



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**EFFECTO BIOESTIMULANTE Y ANTISÉPTICO DEL GEL  
DE *Aloe vera* EN NUDOS DE BABACO (*Vasconcellea x  
heilbornii*) INICIADOS *IN VITRO*  
TRABAJO EXPERIMENTAL**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la  
obtención del título de  
**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTOR  
REYES BARELE ANDREA ISABEL**

**TUTOR  
ING. MANCERO CASTILLO DANIEL, Ph.D.**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2022**



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

Yo, **MANCERO CASTILLO DANIEL ANDRES**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“EFECTO BIOESTIMULANTE Y ANTISÉPTICO DEL GEL DE *Aloe vera* EN NUDOS DE BABACO (*Vasconcellea x heilbornii*) INICIADOS *IN VITRO*”**, realizado por la estudiante **REYES BARELE ANDREA ISABEL**; con cédula de identidad **N°095383886-9** de la carrera **INGENIERÍA AGRONÓMICA**, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

  
**ING. MANCERO CASTILLO DANIEL, Ph.D.**

Guayaquil, 18 de abril del 2022



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**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: “EFECTO BIOESTIMULANTE Y ANTISÉPTICO DEL GEL DE *Aloe vera* EN NUDOS DE BABACO (*Vasconcellea x heilbornii*) INICIADOS *IN VITRO*”, realizado por la estudiante **REYES BARELE ANDREA ISABEL**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Yoansy García Ortega, M.Sc.  
**PRESIDENTE**

Ing. Wilmer Baque Bustamante, M.Sc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

Ing. Gabriela Delgado Macías, M.Sc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

Ing. Daniel Mancero Castillo, Ph.D.  
**EXAMINADOR SUPLENTE**

Guayaquil, 18 de abril del 2022

### **Dedicatoria**

Dedicado principalmente a Dios por ser mi pilar fundamental de fe e impulso para seguir perseverando en todos los objetivos que propongo en mi vida, a mis padres y demás familiares que me han brindado su respaldo sobre todo los ánimos y optimismo para poder cumplir con esta importante meta académica.

También es dedicado a todo aquel que tenga el interés de aprender y realizar obra alguna con este trabajo de investigación.

## **Agradecimiento**

Con gratitud hacia mi Padre Celestial por brindarme la luz y entendimiento necesario para tomar las decisiones correctas durante esta investigación; agradezco a la Universidad Agraria del Ecuador y quienes la dirigen y trabajan en ella al asistirme con paciencia y tolerancia.

Agradecida con mis amados padres Sonia Barele y Oscar Reyes quienes me han apoyado de principio a fin en cada una de mis metas, a mis queridos hermanos Cristina Reyes y Cristian Reyes, al Lcdo. Sergio González y demás personas estimadas por darme los ánimos y el respaldo para poder perseverar en este trabajo.

Agradezco a mi director de tesis Daniel Mancero, PhD. por guiarme durante y después del trabajo de titulación además de su paciencia y los conocimientos compartidos; a Ariadne Vegas, PhD. por sus sabios consejos que aportaron valiosamente en esta investigación.

### Autorización de Autoría Intelectual

Yo **REYES BARELE ANDREA ISABEL**, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre **“EFECTO BIOESTIMULANTE Y ANTISÉPTICO DEL GEL DE *Aloe vera* EN NUDOS DE BABACO (*Vasconcellea x heilbornii*) INICIADOS *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 autora 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, abril 18, 2022



**REYES BARELE ANDREA ISABEL**  
**C.I. 0953838869**

## Índice general

<b>PORTADA</b> .....	<b>1</b>
<b>APROBACIÓN DEL TUTOR</b> .....	<b>2</b>
<b>APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>4</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>5</b>
<b>Autorización de Autoría Intelectual</b> .....	<b>6</b>
<b>Índice general</b> .....	<b>7</b>
<b>Índice de tablas</b> .....	<b>12</b>
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>14</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>16</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>17</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1 Antecedentes del problema</b> .....	<b>18</b>
<b>1.2 Planteamiento y formulación del problema</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2.1 Planteamiento del problema</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2.2 Formulación del problema</b> .....	<b>19</b>
<b>1.3 Justificación de la investigación</b> .....	<b>19</b>
<b>1.4 Delimitación de la investigación</b> .....	<b>20</b>
<b>1.5 Objetivo general</b> .....	<b>20</b>
<b>1.6 Objetivos específicos</b> .....	<b>21</b>
<b>1.7 Hipótesis</b> .....	<b>21</b>
<b>2. Marco teórico</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1 Estado del arte</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2 Bases teóricas</b> .....	<b>24</b>

2.2.1	Importancia del babaco en el Ecuador .....	24
2.2.2	Taxonomía del babaco ( <i>Vasconcellea x heilbornii</i> ).....	25
2.2.3	Descripción morfológica .....	25
2.2.3.1.	<i>Raíz</i> .....	25
2.2.3.2.	<i>Tallo</i> .....	26
2.2.3.3.	<i>Hojas</i> .....	26
2.2.3.4.	<i>Flor</i> .....	27
2.2.3.5.	<i>Fruto</i> .....	27
2.2.4	Propagación .....	27
2.2.4.1.	<i>Propagación por estacas maduras</i> .....	28
2.2.4.2.	<i>Propagación por estacas tiernas</i> .....	28
2.2.4.3.	<i>Propagación por injertación</i> .....	28
2.2.4.4.	<i>Cultivo de tejidos vegetales</i> .....	28
2.2.5	Necesidades edafoclimáticas .....	29
2.2.5.1.	<i>Temperatura</i> .....	29
2.2.5.2.	<i>Humedad</i> .....	29
2.2.5.3.	<i>Luminosidad</i> .....	29
2.2.5.4.	<i>Suelo</i> .....	29
2.2.6	Problemas fitosanitarios .....	29
2.2.6.1.	<i>Cenicilla (Oidium sp.)</i> .....	30
2.2.6.2.	<i>Lancha temprana (Alternaria sp.)</i> .....	30
2.2.6.3.	<i>Antracnosis (Mycosphaerella sp.)</i> .....	30
2.2.6.4.	<i>Marchitez Vascular del Babaco (MVB) (Fusarium oxysporum)</i> .	31
2.2.7	Sábila ( <i>Aloe vera</i> ).....	31
2.2.7.1.	<i>Morfología</i> .....	31

2.2.7.2. <i>Composición química del gel de A. vera</i> .....	32
2.2.7.3. <i>Obtención del gel de Aloe</i> .....	32
2.2.8 <i>Micropropagación in vitro</i> .....	33
2.2.8.1. <i>Medios de cultivo y componentes</i> .....	33
2.2.8.2. <i>Etapas de la micropropagación</i> .....	34
2.3 Marco legal .....	36
3. Materiales y métodos.....	37
3.1 Enfoque de la investigación .....	37
3.1.1 Tipo de investigación .....	37
3.1.2 Diseño de investigación .....	37
3.1.2.1. <i>Investigación descriptiva</i> .....	37
3.1.2.2. <i>Investigación experimental</i> .....	37
3.1.2.3. <i>Investigación explicativa</i> .....	37
3.2 Metodología.....	37
3.2.1 Variables.....	37
3.2.1.1. <i>Variable independiente para protocolos de desinfección</i> .....	37
3.2.1.2. <i>Variable independiente para medios de cultivo</i> .....	37
3.2.1.3. <i>Variable dependiente</i> .....	38
3.2.2 Tratamientos .....	39
3.2.3 Diseño experimental .....	40
3.2.4 Delimitación experimental.....	40
3.2.5 Recolección de datos .....	41
3.2.5.1. <i>Recursos</i> .....	41
3.2.5.2. <i>Métodos y técnicas</i> .....	42
3.2.5.3. <i>Manejo del ensayo</i> .....	42

3.2.6 Análisis estadístico .....	46
3.2.6.1. <i>Hipótesis estadística</i> .....	46
4. Resultados .....	47
4.1 Determinación de los protocolos de desinfección con gel de <i>A. vera</i> y convencional para la iniciación <i>in vitro</i> de babaco.....	47
4.1.1 Pruebas preliminares para protocolos de desinfección .....	47
4.1.1.1. <i>Primera prueba para protocolos de desinfección</i> .....	47
4.1.1.2. <i>Segunda prueba para protocolos de desinfección</i> .....	47
4.1.1.3. <i>Tercera prueba para protocolos de desinfección</i> .....	48
4.1.1.4. <i>Cuarta prueba para protocolos de desinfección</i> .....	48
4.1.1.5. <i>Quinta prueba para protocolos de desinfección</i> .....	48
4.1.2 Resultados obtenidos a los 7 días de la desinfección .....	50
4.1.3 Resultados obtenidos a los 14 días de la desinfección .....	51
4.1.4 Resultados obtenidos a los 21 días de la desinfección .....	53
4.1.5 Resultados obtenidos a los 28 días de la desinfección .....	55
4.2 Evaluación de los medios de cultivo con gel de <i>A. vera</i> y convencional para la fase de iniciación <i>in vitro</i> de babaco .....	57
4.2.1 Pruebas preliminares para medios de cultivo .....	57
4.2.1.1. <i>Primera prueba para medios de cultivo</i> .....	57
4.2.1.2. <i>Segunda prueba para medios de cultivo</i> .....	57
4.2.1.3. <i>Tercera prueba para medios de cultivo</i> .....	58
4.2.1.4. <i>Cuarta prueba para medios de cultivo</i> .....	58
4.2.1.5. <i>Quinta prueba para medios de cultivo</i> .....	58
4.2.2 Resultados obtenidos a los 7 días en medios de cultivo.....	60
4.2.3 Resultados obtenidos a los 14 días en medios de cultivo.....	61

