenció un cambio significativo en el incremento de contaminación por hongos, por esta razón se realizó un cambio de la planta madre para la recolección de los explantes. Al realizar los cambios de la planta madre, la alta contaminación por hongo persistió, pero se redujo la contaminación por bacterias. El uso de altas dosis de antibióticos, como la Riflaxina en los medios de cultivos pudo haber contribuido a la reducción de la contaminación por bacterias. Aunque, la persistencia en la contaminación endófito por hongos no favoreció la propagación *in vitro* de los explantes de guanábana (Tabla 11).

**Tabla 11.**  
***Establecimiento de medios de cultivo***

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>	<b>Días de evaluación</b>
M1	100% Medio WPM, 1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> +0.5 g/L + 2.5 g/L Carbón activado +1.32 ml/L Azoxystrobin+ 2 g/L Fosetyl+ 5 g/L Riflaxina	28
M2	100% Medio WPM, 1.5 mg/L 6-BAP, 2.0 mg/L 2.4-D, 4 mg/L GA <sub>3</sub> + 2.5 g/L Carbón activado +1.32 ml/L Azoxystrobin+ 2 g/L Fosetyl+5 g/L Riflaxina	28
M3	50% Medio WPM, 1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> , 10% p/v gel de A. vera + 2.5 g/L Carbón activado +1.32 ml/L Azoxystrobin+ 2 g/L Fosetyl+5 g/L Riflaxina	28
M4	1.5 mg/L 6-BAP, 4 mg/L GA <sub>3</sub> , 15% p/v gel de A. vera+0.5 g/L+ 1.25 g/L Carbón activado +1.32 ml/L Azoxystrobin+ 2 g/L Fosetyl+5 g/L Riflaxina	28

**\*MS: Murashige y Skoog, Lloyd y McCown Woody Plant Medium. Fuente: Abubacker y Deepalakshmi (2017). Elaborado por: La Autora, 2024**

## 5. DISCUSIÓN

Según los resultados de la presente investigación sobre el establecimiento de protocolos de desinfección y propagación con gel de *Aloe vera* en explantes de guanábana, se demuestra que el protocolo D4, con jabón líquido povidona, alcohol al 70 e hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%, obtiene menor contaminación con 92% de explantes libres de hongos, aunque con 0% de explantes libres de bacterias durante los 21 días de evaluación. Este resultado es significativo ya que demuestra la capacidad del hipoclorito de sodio (NaClO) como agente desinfectante en el control de hongos endófitos en comparación con gel de *Aloe vera* al 10% con un 28% de explantes contaminados por hongos y 100% de contaminación por bacterias, además de no prevenir la oxidación y, por lo tanto, no es posible obtener datos concluyentes sobre la eficacia como un fitorregulador natural, por la insuficiencia de explantes viables. Estos resultados no concuerdan con estudios previos en explantes de babaco donde el gel de *Aloe vera* al 10% aplicado durante 30 minutos, con resultados favorables como el número y tamaño de explantes adecuados y una contaminación del 3% a los 28 días de post-siembra (Reyes, 2022).

A pesar de los ensayos realizados para la fase de propagación, no es posible establecer un protocolo idóneo para la fase mencionada. Se evidencia explantes no viables del 0% a los 21 días de evaluación. Los daños se atribuyen a la presencia de hongos endófitos en la planta madre. Asimismo, para comprobar la efectividad de gel de *Aloe vera* como fitorregulador, es indispensable un protocolo de desinfección que garantice la viabilidad o supervivencia de los explantes. Estos resultados difieren de los hallazgos de Tucuch et al. (2022), quienes reportan que el gel de *Aloe vera* favorece el crecimiento de las plántulas de *Capsicum chinense*, con un desarrollo radicular del 18%.

El comportamiento de los microorganismos, durante los pre ensayos y en el establecimiento de los protocolos de desinfección realizados puede atribuirse a los cambios experimentados por la planta madre, los cuales afectan la efectividad de los protocolos, ya que los microorganismos endógenos están latentes en la planta, sin causar daños aparentes, lo cual concuerda con los estudios de Rodríguez et al. (2021) donde indican que los microorganismos endófitos pueden activarse dentro de los tejidos vegetales, debido a la senescencia o el estrés a la que está expuesta la planta hospedera. Por otra parte, se puede atribuir la alta infestación por hongos

en el presente estudio, a la aplicación de antibióticos en los medios de cultivo que inhiben el crecimiento bacteriano, como muestran Echenique y Huanca (2022). Ya que, los recursos liberados por las bacterias son aprovechados por los hongos, lo que provoca que el hongo pueda sobrevivir como indican (García y Comstock, 2018).

En el presente estudio, el uso de gel de *Aloe vera* en concentraciones 10%, 15% y 20%, demuestran capacidad para reducir la contaminación por hongos en explantes de guanábana, aunque no tan considerable como el hipoclorito de sodio (NaClO). La concentración de 10% y 15% presentan un control fúngico del 72% a los 21 días del establecimiento en comparación con el 20% de gel de *Aloe vera* con el 84%, pero la capacidad de inhibición de *Aloe vera* es inferior a la del hipoclorito de sodio (NaClO) con 92% a los 21 días. Esto coincide con los hallazgos de Jaramillo et al. (2017), quienes observan una actividad antifúngica moderada en *Mycosphaerella fijensis* con gel de *Aloe vera*, con un porcentaje de inhibición micelial del 44.84%.

La propagación *in vitro* de guanábana presenta desafíos significativos en la desinfección de explantes. Mongelos et al. (2020) demuestran que el uso de hipoclorito de sodio al 5% durante cinco minutos da como resultados un 62.5% de explantes viables, aunque con un 37.5% de contaminación por hongos y bacterias, y un 100% de oxidación, los autores atribuyen la oxidación a los compuestos fenólicos en los explantes y no a los protocolos de desinfección. Esto concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde se utiliza una concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 10 minutos. Se obtienen resultados similares en términos de oxidación, con un 100%. A pesar de que se disminuye la concentración de NaClO. Sin embargo, se observa un 8% de contaminación por hongos y un 100% de contaminación por bacterias a los 21 días de evaluación. Por el contrario, Hernández y Nieto (2018) demuestran la capacidad del extracto de *Aloe vera* para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, la inhibición se atribuye a las antraquinonas y el acemanano. Lo que no coincide con los resultados de esta investigación, ya que los protocolos de desinfección que incluyen gel de *Aloe vera* en concentraciones del 10%, 15% y 20%, no logran reducir de forma significativa la contaminación bacteriana, con un número de 25 explantes que representa el 100% de contaminación.