4.2.4 Resultados obtenidos a los 21 días en medios de cultivo.....	63
4.3 Valoración del gel de <i>Aloe vera</i> como suplemento antiséptico y biorregulador en los nudos de babaco.....	65
4.3.1 Gel de <i>A. vera</i> como suplemento antiséptico en protocolos de desinfección.....	65
4.3.2 Gel de <i>A. vera</i> como biorregulador en medios de cultivo.....	66
5. Discusión.....	69
6. Conclusiones .....	74
7. Recomendaciones .....	75
8. Bibliografía.....	76
9. Anexos.....	84

### Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica del babaco.....	25
Tabla 2. Características de fitohormonas.....	34
Tabla 3. Tratamientos de fase de protocolo de desinfección.....	39
Tabla 4. Tratamientos de la fase de establecimiento en medios de cultivo .....	39
Tabla 5. Experimentos a realizar.....	40
Tabla 6. Costo de inversión de materiales .....	41
Tabla 7. Primer prototipo para protocolos de desinfección.....	47
Tabla 8. Segundo prototipo para protocolos de desinfección .....	48
Tabla 9. Tercer prototipo para protocolos de desinfección.....	48
Tabla 10. Cuarto prototipo para protocolos de desinfección.....	48
Tabla 11. Quinto prototipo para protocolos de desinfección.....	49
Tabla 12. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 7 días .....	50
Tabla 13. Prueba estadística en variable numérica a los 7 días.....	51
Tabla 14. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 14 días .....	52
Tabla 15. Prueba estadística en variable numérica a los 14 días.....	53
Tabla 16. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 21 días .....	53
Tabla 17. Prueba estadística en variable numérica a los 21 días.....	54
Tabla 18. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 28 días .....	55
Tabla 19. Pruebas estadísticas en variable numérica a los 28 días .....	56
Tabla 20. Primer prototipo para medios de cultivo .....	57
Tabla 21. Segundo prototipo para medios de cultivo.....	57
Tabla 22. Tercer prototipo para medios de cultivo .....	58
Tabla 23. Cuarto prototipo para medios de cultivo .....	58
Tabla 24. Quinto prototipo para medios de cultivo .....	59

Tabla 25. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 7 días .....	60
Tabla 26. Prueba estadística en variable numérica a los 7 días.....	61
Tabla 27. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 14 días .....	62
Tabla 28. Prueba estadística en variable numérica a los 14 días.....	63
Tabla 29. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 21 días .....	64
Tabla 30. Prueba estadística en variable numérica a los 21 días.....	65
Tabla 31. Variables categóricas y numérica a los 7 días – Protocolo.....	84
Tabla 32. Variables categóricas y numérica a los 14 días – Protocolo.....	84
Tabla 33. Variables categóricas y numérica a los 21 días – Protocolo.....	84
Tabla 34. Variables categóricas y numérica a los 28 días – Protocolo.....	85
Tabla 35. Variables categóricas y numérica a los 7 días – Medios .....	85
Tabla 36. Variables categóricas y numérica a los 14 días – Medios .....	85
Tabla 37. Variables categóricas y numérica a los 21 días – Medios .....	86
Tabla 38. Composición del medio WPM .....	86
Tabla 39. Formulaciones para preparación de medios de cultivo.....	87
Tabla 40. Componentes de protocolos de desinfección .....	87

## Índice de figuras

Figura 1. Resultados a los 7 y 28 días de protocolo de desinfección .....	49
Figura 2. Resultados de protocolos de desinfección a los 7 días .....	50
Figura 3. Resultados de protocolos de desinfección a los 14 días .....	52
Figura 4. Resultados de protocolos de desinfección a los 21 días .....	54
Figura 5. Resultados de protocolos de desinfección a los 28 días .....	56
Figura 6. Resultados a los 7 y 21 días de medios de cultivo .....	59
Figura 7. Resultados de medios de cultivo a los 7 días.....	61
Figura 8. Resultados de medios de cultivo a los 14 días.....	62
Figura 9. Resultados de medios de cultivo a los 21 días.....	64
Figura 10. Valoración del gel de <i>A. vera</i> en protocolo de desinfección .....	65
Figura 11. Valoración del gel de <i>A. vera</i> en medios de cultivo .....	68
Figura 12. Plántulas y nudos de babaco para trabajo experimental .....	88
Figura 13. Reactivos usados para medios de cultivo .....	88
Figura 14. Pesando reactivos en la balanza analítica .....	89
Figura 15. Extracción y pesado de gel de <i>A. vera</i> .....	89
Figura 16. Calibración de pH en medios de cultivo .....	90
Figura 17. Tratamientos para la fase de medios de cultivo .....	90
Figura 18. Lavado de explantes con solución de yodo.....	91
Figura 19. Tratamientos para la fase de protocolos de desinfección.....	91
Figura 20. Explantes oxidados en sus bordes durante la desinfección .....	92
Figura 21. Siembra de explantes de babaco en medio nutritivo .....	92
Figura 22. Explantes de protocolo de desinfección a los 7 días .....	93
Figura 23. Explantes de protocolo de desinfección a los 28 días .....	93
Figura 24. Explantes de los tratamientos de medios de cultivo a los 7 días .....	94

Figura 25. Explantes de los tratamientos de medios de cultivo a los 21 días ...	94
Figura 26. Observación de explantes bajo supervisión del tutor .....	95
Figura 27. Muestras contaminadas por hongos y bacterias .....	95

## Resumen

El babaco es un cultivo no tradicional, de propagación asexual, expuesto ante fitopatógenos cuando se aplican deficientes técnicas agronómicas; una alternativa es el cultivo de tejidos vegetales empleando técnicas de micropropagación con diversos compuestos convencionales. Esta investigación tuvo como objetivo comprobar el efecto bioestimulante y antiséptico del gel de *A. vera* en protocolos de desinfección y en medios de cultivo durante la iniciación *in vitro* de nudos de babaco, para ello se emplearon tratamientos que consistieron en cuatro protocolos de desinfección: El desinfectante Dorbaq, gel de *A. vera* al 10 y 20% p/v y un testigo; en cuanto a los medios de cultivo aplicados en la iniciación, mantuvieron constantes las concentraciones de 2mg/L 6BAP y 4mg/L GA<sub>3</sub>, con los tratamientos 100%WPM, 100%WPM+0.3mg/L AIA, 50%WPM+10%p/v de *A. vera*, y 15%p/v de *A. vera*. Se consideró al T2 10% de gel de *A. vera* como un óptimo protocolo de desinfección al presentar una contaminación del 3% y una mortalidad del 10% luego de 28 días, en cuanto a los medios de cultivo el T1 WPM+6BAP+ GA<sub>3</sub> obtuvo mejores resultados con un 13% de brotación y una media de 0.35 cm de altura del explante luego de 21 días de la siembra *in vitro*. A través de esta investigación, se comprobó que el gel de *Aloe vera* puede reemplazar los compuestos convencionales usados durante el protocolo de desinfección, además de considerarlo como un compuesto nutritivo y bioestimulante de acuerdo al análisis del presente trabajo.

Palabras clave: *Aloe vera*, babaco, iniciación *in vitro*.

### Abstract

The babaco is a non-traditional crop, of asexual propagation, exposed to phytopathogens when poor agronomic techniques are applied; an alternative is the cultivation of plant tissues using micropropagation techniques with various conventional compounds. The objective of this research was to test the biostimulant and antiseptic effect of *A. vera* gel in disinfection protocols and in culture media during the *in vitro* initiation of babaco nodes, using treatments consisting of four disinfection protocols: Dorbaq disinfectant, *A. vera* gel at 10 and 20% w/v and a control; as for the applied culture media in the initiation, they maintained constant concentrations of 2mg/L 6BAP and 4mg/L GA3, with the treatments 100%WPM, 100%WPM+0.3mg/L AIA, 50%WPM+10%w/v of *A. vera*, and 15%w/v of *A. vera*. T2 10% *A. vera* gel was considered an optimal disinfection protocol as it presented a contamination of 3% and a mortality of 10% after 28 days. As for the culture media, T1 WPM+6BAP+ GA3 obtained better results with 13% of sprouting and an average of 0.35 cm explant height after 21 days of *in vitro* sowing. Through this research, it was proved that *A. vera* gel can replace the conventional compounds used during the disinfection protocol, in addition to considering it as a nutritive and biostimulant compound according to the analysis of the present work.

Key words: *Aloe vera*, babaco, *in vitro* initiation.

## 1. Introducción

### 1.1 Antecedentes del problema

El babaco posee un fruto con alta calidad de nutrientes cumpliendo con las peticiones del mercado tan solo que su reproducción se limita a ser asexual debido a su fruto estéril, una solución es la propagación por estacas, pero lleva consigo altos índices de contaminación microbiana y por esa causa se opta de forma confiable la propagación *in vitro* (Millones, 2019).

Gran parte de la familia de las Caricaceae muestran altos rangos de contaminación, incluso se pueden infectar más de la mitad de brotes establecidos en campo a pesar de aplicar antibióticos para controlar enfermedades microbianas (Jaramillo, Barrezueta, Luna y Castillo, 2017).

El gel de *Aloe vera* tiene un efecto antifúngico debido a que disminuye el crecimiento micelar de los hongos; Jaramillo et al. (2017) evidenció cómo este gel actuó de forma moderada sobre *Mycosphaerella fijensis* comúnmente conocido como sigatoka negra sugiriendo el gel de *A. vera* como un fungicida orgánico para su control a nivel laboratorio, recomendando usar altas dosis y mayores repeticiones a las ya planteadas.

En la micropropagación *in vitro*, frecuentemente se debe emplear como medio solido el agar en conjunto con reguladores de crecimiento, los cuales deben ser importados o demandan altos precios de adquisición, de esta forma crean limitantes para una propagación masiva de especies vegetales. Rodríguez y Hechevarría (2006) demostraron que es posible reemplazar de forma total o parcial los compuestos que conforman el medio de cultivo al emplear gel de *A. vera* y otros compuestos orgánicos gelificantes como alternativa, mejorando las condiciones del medio de cultivo *in vitro* al brindar desarrollos óptimos en las plantas.

## **1.2 Planteamiento y formulación del problema**

### **1.2.1 Planteamiento del problema**

A inicios del desarrollo del cultivo de babaco a nivel de campo, sus raíces tienden a ser muy delicadas presentando una baja capacidad de enraizamiento al propagarlas por estacas. La planta va a presentar mayor quiebre de raíces en su etapa joven ya sea al manipularlas o llevarlas a trasplantar, provocando heridas abiertas accesibles a la contaminación por fitopatógenos entre ellos *Fusarium*, retardando su desarrollo vegetativo, incluso puede tardar hasta tres meses.

La propagación de explantes de babaco se ha visto limitada en la fase de establecimiento debido a la elevada contaminación microbiana, a pesar de mantener las condiciones adecuadas en el laboratorio, para ello se requiere seguir analizando cada una de las etapas de la micropropagación.

Entre los agentes antisépticos del gel de *A. vera* se encuentra la aleotina y saponina los cuales tienen un alto control ante bacterias, hongos y virus a nivel *in vitro*, logrando inhibir el crecimiento micelar en hongos tal como *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*, que causan daños de importancia económica en frutos.

### **1.2.2 Formulación del problema**

¿Qué efecto tendrá el gel de *A. vera* en los protocolos de desinfección y en medios de cultivo durante la etapa de iniciación *in vitro* de nudos de babaco?

## **1.3 Justificación de la investigación**

La actividad agrícola en Ecuador es de mucha importancia debido a que contribuye al incremento económico del país siendo así una fuente de progreso nacional que se debe fortalecer, entre ellos está la producción de cultivos no tradicionales tal como el babaco ya que su fruto al no poseer semillas y presentar

un buen sabor de su pulpa es un cultivo del cual se esperan muchos beneficios y ventajas para la humanidad debido al gran aporte vitamínico y nutricional.

Para el control de plagas y enfermedades fungosas se emplean compuestos químicos causando daños tal como la fitotoxicidad e incluso la defoliación parcial o total de la planta a pesar de emplear la acción preventiva; si la enfermedad está ya presente con alto índice poblacional no queda más opción que usar fungicidas específicos elevando las dosis y tiempo de aplicación.

El cultivar plantas en un frasco de vidrio con ambientes controlados de forma artificial es el concepto del cultivo *in vitro*. Entre las características primordiales de esta técnica es la asepsia que es la ausencia de gérmenes y también está el control de elementos externos que afectan el desarrollo del organismo vegetal.

Debido a la presencia de aloína en el gel de la sábila, el desarrollo de los hongos fitopatógenos se va a reducir además de aportar efectos bioestimulantes por la actividad auxínica que presenta sobre el crecimiento y formación de las raíces sobrepasando incluso aquellos reguladores de crecimiento de uso habitual.

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

**Espacio:** La investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología de la Universidad Agraria del Ecuador, Sede Guayaquil.

**Tiempo:** Esta investigación tuvo un periodo de 8 meses durante el año 2021.

**Población:** La presente investigación va a ser de beneficio hacia los principales productores frutícolas dedicados al cultivo de babaco.

#### **1.5 Objetivo general**

Evaluar la capacidad bioestimulante y antiséptica del gel de *A. vera* para el desarrollo de nudos de babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) iniciados *in vitro*.

### 1.6 Objetivos específicos

- Determinar los protocolos de desinfección con gel de *A. vera* y convencional para la iniciación *in vitro* de babaco (***Vasconcellea x heilbornii***).

- Evaluar los medios de cultivo a base de extractos de gel de *A. vera* y convencional para la fase de iniciación *in vitro* de babaco (***Vasconcellea x heilbornii***).

- Valorar el gel de *A. vera* como suplemento antiséptico y biorregulador en los nudos de babaco.

### 1.7 Hipótesis

- Las dosificaciones propicias en los protocolos de desinfección disminuyen la presencia de fitopatógenos en el cultivo *in vitro* de nudos de babaco.

- Los medios de cultivo apropiados actúan como un estimulador óptimo del desarrollo vegetativo presentando mayor crecimiento de tallos, hojas o brotes en los nudos de babaco.

## 2. Marco teórico

### 2.1 Estado del arte

Actualmente se está usando extractos vegetales para implementar en los medios de cultivo con la finalidad de tomar otra alternativa a los reguladores de crecimientos comerciales, esto indicó Rodríguez (2015) quien reportó la utilización del gel de sábila en explantes de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl); comprobando que los extractos de *A. vera* presentaron resultados con un efecto alelopático al obtener hojas de buen tamaño y aspecto, con tallos rectos y vigorosos, características importantes al realizar micropropagación *in vitro*, siendo los mejores tratamientos donde se aplicó la técnica de inmersión de los explantes con 10% y 20% de gel de *A. vera* por el tiempo de 10 y 30 min previo a la siembra en medio MS, presentando un buen progreso durante el tiempo de desarrollo, muy relacionado con la investigación realizada por Oviedo y García (2018) quienes usaron el medio de cultivo MS pero agregaron las concentraciones de 50%, 25% y 12.5% de gel de *A. vera* como un compuesto más para la solución, al sembrar los explantes de papa (*Solanum tuberosum*) obtuvieron respuestas positivas tal como un color verde intenso e incluso un tallo ligeramente más ancho.

La etapa de establecimiento *in vitro* se considera con énfasis debido a la contaminación bacteriana en brotes de babaco. Jadán, Basantez, Gómez y Bermúdez (2016) indicaron que la cantidad de 1.5% de hipoclorito de sodio, al mantener los brotes bajo esa concentración durante 10 min se puede reducir hasta 55% la contaminación bacteriana e incluso reduce los hongos hasta un 3%, presentando esta metodología como factible para la desinfección de brotes, lo que concuerda con Lapiz, Huamán, Neri, y Oliva (2020) quienes aplicaron el mismo protocolo de desinfección en brotes de babaco y obtuvieron explantes con mayor

viabilidad al aplicar una concentración de 1.5% de NaClO durante 10 minutos, por otra parte; de acuerdo a la investigación de Trujillo (2019) demostró que al incorporar el hipoclorito de sodio al 1.25% (5 min) y etanol al 70% (1 min) como parte del protocolo de desinfección se logró obtener un 80% de viabilidad de brotes de babaco durante su introducción *in vitro*.

Al emplear reguladores de crecimiento (bencilaminopurina, ácido indolacético y ácido giberélico) se logra obtener una mayor cantidad de brotes, manteniendo un balance con las cantidades agregadas según lo que se requiera. Conforme a lo investigado por Bazante (2016), para el crecimiento de nuevos brotes de babaco, la hormona citoquinina (6BAP) va a influir evidentemente en el crecimiento de los explantes de babaco debido al efecto que va a presentar este regulador de crecimiento tal como el desdoblamiento de proteínas y la estimulación de enzimas dando inicio a la división celular, el cambio de la dominancia apical y la distinción de brotes, además Jordan (2015) indicó que al emplear 1.0 mg/L AIA aumentó el desarrollo de brotes en los segmentos nodales de *Vasconcellea chilensis*; en relación con Millones (2019) quien aplicó la concentración de 0.5 mg/L AIA en el medio de cultivo para la iniciación *in vitro* de yemas axilares de *Vasconcellea x h.* presentando un ligero desarrollo y crecimiento de los explantes a los 35 días luego de la siembra.

Se puede constatar que el efecto biofungicida a partir de los extractos del gel de sábila es a causa de los compuestos bioquímicos, tal como la aloína, que actúan sobre la propagación de fitopatógenos de tipo microscópicos. Además, demostró que, en un cultivo por envenenamiento, al aplicar concentraciones de 500 y 1000 ppm disminuyó el crecimiento radial del micelio de *Mycosphaerella fijensis* a un porcentaje de 44.14% y 44.84% en contraste a un popular biocontrolador de

nombre *Trichoderma sp.* el cual logró reducir el crecimiento micelar a un porcentaje menor de 38.62% (Jaramillo et al., 2017). También se observó altos porcentajes de inhibición micelar a partir de un control químico de nombre Propiconazol el cual dio resultados inmediatos llegando a un porcentaje de 80.51% en la primera aplicación, pero días después de la incubación su efecto inhibitor sobre el micelio fue reduciendo.

En recientes investigaciones se ha comprobado que el gel de *A. vera* presenta una gran eficacia en la sustitución de reguladores de crecimiento, así lo recalcó Pulido y Becerra (2016) quienes demostraron que este gel está compuesto por ácido glutámico y arginina, los cuales estimulan al mayor desarrollo foliar y al crecimiento de raíces, en relación con Hamdeni *et al.* (2021) quienes demostraron que es muy eficaz la aplicación del gel de *A. vera* para mejorar la regeneración de explantes de *A. vera* (*L.*) (Asphodelaceae) establecidos *in vitro* debido a que en este estudio se obtuvo un mayor número de brotes axilares con una longitud promedio de  $2.21 \pm 0.84$  cm con una alta inducción de raíces.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Importancia del babaco en el Ecuador**

Uno de los cultivos que presenta alta rentabilidad e importancia en el Ecuador es el cultivo de frutales debido a que estos productos tienen alta demanda en el mercado externo, así como en el mercado interno (Arellano, 2014).