El uso de reguladores de crecimiento en la propagación *in vitro* es crucial para el desarrollo y viabilidad de los explantes. López (2018) demuestra que las fitohormonas como el ácido neftalenoacetico (ANA) y el ácido indol butírico (AIB) son efectivas para el enraizamiento de esquejes de guanábana. En su estudio, el tratamiento T2 con una concentración de 3000 mg/kg de estas hormonas resulta en una tasa de formación de callos del 83%, porcentaje de enraizamiento del 75%, número de raíces de 2.3, número de brotes de 2.44 y longitud de brotes 2.50 cm. En contraste, los resultados en la presente investigación no son favorables, ya que, a pesar de aplicar diversos tratamientos y condiciones, no se da la supervivencia, ni el desarrollo de brotes en los explantes.

A pesar de que García et al. (2020) evidencian que el extracto de *Aloe vera* al 4% y 6% proporciona un crecimiento significativo en altura entre (15 cm - 16 cm), número de hojas de (6 - 7), diámetro del pseudotallo (0.7 mm y 0.8 mm), una notable cantidad y longitud de raíces (13 cm), se discrepa con los resultados de esta investigación, ya que los explantes no logran desarrollarse de manera adecuada, con una viabilidad del 0%, debido a la persistencia en los niveles de oxidación y contaminación.

De acuerdo con los resultados en esta investigación, al ser comparados con estudios previos, se ha logrado constatar que el gel de *Aloe vera* no muestra capacidad en el control de microorganismos endófitos en la desinfección y propagación de explantes de guanábana. Se rechaza la hipótesis general, ya que ninguno de los protocolos reduce la contaminación de los explantes y ninguno de los medios de cultivo influye en el crecimiento vegetativo.

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

Los protocolos evaluados son fundamentales ya que proporcionan información crucial que facilita la adecuación de los métodos para la desinfección y propagación *in vitro* de explantes de guanábana. La desinfección basada en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% demuestra una alta capacidad axénica, con mayor cantidad de explantes establecidos, libres de hongos, que supera a los protocolos que emplean gel de *Aloe vera*.

El uso del extracto de *Aloe vera* al 20% demuestra una reducción de la contaminación por hongos, con una diferencia significativa de 21 explantes entre los siete a 21 días de evaluación en comparación con las otras concentraciones.

A pesar de la falta de viabilidad en los explantes de guanábana, los protocolos de desinfección con *Aloe vera* no afectan el estado sanitario de los segmentos y proporcionan un aporte importante para comprender los desafíos en la propagación *in vitro* de guanábana, con el objetivo de ajustar los protocolos de desinfección, propagación y mejorar las condiciones para el desarrollo de explantes sanos. Sin embargo, debido a una alta incidencia de contaminación por microorganismos endófitos, no es posible la evaluación de los medios de cultivo.

### 6.2 Recomendaciones

Se recomienda continuar con la optimización de los protocolos de desinfección y propagación, con ajustes en las concentraciones y tiempos de inmersión del extracto de *Aloe vera* e implementar un tratamiento fitosanitario exhaustivo a la planta madre, para controlar la carga de agentes endófitos, que pueden contribuir a la contaminación inicial de los explantes.

Se recomienda implementar análisis microbiológicos frecuentes para detectar la presencia de microorganismos desde las primeras etapas del cultivo *in vitro*. Esto permitirá una intervención temprana para evitar la contaminación endófitas.

Se recomienda realizar pruebas con gel de *Aloe vera* en explantes que presenten contaminación para verificar si tiene la capacidad de reducir o eliminar los microorganismos patógenos sin afectar el crecimiento vegetal.

## BIBLIOGRAFIA

- Abubacker, M., y Deepalakshmi, T. (2017). *In vitro* Direct Regeneration of *Annona muricata* L. from Nodal Explant. *Biosci Biotech Res Asia*, 14(1), 123-128. <https://doi.org/10.13005/bbra/2426>
- Alcantara, S., Acero, J., Alcantara, J., y Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109-129. <http://www.scielo.org.co/>
- Alomia, L., Atao, E., y Erazo, E. (2022). Prendimiento y crecimiento de injertos en plántones de guanábana (*Annona muricata* L.), en Satipo-Perú. *Agrotecnología Amazónica*, 2(1), 252. <https://doi.org/10.51252/raa.v2i1.252>
- Anaya, J., Hernández, M., y Tafolla, J. (2021). La cadena productiva de guanábana: una opción para el desarrollo económico en Compostela, Nayarit. *Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 31(57), 28. <https://doi.org/10.24836/es.v31i57.1048>
- Archana, S., Kulapati, H., D., P., Hedge, K., Prabhulinga, G., y Noorulla, H. (2023). Micro propagation of *Annona muricata* using different concentration of 6-benzylaminopurine (BAP). *Rice*, 1(3), 3-5. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3362735/v1>
- Asamblea Nacional del Ecuador. (2017, 03 de julio). *Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria*. Registro Oficial del Gobierno del Ecuador. N° R.O. 027 Año 2017. <https://www.gob.ec/>
- Asamblea Nacional del Ecuador. (2017, 08 de junio). *Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de Agricultura*. Registro Oficial del Gobierno del Ecuador. N° R.O.10 Año 2017. <https://www.ambiente.gob.ec/>
- Ayón, C., Ríos, C., Esquivel, G., López, G., y Estrada, M. (2023). Supresión in vitro de patógenos fúngicos de raíz en *Annona muricata* L. por cepas de Trichoderma y fungicidas convencionales: Supresión de patógenos de raíz de guanábana. *Bio ciencias*, 10, 11. <https://doi.org/revbio.10.e1497>
- Baquerizo, T. (2023). *Comportamiento productivo de la polinización artificial en el cultivo de guanábana (Annona muricata) en río verde, Santa Elena*. [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena] Repositorio UPSE. <https://repositorio.upse.edu.ec/>
- Bermúdez, I., Rodríguez, M., Réyes, M., y Jiménez, A. (2019). Efecto del uso combinado de dos citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas

- adventicias de banano cv. 'Gros Michel' (Musa AAA). *Biotecnología Vegetal*, 19(2), 139-146. <http://scielo.sld.cu/>
- Bonilla, L. (2022). *Cultivo de guanábana*. <https://cedaf.org.do/>
- Borges, M., y Estrada, E. (2009). Uso de distintos tratamientos de desinfección en el cultivo *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon caraqueño. *Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 127-135. <https://revistas.unal.edu.co/>
- Cabral, J., Armando, J., Pulido, C., y Gonzáles, M. (2022). Propagación *in vitro* de manzano a partir de embriones cigóticos maduros. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(4), 603-616. <https://doi.org/10.29312/>
- Constitución de la República del Ecuador. (2008). Artículo 281. [Título VI]. Registro Oficial 449 del 20 de octubre del 2008. <https://www.defensa.gob.ec/>
- Cruz, E., Hernández, L., y Gómez, L. (2020). Uso de L-Cisteína para el control de oxidación *in vitro* de *Annona muricata* L. *Revista Multidisciplinaria de Avances de Investigación*, 6(3), 1-6. <https://remai.ipn.mx/index.php/>
- Dávila, A., Herrera, L., Folgueras, M., y Espinosa, E. (2016). Patogenicidad de especies fúngicas presentes en los rizomas de malanga (*Xanthosoma* y *Colocasia*). *Centro Agrícola*, 43(2), 49-58. <http://scielo.sld.cu/>
- Despaigne, A. (2021). Impacto del gel de *Aloe vera* Mill como sustrato para el cultivo *in vitro* de *Coffea canephora* Mill (robusta). *Remca*, 4(1), 12-16. <https://remca.umet.edu.ec/>
- Domínguez, M., Hidalgo, C., Mendoza, D., Díaz, A., Ruiz, N., Gutiérrez, A., y Guzmán, C. (2019). Total phenols, flavonoids and antioxidant activity in *Annona muricata* and *Annona purpurea* Callus Culture. *Phyton-international journal of experimental botany*, 88(2), 139-147. <https://doi.org/10.32604/>
- Echenique, M., y Huanca, W. (2022). Evaluación de antibióticos y fungicidas, en la introducción *in vitro* de banano (*Musa acuminata*) en la Estación Experimental Sapecho. *Apthapi*, 8(3), 2410-2417. <https://doi.org/10.53287/>
- Echenique, M., y Mollo, G. (2020). Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de guanábana (*Annona muricata* L.). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 7(1), 62-68. <http://www.scielo.org.bo/>
- Espinosa, Á., Silva, J., Bahi, M., y Romero, D. (2019). Influencia del tamaño de las plantas *in vitro* y tipo de sustrato en la aclimatación de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 42(1), 23-29. <http://scielo.sld.cu/>

- Fernández, R., Arzate, I., y Chanona, J. (2012). El gel de *Aloe vera*: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 23-43. <https://www.scielo.org.mx/>
- Flores, L., Robledo, A., y Jiménez, M. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(6), 1315-1328. <https://www.scielo.org.mx/>
- García, L., y Comstock, L. (2018). Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. *Science*, 361(6408), 5-11. [https://doi.org/ 10.1126/](https://doi.org/10.1126/)
- García, M., Hernández, R., y López, M. (2020). Extracto de *Aloe vera* L. en la adaptación de vitroplantas de plátano. *Instituto de Información Científica y Tecnológica*, 22(1), 3-9. <https://www.redalyc.org/>
- González, D., Hernández, E., Capote, A., y Pérez, A. (2019). Micropropagación de plantas de *Stevia rebaudiana bertonii* a partir de explantes ex vitro. *Biotecnología Vegetal*, 19(1), 53-63. <http://scielo.sld.cu/>
- Grindlay, D., y Reynolds, T. (1986). El fenómeno del *Aloe vera*: Una revisión de las propiedades y usos modernos del gel de parénquima foliar. Etnofarmacología. *Ethnopharmacology*, 16(2), 117-151. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(86\)90085-1](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90085-1)
- Hernández, P., y Nieto, Y. (2018). *Efecto del extracto de Aloe vera sobre las características microbiológicas, fisicoquímicas, físicas y sensoriales de la*. [Tesis de grado, Universidad de la Salle] Repositorio La Salle. <https://ciencia.lasalle.edu.co/>
- Jaramillo, E., Barrezueta, S., Luna, E., y Castillo, S. (2017). Efecto biofungicida del gel de *Aloe vera* sobre *Mycosphaerella*, agente causal de la Sigatoka negra en Musa (AAA). *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 273-278. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.10>
- Jiménez, L., Fonseca, M., García, A., Infante, S., y Vásquez, J. (2019). Efecto de diferentes concentraciones de Ácido Indolacético (AIA) en el enraizamiento *in vitro* de *Dahlia* sp. *Inca*, 40(1), 6. <http://scielo.sld.cu/>
- Jiménez, P., Barrera, P., Huachi, L., Vera, A., y Caicedo, C. (2020). Propagación in vitro de Quishuar (buddleja incana ruíz&pav). *La granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 31(1), 61-71. <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.05>

- Leiva, S., Gayoso, G., y Chang, L. (2018). *Annona muricata* L. "guanábana" (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldoa*, 25(1), 127-140. <http://www.scielo.org.pe/>
- López, M. (2018). *Enraizamiento de esquejes de guanábana (annona muricata linn.) mediante la aplicación de ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB)*. [Tesis de pregrado, Universidad técnica Estatal de Quevedo] Repositorio UTEQ. <https://repositorio.uteq.edu.ec/>
- Luna, H., Peña, A., y Magaña, N. (2023). Propagación *in vitro* de familias de plantas selectas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 28(1), 35-49. <https://doi.org/10.5154/>
- Meza, N., y Bautista, D. (2004). Efecto de remojo y escarificación sobre la germinación de semillas y emergencia de plántulas en guanábana. *Agronomía tropical*, 54(3), 331-342. <http://ve.scielo.org/>
- Mongelos, Y., Mussi, C., Duarte, N., y Díaz, M. (2020). Protocolo de desinfección para establecimiento *in vitro* de meristema apical de banano *Musa spp.* *Cedamaz*, 10(2), 47-50. <https://revistas.unl.edu.ec/>
- Navarro, M., Cardenas, K., y Cevallos, A. (2019). *Evaluación del efecto fungicida del gel de Aloe vera y la cola de caballo (Equisetum arvense) frente a hongos fitopatógenos causantes del crown rot del banano orgánico en el Valle del Chira - Sullana*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Piura] Repositorio UNP. <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/2286>
- Orlando, J., Balois, R., Alia, I., Juárez, P., y Sumaya, T. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(6), 1261-1270. <https://www.scielo.org.mx/>
- Palma, J., Parra, H., y Orduño, N. (2022). Análisis del ácido giberélico desde la cartografía conceptual con enfoque bioético y sustentable. *Acta universitaria*, 32(1), 123-152. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3420>
- Peralta, Y., Rossi, C., Grande, C., y Chaves, C. (2023). Green management of postharvest anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Fungi*, 9(623), 8-49. <https://doi.org/10.3390/jof9060623>
- Pérez, V., Masaya, N., y Sánchez, J. (2018). Efecto de diferentes concentraciones de ácido indolbutírico en el enraizamiento de estaquillas de *Annona muricata* "guanábana" en cámara de subirrigación. *Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana*, 27(2), 33-41. <https://doi.org/10.24841/fa.v28i1.453>

- Reyes, A. (2022). *Efecto bioestimulante y antiseptico del gel de Aloe vera en nudos de babaco ( Vasconcellea x heilbornii) iniciados in vitro*. [Tesis de pregrado, Universidad Agraria del Ecuador] CIA. <https://cia.uagraria.edu.ec/>
- Réyes, D., y Fernández, R. (2014). Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de zabila (*Aloe vera L.*) en microorganismos de interés clínico. *Salus*, 18(3), 27-32. <http://ve.scielo.org/>
- Rodríguez, C., Hernández, L., Pérez:Beatriz, y Juárez, Z. (2021). Bacterias y hongos endófitos de la familia Cactaceae y sus aplicaciones. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 24(3), 22-24. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.328>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). Guanábana, dulce milagro tropical. *Revista del Consumidor*, 13(4), 61-70. <https://www.gob.mx/>
- Sierra, D., Esquivel, G., y Marcia, R. (2022). Calidad de planta de *Annona muricata L.* en vivero con sustratos de acceso regional en Nayarit, México. *Interciencia*, 47(5), 173-180. <https://www.interciencia.net/>
- Tencio, E. (1992). *Vivero de guanábana*. mag.go: <https://www.mag.go.cr/>
- Terán, B., Alía, I., y Rosendo, B. (2019). Caracterización física, química y morfológica de frutos de guanábana (*Annona muricata L.*). *Agrociencia*, 53(7), 1013-1027. <https://www.researchgate.net/>
- Triviño, D. (2018). *Importancia de la producción y exportación de guanábana en el Ecuador y sus perspectivas*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil] Repositorio UG. <https://repositorio.ug.edu.ec/>
- Tucuch, C., Cen, J., y Kancab, R. (2022). Uso de gel de *Aloe vera* en la producción de plántulas de *Capsicum chinense*. *Biotecnia*, 24(1), 116-121. <https://www.scielo.org.mx/>
- Ventura, R., Otiniano, A., y Huamán, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *J. Selva Andina Biosph*, 8(2), 150-164. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200150>



**Figura 3.**  
**Planta madre de la Universidad Agraria del Ecuador**



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 4.**  
**Preparación de ramas**



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 5.**  
***Preparación de medios de cultivo***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 6.**  
***Desinfección de explantes***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 7.**  
***Esterilización de frascos para medios***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 8.**  
***Esterilización de frascos***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 9.**  
***Inmersión de ramas en fungicida***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 10.**  
***Revisión de explantes inoculados***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 11.**  
***Supervisión del tutor***