Se considera al cultivo de babaco con una alta tasa de retorno entre los frutales comercializados; éste cultivo puede alcanzar un promedio de rendimiento de 225 ton por Ha por cada dos años y medio del tiempo de producción, teniendo como densidad 5500 plantas por cada Ha (Rodríguez, 2013).

Entre las limitantes ya mencionadas para este cultivo, la propagación vegetativa expone a las plantas a altos índices de contaminación reduciendo el buen desarrollo, impidiendo que el agricultor incremente la propagación masiva del babaco.

### 2.2.2 Taxonomía del babaco (*Vasconcellea x heilbornii*)

Se considera al babaco como el resultado de la hibridación natural de *Vasconcellea pubescens* y *Vasconcellea stipulata*, por esa causa se clasificó como *Carica x Heilbornii* (Badillo), siendo Helborn quien analizó la taxonomía del babaco dándole origen a la especie Helborni en 1922 (Maldonado, 2015).

Luego del análisis que hizo Helborn, Badillo fue quien realizó el descubrimiento de la hibridación del babaco en el año de 1987 (Mariño, 2019).

Según el estudio taxonómico por medio de AFLPS que realizó la Universidad de Ghent, determinó que el género del babaco se debe clasificar como *Vasconcellea* en lugar de *Carica*, siendo la descripción taxonómica la siguiente:

**Tabla 1. Clasificación taxonómica del babaco**

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Parietales
Familia:	Caricaceae
Género:	<i>Vasconcellea</i>
Especie:	<i>Vasconcellea x heilbornii</i> var. pentagona Badillo
Nombre común:	Babaco, papaya de montaña

Badillo, Eynden y Damme, 2000

### 2.2.3 Descripción morfológica

#### 2.2.3.1. Raíz

Debido a su propagación por estacas va a presentar raíces unitarias de un tono café claro con una textura muy delicada quebrándose al mínimo tacto, al quebrarse

va a emitir un látex de consistencia pegajosa. Al ser trasplantadas se va activar el desarrollo radicular el cual se realiza paulatinamente y es entonces que se da origen a la raíz principal de una consistencia carnosa y gruesa, alcanza una profundidad de un metro o inferiores (Vega y Barberán, 1993).

Sus raíces secundarias tan solo alcanzan de 0.5 a 0.6 metros de profundidad, son de coloración cremosa amarillenta ligeramente oscuras y también poseen una textura carnosa; sus raíces terciarias son poco ramificadas y de color claro, consistencia delicada y quebradizas con mucha capacidad de retención de agua (Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar [AAIC], 2003).

Las raíces del babaco en forma general, debido a su morfología tienden a ser muy sensibles a fitopatógenos a causa del mal manejo en el trasplante o al sufrir encharcamiento en los suelos (Vélez, Armijo y Jordán, 2015).

#### **2.2.3.2. Tallo**

Va a presentar un tallo recto de forma cilíndrica, semileñoso con una altura aproximada de 2.5 metros que se pueden desarrollar en el periodo de un año, de coloración verde en su etapa juvenil y castaño gris en edad avanzada. Presenta un diámetro promedio de 0.25 metros al llegar a la etapa adulta, va a presentar cicatrices de gran tamaño y prominentes debido a la caída de las hojas; en cada cicatriz se presenta una yema vegetativa en letargo (Quisintuña, 2014).

#### **2.2.3.3. Hojas**

Presentan una forma palmo lobular con cinco lóbulos, ubicado en el tallo con orden alternado en espiral, su peciolo es carnoso y muy largo con una longitud de 0.8 a 1 metro en su edad adulta. El haz es de color verde oscuro y el envés es un tono más claro, posee nervaduras muy sensibles y acentuadas (Coyago, León y Patiño, 2010).

#### **2.2.3.4. Flor**

Tiene su aparición luego de los dos a tres meses del trasplante, se van a ubicar en la axila de cada hoja en forma perpendicular al tallo. El pedúnculo tiene una longitud de tres a cinco centímetros en su etapa inicial, en el pedúnculo principal pueden aparecer pequeñas flores, pero luego caen y quedará solo aquella flor que formará al fruto del babaco. Según su sexualidad, la flor se considera dioica con tan solo flores femeninas, a causa de ello no tendrá anteras ni filamentos; tiene una forma acampanada con un cáliz corto, el color de la flor es verde y posee cinco pétalos de color verde blanquecino. Contiene un ovario supero con cinco carpelos y muchos óvulos; su estigma no posee un pedúnculo y tiene una coloración blanca. Las flores pueden decaer si sufren algún tipo de estrés hídrico, térmico o luminoso (Coyago et al., 2010).

#### **2.2.3.5. Fruto**

Su fruto es de color amarillo cuando está maduro y verde en estado de desarrollo con una pulpa blanquecina muy jugosa delicadamente acida con poca dulzura; tiene una forma elipsoide, alargado con forma pentagonal en corte trasversal y no va a necesitar de polinizadores para su desarrollo, no van a producir semillas (partenocárpicas). Tiene un tamaño de 0.30 metros de largo, 0.06 a 0.12 metros de diámetro, con un peso aproximado de 300g a 2000g. La cantidad productiva por Ha es de 50 Kg (Robles y Rentería, 2015).

#### **2.2.4 Propagación**

Al poseer un fruto sin semillas, el babaco se limita a la propagación vegetativa por medio de estacas, injertos y cultivo de tejidos; a continuación, se describen las técnicas que se utilizan:

#### **2.2.4.1. Propagación por estacas maduras**

Esta técnica es por medio del uso de plantas maduras del babaco que hayan concluido su etapa de cosecha; el tamaño de las estacas va a ser entre 25 a 30 centímetros con un diámetro aproximado de 4 a 6 centímetros. El tipo de corte va a ser bisel en la parte superior de la estaca y la parte basal será de corte transversal, promoviendo el enraizamiento, luego de ello se debe desinfectar las estacas y preparar el sustrato que requiera (Vaca, 2008).

#### **2.2.4.2. Propagación por estacas tiernas**

Las estacas se las obtiene a partir de plantas jóvenes, plántulas y brotes tiernos; las dimensiones que deben tener son de 10 centímetros de largo y un diámetro de 1.5 a 2.5 centímetros, luego se debe desinfectar las estacas y sembrarlas en sustratos estériles también se debe cubrir las macetas con plástico para crear un microclima y mantener niveles de humedad al 90% con temperaturas de 22°Celsius. Para realizar el trasplante se debe esperar de 6 a 7 semanas además se recomienda aplicar ácido indol butírico (AIB) para mejorar el desarrollo de las raíces (Viteri, 1992).

#### **2.2.4.3. Propagación por injertación**

En esta técnica se emplea el injerto de púa terminal el cual consiste en cortar el patrón entre los 10 a 15 centímetros de altura y sobre este se hace un corte longitudinal transversal y ahí se pondrá el injerto del babaco, el cual debe tener las dimensiones de 10 centímetros de largo y 1 a 1.5 centímetro de diámetro, la estaca a injertar debe tener un corte en bisel y finalmente se unirá al patrón, se debe cubrir con cinta plástica (Viteri, 1992).

#### **2.2.4.4. Cultivo de tejidos vegetales**

En esta técnica se usan los meristemos del babaco con la finalidad de obtener

una producción vegetativa más rápida, con mayor número de plantas sanas con ninguna contaminación por microorganismos, siendo ésta una alternativa óptima para mejorar la producción del cultivo de babaco (Castillo, 2000).

## **2.2.5 Necesidades edafoclimáticas**

### **2.2.5.1. Temperatura**

Para el adecuado desarrollo del cultivo se debe emplear temperaturas entre 14 y 27°C, en caso de temperaturas bajas o altas (5 o 35°C) la planta va a manifestar alteraciones fisiológicas como el déficit nutricional y el aborto de flores y frutas (Velástegui y García, 2012).

### **2.2.5.2. Humedad**

El rango de humedad ambiental recomendada para el buen desarrollo va desde 70-80%, en caso de alteraciones en el porcentaje de humedad pueden aparecer enfermedades y plagas (Robles, Herrera y Torres, 2016).

### **2.2.5.3. Luminosidad**

El cultivo de babaco no exige de muchas horas luz para su desarrollo, pero se estima que requiere una cantidad mínima de 4.5 hrs luz por cada día (Matute y Tirado, 2013).

### **2.2.5.4. Suelo**

Las necesidades edáficas del cultivo de babaco son del tipo franco-arcilloso-arenoso, con cantidades necesarias de materia orgánica dando la característica de un suelo suelto. También se puede emplear suelos limosos o arenosos ya que va a facilitar el drenaje; los niveles de pH van a variar de 5.8 a 8.2, se puede optar por un pH de 7.2 recomendado como el ideal para el cultivo (Aldaz, 2017).