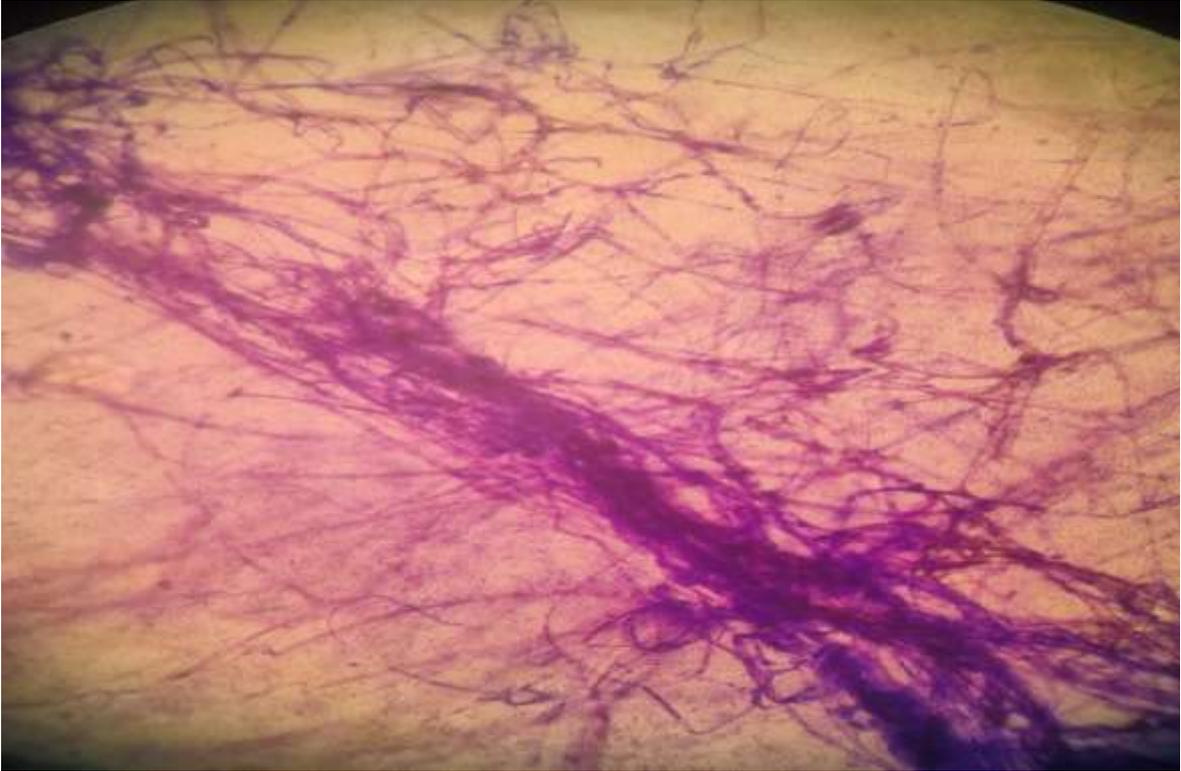
**Elaborado por: La Autora, 2024**

**Figura 12.**  
***Verificación de hongos en los explantes inoculados***



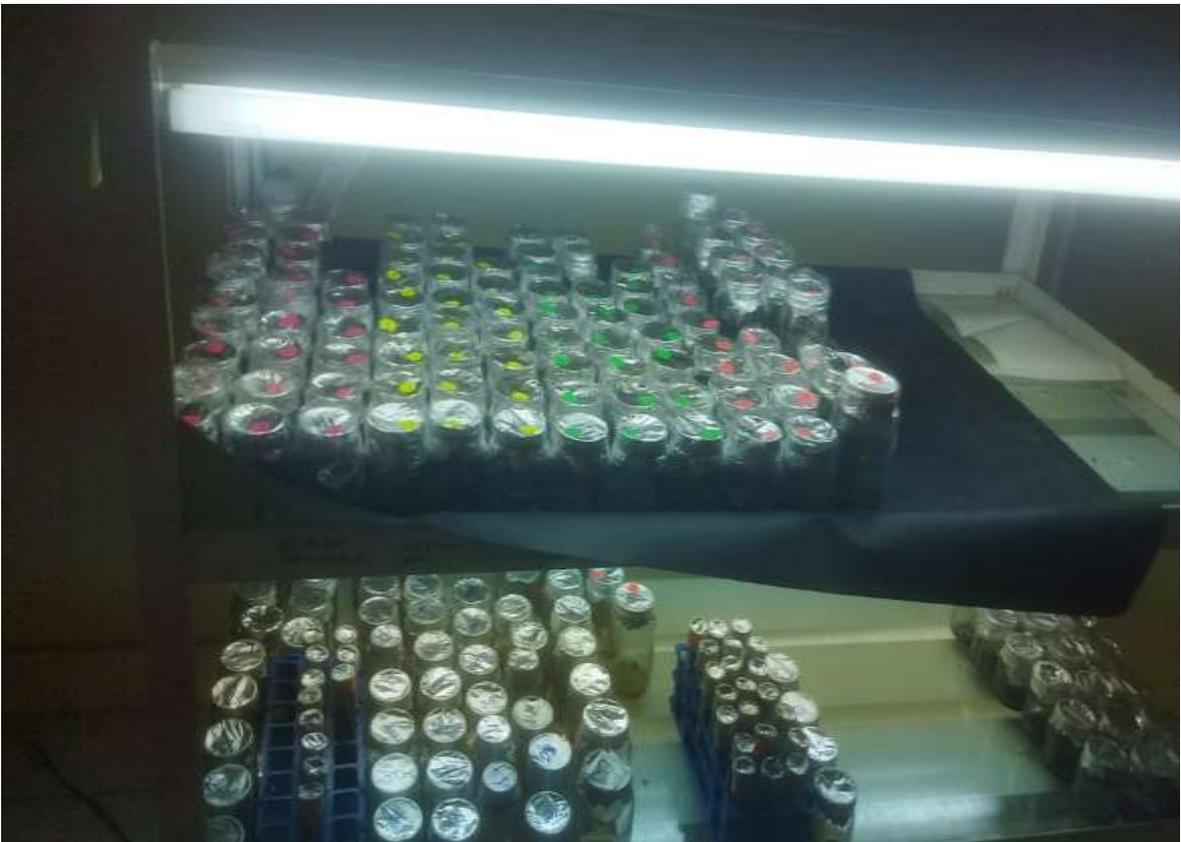
**Elaborado por: La Autora, 2024**

**Figura 13.**  
***Hongo presente en los explantes inoculados***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 14.**  
***Establecimiento de protocolos de desinfección y medios de cultivo***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 15.**  
***Recolección de ramas***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 16.**  
***Guía del tutor para realización de protocolos de desinfección***



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 17.**  
***Presencia de hongo en los explantes inoculados***



Elaborado por: La Autora, 2024

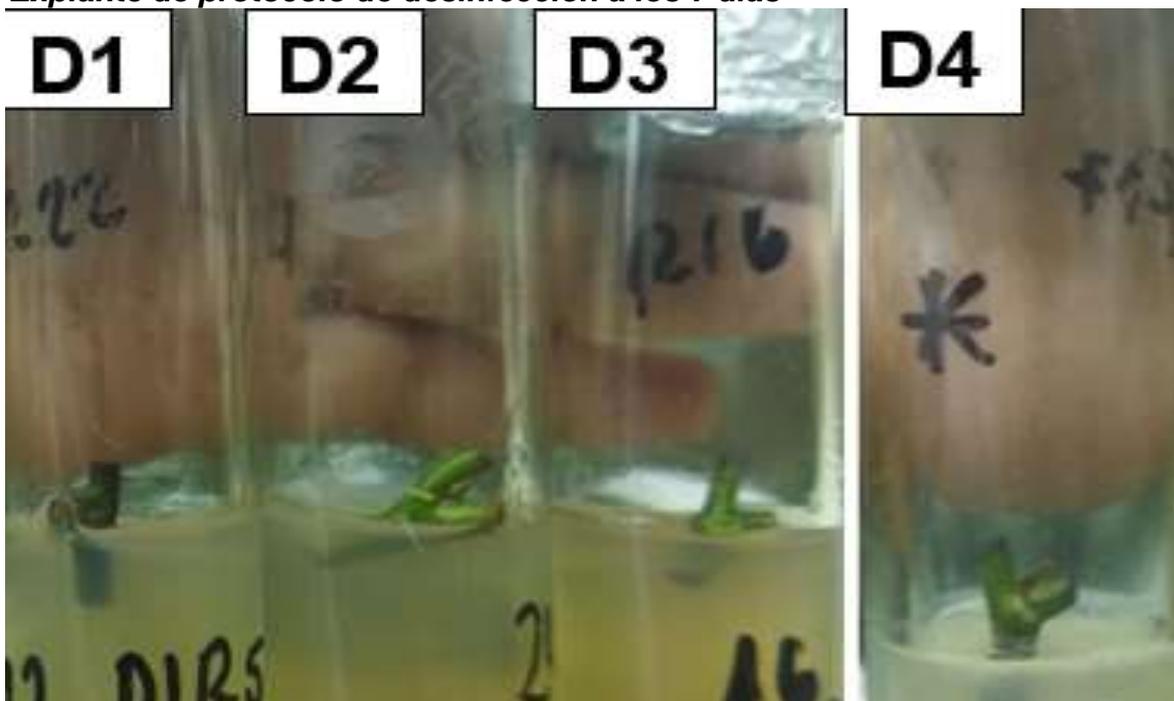
**Figura 18.**  
***Explante oxidado***



Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 19.

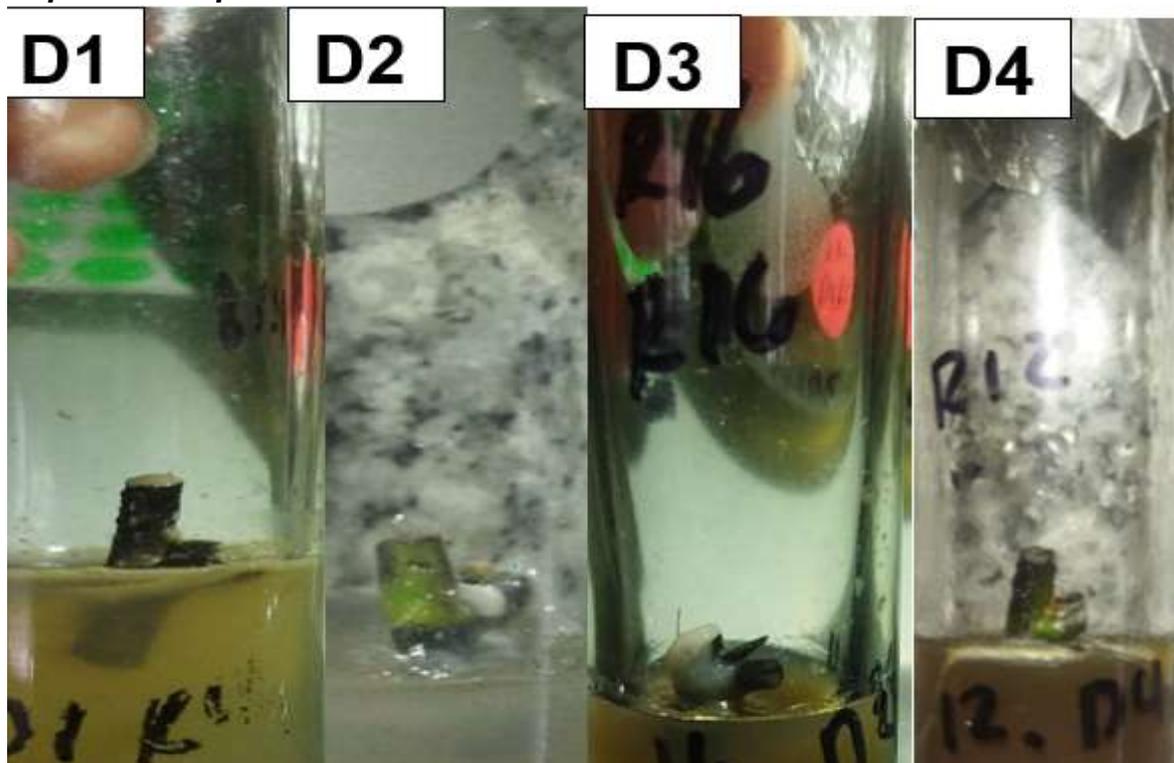
*Explante de protocolo de desinfección a los 7 días*



Nota: Según el protocolo correspondiente; D1 10% A. vera, D2 15% A. vera, D3 20% A. vera, D4 NaClO  
Elaborado por: La Autora, 2024

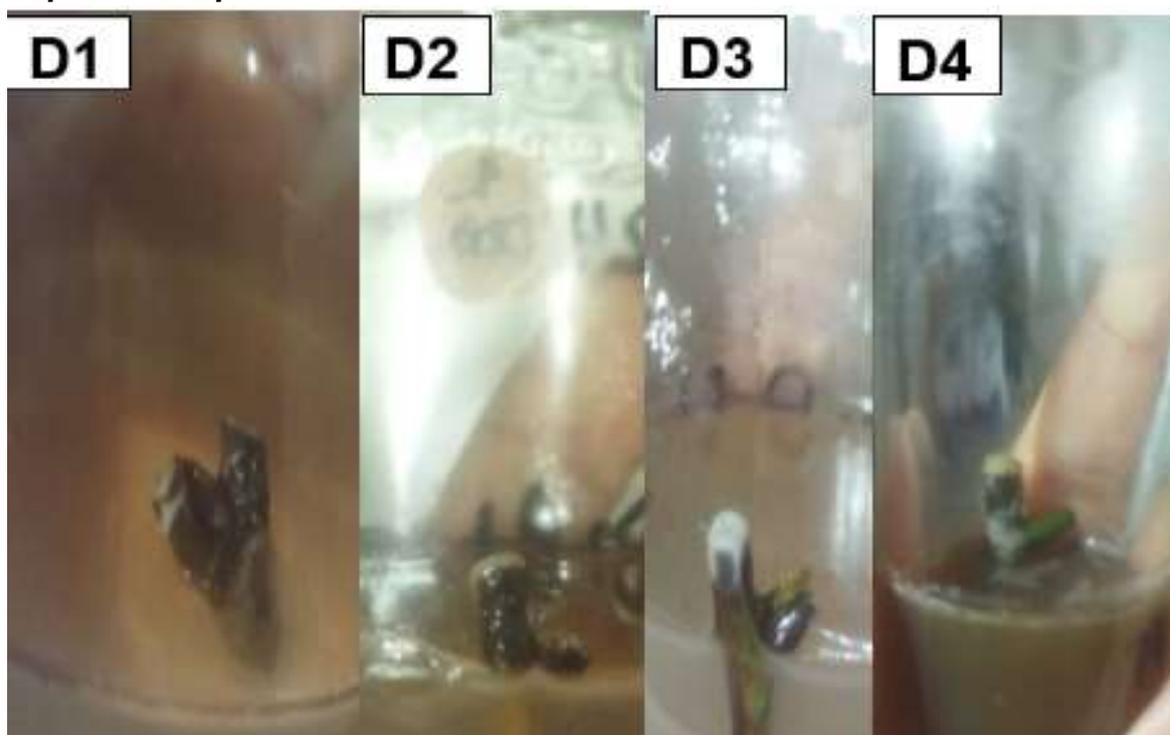
Figura 20.