## **2.2.6 Problemas fitosanitarios**

Hay diversas enfermedades que atacan a los cultivos, pero las de mayor

importancia son aquellas que tienen su origen a partir de hongos (Andrade, 2010). En el cultivo de babaco hay enfermedades de gran importancia las cuales se describen a continuación:

#### **2.2.6.1. Cenicilla (*Oidium sp.*)**

Esta enfermedad inicia con el ingreso del patógeno en la epidermis foliar y va a absorber los nutrientes a través de su haustorio, luego va a presentar manchas anormales de apariencia traslúcida, estas mismas manchas van a provocar un amarillamiento del tejido foliar. Si se continúan las condiciones favorables para el hongo éste va a causar altos porcentajes de severidad en la planta incluso puede llegar al 100% (Bravo, Larriva y Minchala, 2012).

#### **2.2.6.2. Lancha temprana (*Alternaria sp.*)**

Afecta principalmente a las hojas manifestando como síntomas manchas necróticas de forma redonda en la parte interna del limbo, estas manchas se van a presentar tanto en el haz como en el envés. Al inicio de la infección del hongo, el color de las manchas son café claro con varios anillos concéntricos con bordes ondulados y finos, sus tamaños van a ser de 3 – 5 centímetros de diámetro aproximadamente. Cuando el ataque es severo las manchas van a fusionarse observando lesiones muy visibles con hojas quebradizas y necróticas (Robles et al., 2016).

#### **2.2.6.3. Antracnosis (*Mycosphaerella sp.*)**

Este hongo ataca principalmente a los frutos, es muy frecuente encontrar esta enfermedad en el cultivo de babaco; va a presentar síntomas tal como necrosis en forma de manchas irregulares con un aspecto quebradizo y color blancuzco en la parte céntrica. Si los frutos del babaco están en su etapa de maduración pueden

ser infectados por este hongo el cual va a manifestarse con pequeñas exudaciones de látex hacia fuera del fruto (Robles et al., 2016).

#### **2.2.6.4. Marchitez Vascular del Babaco (MVB) (*Fusarium oxysporum*)**

Esta enfermedad tiene su origen en Ecuador considerándose de mucha importancia en el cultivo de babaco y otros frutales debido al aumento de su distribución y por su fácil diseminación en materiales contaminados. El hongo ataca principalmente a las raíces dañando la mayor parte de estas causando el debilitamiento en las plantas, amarillamiento en las hojas y su decaimiento e incluso llega a provocar la muerte. Actualmente se está usando controles químicos a partir de productos recomendados en casas comerciales y también se puede optar por controladores biológicos, pero se considera que el uso de variedades resistentes a MVB es el mejor método para su control debido a que los fungicidas de contacto no demuestran una eficacia debido a que el hongo habita en el interior de la planta (Helmuth, 2001).

#### **2.2.7 Sábila (*Aloe vera*)**

##### **2.2.7.1. Morfología**

Al igual que otros vegetales, la planta de *A. vera* está conformada por raíz, tallos, hojas y flores. Las partes vegetativas más resaltantes de la sábila son sus hojas las cuales se desarrollan alrededor del tallo al ras del suelo creciendo en forma de roseta hacia arriba (García, Hernández, Echevarría, Estévez y Santos, 2008).

Las hojas tienen un aspecto lanceolado y dentado con forma de espinas usado como autodefensa, tiene un color que va desde un tono verde a verde azulado según el ambiente en el que se encuentre (Zapata *et al.*, 2013). El gel es el parénquima de la hoja y está en la parte interna central junto con pequeños

conductos longitudinales que contienen la aloína y la sabia de la planta conocida como acíbar (Domínguez et al., 2012).

#### **2.2.7.2. Composición química del gel de *A. vera***

En su composición se encuentran minerales esenciales y vitaminas además de la arginina y el ácido glutámico los cuales son importantes aminoácidos; incluso este gel posee enzimas tal como la oxidasa, catalasa, amilasa y lipasa; cabe incluir que contiene polisacáridos siendo importantes como reservas de energía (Calderón, Quiñones y Pedraza, 2011). Entre los elementos nutricionales se puede encontrar al calcio, magnesio, potasio, azufre y el fósforo como macro y microelementos; investigaciones recientes afirman la eficacia del gel de *A. vera* como un complemento o sustituto de reguladores sintéticos aplicados en cultivos *in vitro* de vegetales, debido a su composición química al ser un potencial estimulante, acelerador y activador en células de regeneración (Pulido y Becerra, 2016).

#### **2.2.7.3. Obtención del gel de *Aloe***

Se puede obtener el gel de *A. vera* al remover de forma mecánica o manual las capas externas de la hoja con una técnica denominada fileteado el cual requiere realizar cortes de forma manual a la hoja y con un cuchillo cortar al ras la capa externa posterior dejando libre el gel, luego se procede a raspar el gel ya sea con el cuchillo o puede ser con una cuchara metálica de bordes lisos, preferiblemente. También se puede obtener el gel al licuarlo con aspas de acero, pero no es muy recomendable debido a que va a oxidar más rápido los compuestos que posee el gel (Domínguez et al., 2012).

El gel de la sábila se puede envasar en frascos de vidrio oscuro o plástico para su distribución o futuro uso; para mantenerlo en buenas condiciones es de suma importancia su conservación a temperaturas controladas en conjunto con la

humedad relativa, en caso de alteraciones en su conservación va a influir la volatilización de algunas sustancias, disminuyendo su calidad nutricional llegando a afectar de forma negativa el producto receptor (Domínguez et al., 2012).

### **2.2.8 Micropropagación *in vitro***

La aplicación de la técnica de micropropagación *in vitro* se basa en la potencialidad que tienen las células de un determinado organismo para regenerarse en un ser completo, todo esto se logra con el beneficio de medios de cultivo incorporados con nutrientes y condiciones ambientales controladas (Baque, 2019).

#### **2.2.8.1. Medios de cultivo y componentes**

El medio de cultivo es el sustrato a usar para colocar el explante previamente seleccionado. La composición del medio de cultivo va a variar dependiendo de la finalidad que se desea alcanzar, este debe cumplir con dos funciones; la primera es la de emplear soporte físico al explante y la segunda es aportar los nutrientes necesarios para un óptimo desarrollo del cultivo (Sharry, Adema y Abedini, 2020). Al realizar cultivos de tejidos vegetales se va a requerir medios de cultivo con partes parciales o total de los macroelementos y microelementos además de añadir carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, sustancias gelificantes y reguladores de crecimiento (Gil, 2009).

Los reguladores de crecimiento son un aporte al desarrollo de las plantas según la variedad de la planta y otras características fisiológicas, será necesario añadirlos al medio de cultivo en otros casos no lo será, entre las principales fitohormonas se encuentran:

**Tabla 2. Características de fitohormonas**

<b>Fitohormonas</b>	<b>Funciones</b>
Auxinas	Actúa en la elongación celular, formación de raíces, expansión de tejidos.
Citoquininas	Estimula la división celular en aquellos tejidos que no presentan meristema, se encuentran en las raíces y se translocan por la xilema.
Giberelinas	Promueve la germinación de semillas, actúa en el desarrollo de las raíces, mejora el desarrollo de los tallos, actúa en conjunto con las auxinas.
Ácido abscísico	Se considera una hormona antagónica en las plántulas, regula el balance de agua, se aplica en la fase de aclimatización.
Etileno	Promueve la maduración de los frutos y la senescencia de las flores, inhibe el crecimiento en semillas.

---

Nieto y Valdivieso, 2013

### **2.2.8.2. Etapas de la micropropagación**

#### **2.2.8.2.1. Etapa 0**

Se escoge a la planta madre que posea las mejores características, esta etapa es de gran importancia porque las plantas regeneradas van a presentar características superiores a su progenitor. También se la prepara desde el inicio para que no presente daños físicos hasta llegar a la siguiente etapa (Macías, 2020).

#### **2.2.8.2.2. Etapa I**

Es la etapa inicial en la cual se establece el cultivo *in vitro*, se selecciona el explante y se establece un pretratamiento de desinfección, puesto que las plantas adultas obtenidas del campo o vivero pueden estar contaminados con microorganismos fitopatógenos ya sean hongos, virus o bacterias (Campoverde, 2020).

En esta etapa se realiza varios procesos para la desinfección del material a usar lo que significa que se eliminarán los microorganismos patógenos y a la vez se tratara de no dañar el material vegetal. La primera desinfección se realiza con agua y jabón, luego se enjuaga y nuevamente se expone al material vegetal en otro enjuague con algún fungicida, se enjuaga y se realiza una última desinfección con hipoclorito de sodio dentro de la cámara de flujo laminar, luego se diseccionan con el bisturí los meristemas y las partes necrosadas de los brotes, finalmente se realiza la siembra del explante al medio de cultivo a fin de que se desarrolle bajo condiciones controladas (Otero, 2020).

#### *2.2.8.2.3. Etapa II*

A partir de esta etapa se iniciará la propagación de los brotes o callos añadiéndoles los reguladores de crecimiento tal como las auxinas y citoquininas, también se puede emplear tres vías de multiplicación *in vitro*; la primera es organogénesis y embriogénesis, la segunda es la propagación por medio de yemas o ápices y por último la multiplicación por meristemas. En esta etapa también vamos a presenciar la elongación de los brotes los cuales son de mucha importancia debido a que es una preparación del enraizamiento de las yemas (Fabara y Quillay, 2012).

#### *2.2.8.2.4. Etapa III*

Se considera como la etapa del pretrasplante o enraizamiento ya que a partir de esta etapa se procurará que la planta se independice y comience a sintetizar las sustancias esenciales para su propio desarrollo y metabolismo (Guamán, 2018). En esta fase es necesario adicionar al medio enraizantes como las auxinas, AIB y ANA para dar inicio a la formación de las raíces principales y que obtengan un buen desarrollo (Gonzáles, 2020).

#### 2.2.8.2.5. Etapa IV

Al observar el desarrollo pleno de la planta con sus respectivas hojas, tallos y raíces, se empieza el proceso de transferencia del laboratorio a campo en donde previamente se preparará un sustrato enriquecido con nutrientes edáficos para un correcto desarrollo de la planta en el vivero, se debe tener en cuenta que la luz solar no les dé directo para que su proceso de adaptabilidad se vaya dando paulatinamente, de esta forma la capacidad fotosintética de las plántulas aumentará de forma gradual (Muñoz, 2012).

### 2.3 Marco legal

#### Título VI Régimen de Desarrollo

##### Capítulo III, Soberanía Alimentaria

Las leyes establecidas en la constitución del Ecuador (2008) refieren lo siguiente:  
**Art. 281.-** Es una obligación por parte del Estado establecer estrategias para la soberanía alimentaria, garantizando la autosuficiencia a partir de alimentos en buen estado para el consumo del pueblo ecuatoriano, el Estado se responsabiliza al:

**3.** Implementar y fortalecer nuevas tecnologías amigables al ambiente y que posean un origen orgánico para la producción agropecuaria.

**8.** Comprometerse con los avances científicos e investigativos en conjunto con la innovación de tecnologías.

**9.** Controlar la aplicación y el progreso de la biotecnología, también sus experimentos y comercialización, por medio de normas de bioseguridad (Asamblea Nacional, 2008, p.138).

#### Título VII Régimen del buen vivir

##### Capítulo II, Biodiversidad y recursos naturales

##### Sección segunda, Biodiversidad

**Art. 401.-** El Ecuador es un país libre de transgénicos en la agricultura y solo por aprobación de la presidencia nacional y de la asamblea, se podrá incluir transgénicos. Además, el estado mantiene con mucha supervisión de bioseguridad el uso y aplicación de la biotecnología actual y los productos que se derivan de ella, también se niega el uso de la biotecnología con fines riesgosos o de tipo experimental que causen daños sociales (Asamblea Nacional, 2008, p.179).

### **3. Materiales y métodos**

#### **3.1 Enfoque de la investigación**

##### **3.1.1 Tipo de investigación**

En esta investigación de tipo experimental se aplicaron conocimientos a nivel explicativo y correlacional.

##### **3.1.2 Diseño de investigación**

###### **3.1.2.1. Investigación descriptiva**

Se recopilaron datos y análisis de teorías comprobadas para complementar los objetivos establecidos de la investigación planteada.

###### **3.1.2.2. Investigación experimental**

Se realizaron tratamientos en nudos vegetativos con técnicas *in vitro* observando el proceso de desarrollo, estableciendo relaciones entre la variable independiente y dependiente.

###### **3.1.2.3. Investigación explicativa**

Se proporcionó mayores detalles de estudio para complementar más teorías experimentales por medio de la investigación realizada.

#### **3.2 Metodología**

##### **3.2.1 Variables**

###### **3.2.1.1. Variable independiente para protocolos de desinfección**

La aplicación de protocolos de desinfección en base de productos convencionales y con gel de *A. vera* para los nudos de babaco (*Vasconcellea x heilbornii*).

###### **3.2.1.2. Variable independiente para medios de cultivo**

Se planteó la aplicación de reguladores de crecimiento de tipo sintético auxina (AIA), giberelina (GA<sub>3</sub>), citoquinina (6BAP) y de tipo orgánico el extracto del gel de

A. *vera* cada uno de ellos agregados en los medios de cultivo, según los tratamientos, para el crecimiento de explantes de babaco.

### **3.2.1.3. Variable dependiente**

Cada variable dependiente se consideró tanto para la fase de protocolo de desinfección (40 unidades experimentales), así como para la fase de establecimiento en medios de cultivo (40 unidades experimentales).

#### *3.2.1.3.1. Brotación*

Se observaron la cantidad de hojas, tallos o callos presentes en los explantes, todo ello se realizó según los periodos establecidos (cada 7 días durante 4 y 3 semanas), calificándolos según su desarrollo vegetativo con 0 si no hubo ningún brote y con 1 si hubo brotes.

#### *3.2.1.3.2. Tamaño de explantes*

Se midió la altura de los explantes con una regla centimetrada desde la base hasta el último desarrollo superior de los ápices, cada 7 días después de la siembra durante 4 y 3 semanas.

#### *3.2.1.3.3. Contaminación por número de muestras*

Se contaron de forma visual los frascos que presentaron hongos o bacterias y se anotaron cada repetición en los registros según los periodos establecidos (cada 7 días durante 4 y 3 semanas), calificándolos con 0 si no hubo muestras con presencia de hongos o bacterias y con 1 si se presentaron.

#### *3.2.1.3.4. Mortalidad de explantes*

Esta variable se obtuvo al observar altos grados de oxidación y contaminación microbiana, considerándose como un explante muerto; se anotaron en los registros según los periodos establecidos (cada 7 días durante 4 y 3 semanas), calificándolos

con 0 si no hubo muestras oxidadas o contaminadas y 1 si hubo muestras oxidadas o contaminadas.

### 3.2.2 Tratamientos

El presente trabajo experimental está compuesto por dos fases en donde uno de ellos es establecer cuatro protocolos de desinfección para los nudos de babaco como parte de la etapa de iniciación, los cuales se describen a continuación:

**Tabla 3. Tratamientos de fase de protocolo de desinfección**

Tratamientos	Descripción
T1	3ml/L jabón líquido-povidin (10min), 6ml/L Dorbaq (30min), Alcohol al 70% (1min), 1.25% v/v NaClO (3min)
T2	3ml/L jabón líquido-povidin (10min), 10% p/v gel de <i>A. vera</i> (30min), Alcohol al 70% (1min), 1.25% v/v NaClO (3min)
T3	3ml/L jabón líquido-povidin (10min), 20% p/v gel de <i>A. vera</i> (30min), Alcohol al 70% (1min), 1.25% v/v NaClO (3min)
T4	3ml/L jabón líquido-povidin (10min), Alcohol al 70% (1min), 1.25% v/v NaClO (3min)

Reyes, 2022

La segunda fase de la etapa de iniciación consistió en elaborar cuatro medios de cultivo en donde se aplicaron cuatro tratamientos descritos de la siguiente forma:

**Tabla 4. Tratamientos de la fase de establecimiento en medios de cultivo**

Tratamientos	Descripción
T1	100% Medio *WPM, 2mg/L 6BAP, 4mg/L GA <sub>3</sub>
T2	100% Medio WPM, 2mg/L 6BAP, 0.3mg/L AIA, 4mg/L GA <sub>3</sub>
T3	50% Medio WPM, 2mg/L 6BAP, 4mg/L GA <sub>3</sub> , 10% p/v gel de <i>A. vera</i>
T4	2mg/L 6BAP, 4mg/L GA <sub>3</sub> , 15% p/v gel de <i>A. vera</i>

\*WPM: Lloyd & McCown Woody Plant Basal Medium

Reyes, 2022

### 3.2.3 Diseño experimental

El diseño experimental aplicado fue un diseño completamente aleatorizado para los dos experimentos a realizar, a saber, la fase de protocolos de desinfección y fase de establecimiento en medios de cultivo para la iniciación *in vitro* de nudos de babaco con 10 repeticiones en cada tratamiento.

Para comprobar la normalidad de la variable numérica continua (tamaño de explantes) se aplicó la prueba de Shapiro Wilks y en caso de presentar una distribución no normal se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con 1% de nivel de significancia, comparando las medianas cuando  $p$  sea  $<0.01$ .

En cuanto a las variables categóricas, dicotómicas (brotación, contaminación por número de muestras y mortalidad de explantes) se aplicó la prueba de Chi cuadrado de Pearson para determinar el valor del nivel de significancia al 1%, se consideró el coeficiente de Cramer para observar si las variables nominales están o no asociadas entre sí. Se usó el software estadístico InfoStat 2017 1.2, para ingresar los datos y obtener los resultados según los datos recopilados evaluando cuál fue el mejor tratamiento con acción antiséptica y bioestimulante.

### 3.2.4 Delimitación experimental

**Tabla 5. Experimentos a realizar**

<b>Variables</b>	<b>Descripción</b>
Fase de protocolo de desinfección	
Lugar a realizar	<i>In vitro</i>
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	10
Número de unidades experimentales	40
Fase de establecimiento en medios de cultivo	
Lugar a realizar	<i>In vitro</i>
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	10
Número de unidades experimentales	40

Reyes, 2022

### 3.2.5 Recolección de datos

#### 3.2.5.1. Recursos

##### 3.2.5.1.1. Recursos bibliográficos

Como respaldo para la investigación, se usaron informes de laboratorios, artículos científicos, tesis de pregrado y postgrado, información web, libros.

##### 3.2.5.1.2. Material experimental

Se usaron plántulas de babaco en buen estado obtenidos del vivero “Flor de Azalea” ubicado en la ciudad de Cuenca, hojas de sábila (*A. vera*) provenientes de mi casa, compuestos para medios de cultivo y reguladores de crecimiento (AIA, BAP, GA<sub>3</sub>), desinfectante-hidratante Dorbaq, Alcohol al 70%, jabón líquido-povidin, NaClO al 5% marca comercial, agua destilada, autoclave, pH-metro, cámara de flujo laminar, materiales de vidriería del laboratorio, equipo de disección quirúrgico, balanza analítica.