*Explantos de protocolo de desinfección 14 días*



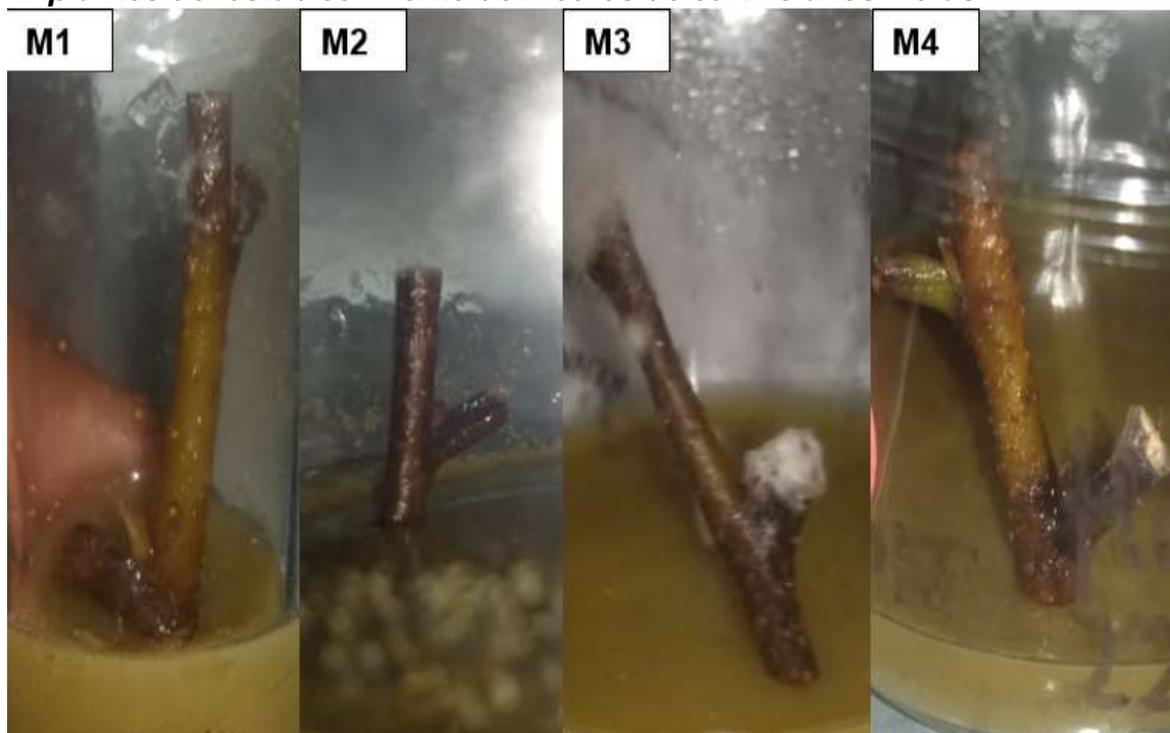
Nota: Según el protocolo correspondiente; D1 10% A. vera, D2 15% A. vera, D3 20% A. vera, D4 NaClO  
Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 21.**  
**Explantos de protocolo de desinfección 21 días**



**Nota:** Según el protocolo correspondiente; D1 10% A. vera, D2 15% A. vera, D3 20% A. vera, D4 NaClO  
Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 22.**  
**Explantos del establecimiento de medios de cultivo a los 7 días**



**Nota:** Según el medio de cultivo correspondiente; M1 100% Medio WPM, M2 100% Medio WPM + 2,4-D, M3 50% Medio WPM+ 10% A. vera, M4 15% A. vera.  
Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 23.

*Explantos del establecimiento de medios de cultivo a los 14 días*



Nota: Según el medio de cultivo correspondiente; M1 100% Medio WPM, M2 100% Medio WPM + 2,4-D, M3 50% Medio WPM+ 10% A. vera, M4 15% A. vera. Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 24.

*Explantos del establecimiento de medios de cultivo a los 21 días*



Nota: Según el medio de cultivo correspondiente; M1 100% Medio WPM, M2 100% Medio WPM + 2,4-D, M3 50% Medio WPM+ 10% A. vera, M4 15% A. vera. Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 25.**  
**Explantos del establecimiento de medios de cultivo a los 28 días**



**Nota:** Según el medio de cultivo correspondiente; M1 100% Medio WPM, M2 100% Medio WPM + 2,4-D, M3 50% Medio WPM+ 10% A. vera, M4 15% A. vera.  
**Elaborado por:** La Autora, 2024

**Figura 26.**  
**Preparación del gel de Aloe vera**



**Elaborado por:** La Autora, 2024

**Figura 27.**  
**Referencia de la efectividad de uno de los protocolos en arándano**



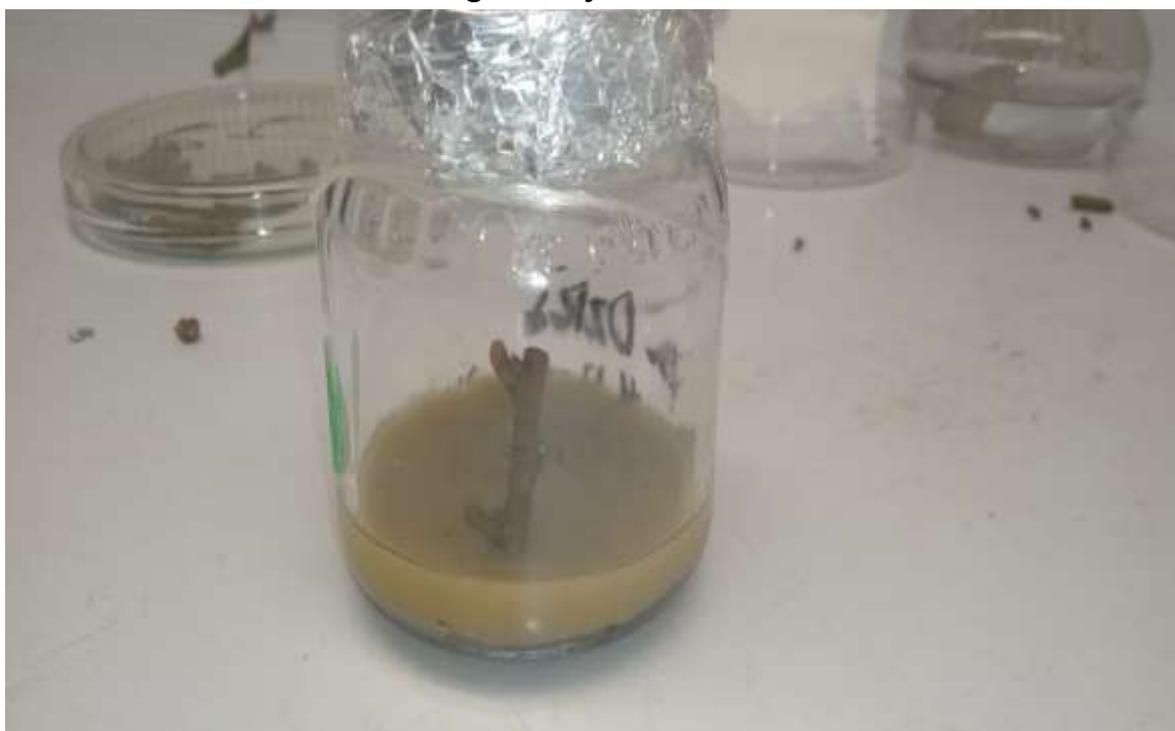
Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 28.**  
**Desinfección superficial con Riflaxina**



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 29.**  
**Medios con altas dosis de fungicidas y bactericida**



Elaborado por: La Autora, 2024

**Figura 30.**  
**Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Hongos**

Frecuencias absolutas			
En columnas: 7 días: HONGO			
TRATAMIENTO	dia 7:0	dia 7:1	Total
D1	21	4	25
D2	22	3	25
D3	25	0	25
D4	25	0	25
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>7</b>	<b>100</b>