##### 3.2.5.1.3. Recursos humanos

Personal administrativo de la Universidad Agraria del Ecuador, director de tesis y autora del presente proyecto.

##### 3.2.5.1.4. Recursos económicos

**Tabla 6. Costo de inversión de materiales**

Equipos de laboratorio	Valor total (\$)
6BAP (citoquinina)	80
Auxina (AIA)	40
Medios de cultivo	50
Dorbaq (1litro)	30
Cloro comercial al 5%	3
Alcohol 70%	8
Alcohol 96%	3
Jabón líquido povidyn 120ml	8
Agar- agar	15
Azúcar	1
Plantas de babaco	2,5
Otros materiales	97
<b>Total</b>	<b>\$ 337,5</b>

### **3.2.5.2. Métodos y técnicas**

#### *3.2.5.2.1. Método exploratorio*

Se aplicó este método debido a que investigaciones recientes no informan el uso del gel de *A. vera* en nudos de babaco *Vasconcellea x heilbornii* iniciadas *in vitro*.

#### *3.2.5.2.2. Método analítico*

A través de este método se logró comprender las distintas aplicaciones de teorías o principios que se usaron en el proyecto.

#### *3.2.5.2.3. Método inductivo*

Este método permitió comprender los resultados obtenidos a fin de relacionarla con las hipótesis y objetivos ya planteados.

### **3.2.5.3. Manejo del ensayo**

#### *3.2.5.3.1. Indicaciones del trabajo experimental*

Se realizó un pretratamiento fitosanitario a las plantas de babaco por un periodo de 3 meses al aplicar 200gr/hl de Kocide 2000 (fungicida – bactericida de contacto), 0.6gr/L de Amistar (fungicida sistémico) y 1.5ml/L de Dorbaq (desinfectante – hidratante) cada 15 días alternando su aplicación, también se aplicó Marchfol y gel de *A. vera* como fertilizantes y la citoquinina 6BAP para inducir el desarrollo de yemas; 6 días previos a la siembra se cortaron ramas de la planta con varios segmentos nodales para colocarlos en vasos de plástico transparente con una solución de 20% p/v de *A. vera* y 150mg/L de 6BAP a fin de potenciar la vigorosidad de la planta y activar las yemas vegetativas.

En los tratamientos de protocolo de desinfección, los explantes tratados se sembraron en un cultivo de Lloyd & McCown Woody Plant Basal Medium con vitaminas, reguladores de crecimiento y agar; en cuanto a los explantes de los tratamientos de medios de cultivos se aplicó un solo protocolo de desinfección para

todos con jabón líquido-povidin, Alcohol al 70%, 1.25% NaClO luego se sembraron en sus respectivos tratamientos.

#### *3.2.5.3.2. Obtención del extracto de gel de Aloe vera*

Se cortó la hoja de la sábila y se lavó con jabón líquido, se secó y colocó boca abajo en un recipiente con agua destilada para recibir la aloína que segrega la hoja. Pasando alrededor de 8 a 12 horas se cortó un trozo de la hoja y se sacaron las espinas que se encuentran en los costados, también se corta la parte posterior de la hoja dejando solamente la parte anterior como base para iniciar el raspado del gel, este gel se lo colocó en un cedazo y se le agregó 5 ml del agua destilada con la aloína para tener una mejor disolución del gel, una vez extraído el gel se lo pesó en la balanza analítica según la cantidad deseada.

#### *3.2.5.3.3. Dosificaciones para la fase de establecimiento en medios de cultivo*

Se prepararon 4 tratamientos diferentes empleando el uso total, parcial y nulo del medio WPM, reguladores de crecimiento y el gel de sábila, así se comprobó cual es el medio de cultivo que promueva el mejor desarrollo del explante; la preparación de los medios de cultivo se describe a continuación:

1. En un beaker de 1000ml se agregó 250ml de agua desionizada y un imán (en caso de poseer agitador magnético) o si no se agitaba con una barrilla de vidrio.
2. Se pesó el medio WPM, el azúcar, los reguladores de crecimiento sintéticos, el agar y el carbón activado, se los agregó al beaker (exceptuando al agar) agitando continuamente la mezcla hasta lograr su disolución.
3. Se enrasó hasta 500ml con agua desionizada, se ajustó el pH (5.8) con NaOH y HCl.

4. En una plancha magnética con regulador de temperatura, se colocó la solución hasta calentarla añadiendo poco a poco el agar, luego se tapó el beaker y los tubos de ensayo con papel aluminio, todos esos materiales se los llevó al autoclave por 20min a 121°C y 1atm.

5. Ya esterilizados se los llevó a la cámara de flujo y con una jeringa de 20 ml se llenó cada tubo de ensayo con la cantidad de 12ml del medio preparado, finalmente se volvieron a tapar los tubos con su papel aluminio y con plástico film se los sello hasta su posterior uso.

#### *3.2.5.3.4. Protocolo de desinfección*

Antes de iniciar con el proceso de desinfección se esterilizaron todos los materiales que se usaron dentro de la cámara de flujo incluso el agua destilada y la solución del gel de *A. vera*, exceptuando los otros productos de desinfección como la povidona, alcohol al 70%, NaClO y el Dorbaq.

Se llevó ramas de babaco con sus segmentos nodales al laboratorio y antes de ingresar a la cámara de flujo se cortaron los nudos a un tamaño de 3 a 5 cm, luego se procedió a realizar los siguientes pasos dentro de la cámara de flujo:

1. En un frasco de vidrio se agregó agua y jabón líquido-povidin, se agitó durante 15min, luego se hicieron tres lavados con agua destilada estéril.

2. Según el tratamiento a emplear, en un vaso precipitado se hizo la solución en 100ml agregando el producto de acuerdo al tratamiento y se agitó por 30min, luego se lavó una vez con agua destilada estéril.

3. Se dejó por el tiempo de 60" a los explantes en una solución de alcohol al 70% luego se enjuago 3 veces con agua destilada.

4. Se preparó la solución de 1.25% v/v de NaClO en un vaso precipitado de 200ml y se le agregó 2 gotas de Tween 20, se colocaron los explantes en la solución agitando durante 3min, se dieron tres enjuagues.

5. Ya desinfectados los segmentos nodales de babaco, estos se diseccionan tomando las yemas apicales y nodales realizando un corte en V con un bisturí n°23.

6. Los explantes se sembraron en sus respectivos tubos de ensayo con la ayuda de pinzas previamente esterilizadas para luego sellarlos con su propio papel aluminio y con plástico film.

7. Se llevó los explantes estudiados al cuarto de crecimiento con un fotoperiodo de 16hrs luz y temperatura de  $25 \pm 2$  °C.

#### 3.2.5.3.5. Toma de datos

Se registró semanalmente en un cuadernillo cada observación de las variables según los tratamientos con sus repeticiones; en los tratamientos de protocolos de desinfección cada repetición se evaluó según su progreso cada 7 días después de la siembra hasta completar los 28 días (4 semanas) de desarrollo de los explantes y de igual forma en la fase de establecimiento en medios se evaluó cada repetición según su progreso cada 7 días después de la siembra hasta completar los 21 días (3 semanas) de desarrollo de los explantes.

Para evaluar las variables brotación, contaminación por número de muestras y mortalidad de explantes, se utilizó los valores 0 (ausencia) y 1 (presencia) anotándolos en cada casilla hasta completar las 10 repeticiones por cada tratamiento tanto para la fase de protocolo de desinfección así como en medios de cultivo; en cuanto a la variable tamaño de explantes se anotaron las medidas en centímetro en cada casilla hasta llegar a las 10 repeticiones por cada tratamiento según las semanas establecidas.

### **3.2.6 Análisis estadístico**

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

##### *3.2.6.1.1. Fase de Protocolo de desinfección*

**Ho:** Ninguno de los tratamientos aplicados en los protocolos de desinfección tendrán diferencia estadística en el efecto antiséptico de los explantes.

**Ha:** Al menos uno de los tratamientos de protocolos de desinfección tendrá diferencia significativa en la asepsia de nudos de babaco.

##### *3.2.6.1.2. Fase de establecimiento en Medios de cultivo*

**Ho:** Ninguno de los tratamientos aplicados en los medios de cultivo tendrán diferencia estadística en el desarrollo vegetativo de los explantes.

**Ha:** Al menos uno de los tratamientos aplicados en los medios de cultivo tendrá diferencia significativa en el desarrollo vegetativo de nudos de babaco.

## 4. Resultados

### 4.1 Determinación de los protocolos de desinfección con gel de *A. vera* y convencional para la iniciación *in vitro* de babaco

#### 4.1.1 Pruebas preliminares para protocolos de desinfección

Se realizaron estas pruebas con la finalidad de analizar los compuestos que formaron parte de otras investigaciones comprobando su efectividad para implementarlos en los tratamientos de los protocolos de desinfección de esta investigación.

##### 4.1.1.1. Primera prueba para protocolos de desinfección

Se pudo observar que después de la desinfección los tallos de los explantes presentaron moteados a causa de la concentración de NaClO, al finalizar la desinfección la mayor parte de los explantes terminaban oxidados. En cuanto a los explantes que se desinfectaron con gel de Aloe, estos lograron mantener su coloración verde durante y después del protocolo de desinfección.