Frecuencias relativas al total			
En columnas: 7 días: HONGO			
TRATAMIENTO	dia 7:0	dia 7:1	Total
D1	0,21	0,04	0,25
D2	0,22	0,03	0,25
D3	0,25	0,00	0,25
D4	0,25	0,00	0,25
<b>Total</b>	<b>0,93</b>	<b>0,07</b>	<b>1,00</b>

Estadístico	Valor	gl	P
Chi Cuadrado Pearson	7,83	3	0,0496
Chi Cuadrado MV-G2	10,40	3	0,0155
Coef. Conting. Cramer	0,20		
Coef. Conting. Pearson	0,27		

**Tablas**

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 31.  
**Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Hongos**

Frecuencias absolutas			
En columnas: día 14: HONGO			
TRATAMIENTO	día 14:0	día 14:1	Total
D1	20	5	25
D2	19	6	25
D3	23	2	25
D4	24	1	25
Total	86	14	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: día 14: HONGO			
TRATAMIENTO	día 14:0	día 14:1	Total
D1	0,20	0,05	0,25
D2	0,19	0,06	0,25
D3	0,23	0,02	0,25
D4	0,24	0,01	0,25
Total	0,86	0,14	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	5,65	3	0,1301
Chi Cuadrado MV-G2	6,08	3	0,1076
Coef. Conting. Cramer	0,17		
Coef. Conting. Pearson	0,23		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 32.  
**Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Hongos**

Frecuencias absolutas			
En columnas: 21 días: HONGO			
TRATAMIENTO	21 días:0	21 días:1	Total
D1	18	7	25
D2	18	7	25
D3	21	4	25
D4	23	2	25
Total	80	20	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: 21 días: HONGO			
TRATAMIENTO	21 días:0	21 días:1	Total
D1	0,18	0,07	0,25
D2	0,18	0,07	0,25
D3	0,21	0,04	0,25
D4	0,23	0,02	0,25
Total	0,80	0,20	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	4,50	3	0,2123
Chi Cuadrado MV-G2	4,86	3	0,1821
Coef. Conting. Cramer	0,15		
Coef. Conting. Pearson	0,21		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 33.

*Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Bacterias*

En columnas: 7 días: BACTERIA			
TRATAMIENTO	dia 7:0	dia 7:1	Total
D1	5	20	25
D2	1	24	25
D3	1	24	25
D4	0	25	25
Total	7	93	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: 7 días: BACTERIA			
TRATAMIENTO	dia 7:0	dia 7:1	Total
D1	0,05	0,20	0,25
D2	0,01	0,24	0,25
D3	0,01	0,24	0,25
D4	0,00	0,25	0,25
Total	0,07	0,93	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	9,06	3	0,0285
Chi Cuadrado MV-G2	8,91	3	0,0305
Coef. Conting. Cramer	0,21		
Coef. Conting. Pearson	0,29		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 34.

*Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Bacterias*

Frecuencias absolutas			
En columnas: día 14: BACTERIA			
TRATAMIENTO	dia 14:0	dia 14:1	Total
D1	2	23	25
D2	0	25	25
D3	1	24	25
D4	0	25	25
Total	3	97	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: día 14: BACTERIA			
TRATAMIENTO	dia 14:0	dia 14:1	Total
D1	0,02	0,23	0,25
D2	0,00	0,25	0,25
D3	0,01	0,24	0,25
D4	0,00	0,25	0,25
Total	0,03	0,97	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	3,78	3	0,2862
Chi Cuadrado MV-G2	4,61	3	0,2025
Coef. Conting. Cramer	0,14		
Coef. Conting. Pearson	0,19		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 35.

*Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Bacterias*

Frecuencias absolutas		
En columnas: 21 días: BACTERIA		
TRATAMIENTO	21 días: 1	Porcentaje
D1	25	25,00
D2	25	25,00
D3	25	25,00
D4	25	25,00
Total	100	100,00

Frecuencias relativas al total		
En columnas: 21 días: BACTERIA		
TRATAMIENTO	21 días: 1	Porcentaje
D1	0,25	0,25
D2	0,25	0,25
D3	0,25	0,25
D4	0,25	0,25
Total	1,00	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,00	3	>0,9999
Chi Cuadrado MV-G2	0,00	3	>0,9999
Coef. Conting. Cramer	0,00		
Coef. Conting. Pearson	0,00		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 36.

*Tabla de contingencia a los 7 días-protocolos: Oxidación*

Frecuencias absolutas			
En columnas: 7 días: OXIDACION			
TRATAMIENTO	dia 7: 0	dia 7: 1	Total
D1	4	21	25
D2	2	23	25
D3	6	19	25
D4	4	21	25
Total	16	84	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: 7 días: OXIDACION			
TRATAMIENTO	dia 7: 0	dia 7: 1	Total
D1	0,04	0,21	0,25
D2	0,02	0,23	0,25
D3	0,06	0,19	0,25
D4	0,04	0,21	0,25
Total	0,16	0,84	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	2,38	3	0,4972
Chi Cuadrado MV-G2	2,47	3	0,4799
Coef. Conting. Cramer	0,11		
Coef. Conting. Pearson	0,15		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 37.

*Tabla de contingencia a los 14 días-protocolos: Oxidación*

Frecuencias absolutas			
En columnas: día 14:OXIDACION			
TRATAMIENTO	día 14:0	día 14:1	Total
D1	1	24	25
D2	0	25	25
D3	3	22	25
D4	0	25	25
Total	4	96	100

Frecuencias relativas al total			
En columnas: día 14:OXIDACION			
TRATAMIENTO	día 14:0	día 14:1	Total
D1	0,01	0,24	0,25
D2	0,00	0,25	0,25
D3	0,03	0,22	0,25
D4	0,00	0,25	0,25
Total	0,04	0,96	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	6,25	3	0,1001
Chi Cuadrado MV-G2	6,85	3	0,0770
Coef. Conting. Cramer	0,18		
Coef. Conting. Pearson	0,24		

Elaborado por: La Autora, 2024

Figura 38.

*Tabla de contingencia a los 21 días-protocolos: Oxidación*

Frecuencias absolutas		
En columnas: 21 días:OXIDACION		
TRATAMIENTO	21 días:1	Porcentaje
D1	25	25,00
D2	25	25,00
D3	25	25,00
D4	25	25,00
Total	100	100,00

Frecuencias relativas al total		
En columnas: 21 días:OXIDACION		
TRATAMIENTO	21 días:1	Porcentaje
D1	0,25	0,25
D2	0,25	0,25
D3	0,25	0,25
D4	0,25	0,25
Total	1,00	1,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,00	3	>0,9999
Chi Cuadrado MV-G2	0,00	3	>0,9999
Coef. Conting. Cramer	0,00		
Coef. Conting. Pearson	0,00		

Elaborado por: La Autora, 2024