**Tabla 7. Primer prototipo para protocolos de desinfección**

Protocolos de Desinfección
Solución jabonosa + 200mg ácido ascórbico y 150mg 6BAP (4hrs) + 1.5% NaClO + 10% y 20% de Aloe + 120mg de oxitetraciclina y 40mg/ml gentamicina (2hr)

Reyes, 2022

##### 4.1.1.2. Segunda prueba para protocolos de desinfección

En esta prueba se suprimió la gentamicina como parte del protocolo de desinfección ya que en la anterior prueba no hubo mucha presencia de contaminación bacteriana, en cuanto al gel de Aloe se aumentó la concentración para observar si presentó un mayor control tanto como desinfectante o bioestimulante; se observó que varios explantes presentaban oxidación luego de la desinfección con el NaClO.

**Tabla 8. Segundo prototipo para protocolos de desinfección**

<b>Protocolos de Desinfección</b>
Solución jabonosa + 200mg ácido ascórbico y 150mg 6BAP (4hrs) + 1.5% NaClO + 10% y 20% de Aloe + 60mg/ml de oxitetraciclina (2hr)
Reyes, 2022

**4.1.1.3. Tercera prueba para protocolos de desinfección**

Como parte del protocolo de desinfección se implementó el desinfectante Dorbaq y el alcohol al 70% además se disminuyó la concentración del NaClO. En esta prueba se pudo observar que durante la desinfección se logró conservar la consistencia y vigorosidad de los explantes a causa de la reducción de la concentración del cloro.

**Tabla 9. Tercer prototipo para protocolos de desinfección**

<b>Protocolos de Desinfección</b>
3ml/L Solución jabonosa + 10% y 20% de Aloe + Dorbaq 6ml/L + Alcohol al 70% (1min) + 1.25% NaClO (5min)
Reyes, 2022

**4.1.1.4. Cuarta prueba para protocolos de desinfección**

En esta prueba se consideró disminuir el tiempo y los productos usados en el protocolo de desinfección para mantener con mayor vigorosidad a los explantes, hubo presencia de explantes oxidados al terminar la desinfección.

**Tabla 10. Cuarto prototipo para protocolos de desinfección**

<b>Protocolos de Desinfección</b>
3ml/L Solución jabonosa + Alcohol al 70% (1min) + 1.25% NaClO (5min)
Reyes, 2022

**4.1.1.5. Quinta prueba para protocolos de desinfección**

Se implemento el yodo como parte de la solución jabonosa para la desinfección de los explantes además se disminuyó el tiempo de exposición de los explantes de babaco ante el NaClO; se observó que los explantes mantuvieron mayor

vigoresidad al terminar la desinfección definiendo este protocolo de desinfección como el más eficiente para implementarlo en los tratamientos de esta investigación.

**Tabla 11. Quinto prototipo para protocolos de desinfección**

Protocolos de Desinfección
3ml/L Jabón líquido-povidin + Alcohol al 70% (1min) + 1.25% NaClO (3min)
Reyes, 2022

Los resultados obtenidos en esta primera parte del trabajo experimental comprenden a la fase de protocolos de desinfección en donde se evaluaron las variables dependientes: Brotación, tamaño de explantes, contaminación por número de muestras y mortalidad de explantes, estas fueron evaluadas por el periodo de 7, 14, 21 y 28 días luego de la siembra *in vitro* bajo condiciones controladas.

En la figura 1 se puede observar los porcentajes que se obtuvieron de cada variable evaluada según los tratamientos de desinfección que se aplicaron a los nudos de babaco siendo el T2 el más resaltante.

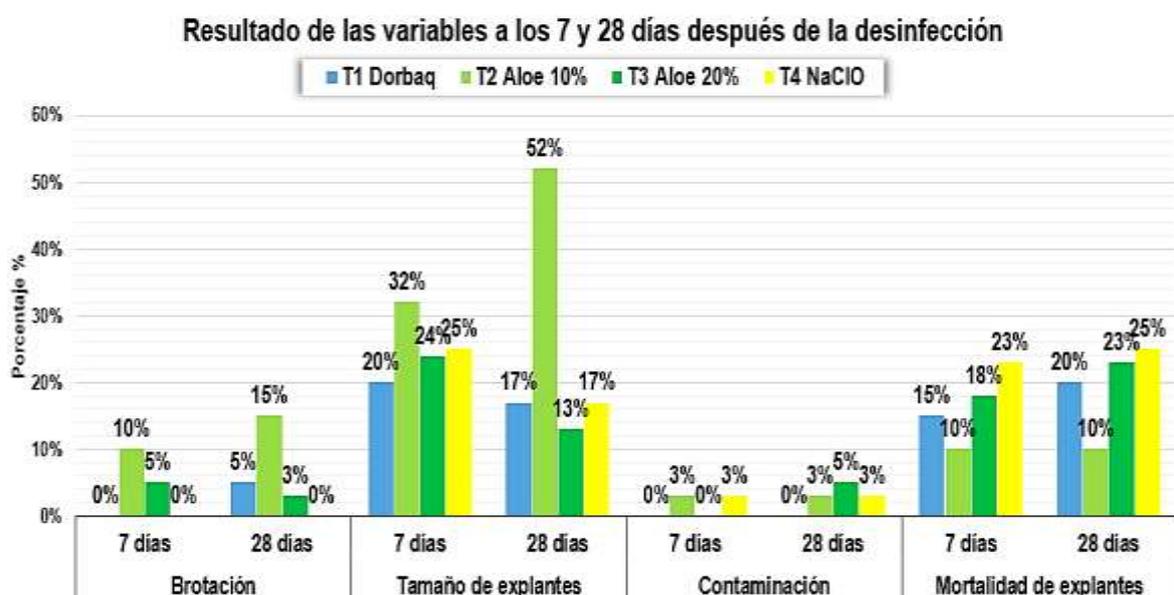


Figura 1. Resultados a los 7 y 28 días de protocolo de desinfección  
Reyes, 2022

#### 4.1.2 Resultados obtenidos a los 7 días de la desinfección

En el transcurso de la primera semana no se logró observar muchos brotes en los explantes, a pesar de ello algunos mantuvieron su coloración verde esto se evidenció con los T2 y T3, tomando en consideración que los T2 y T4 presentaron moderados porcentajes de contaminación, los tratamientos con Dorbaq y 10% de Aloe no presentaron contaminación, pero si tuvieron muestras con una mortalidad considerable. Según las pruebas establecidas se obtuvieron valores mayores al 1% de nivel de significancia, aceptando la Ho en donde ninguno de los tratamientos presentó diferencia estadística significativa entre las variables evaluadas durante la primera semana, siendo la variable brotación quien presentó una asociación moderada con los tratamientos evaluados.

**Tabla 12. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 7 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0347	*Ho	0.33	0.5508	*Ho	0.16	0.1264	*Ho	0.27

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula

Reyes, 2022

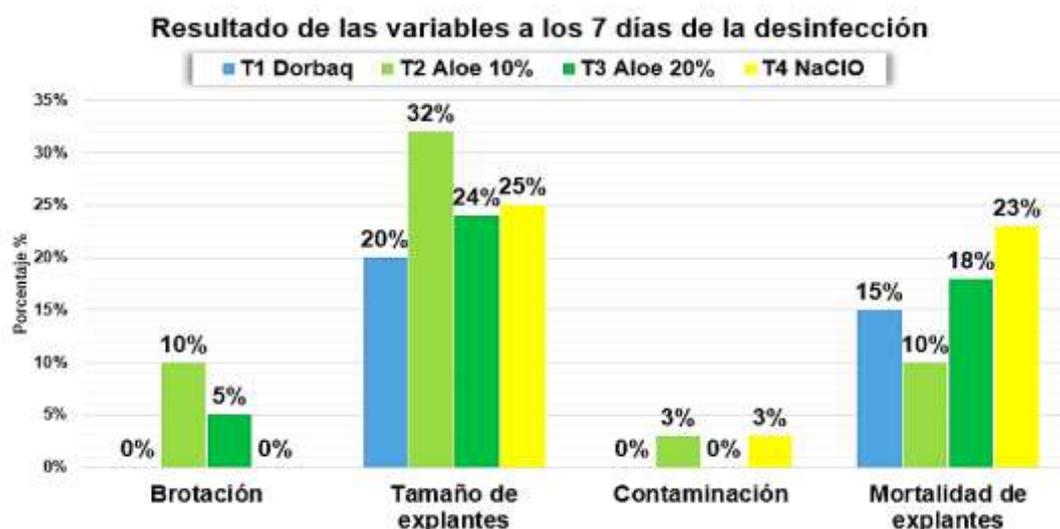


Figura 2. Resultados de protocolos de desinfección a los 7 días

Reyes, 2022

Al aplicar la prueba de normalidad de Shapiro Wilks, se comprobó que los datos ingresados de la variable tamaño difieren en su distribución normal al presentar un valor de  $p=0.0001 < 0.01$ , por lo tanto, se aplicó una prueba no paramétrica obteniendo un valor de  $p=0.3816$ , aceptando la hipótesis nula, ya que ninguno de los tratamientos tuvo diferencia estadística en el tamaño de explantes durante la primera semana siendo el T2 quien presentó mayor tamaño de explantes con 0.39 cm de altura.

**Tabla 13. Prueba estadística en variable numérica a los 7 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0001	0.3816	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### 4.1.3 Resultados obtenidos a los 14 días de la desinfección

De acuerdo a los datos registrados se observó que a los 14 días hubo mayor presencia de brotes en todos los tratamientos menos en T4 a causa de la oxidación presentando un total de 10 muestras con mortalidad, también se presencié contaminación en todos los tratamientos a diferencia de aquellos que se desinfectaron con Dorbaq durante 30 min (T1).

Según indica la tabla 14, en las variables brotación y contaminación se aceptó la Ho en donde ninguno de los protocolos aplicados influyó de forma significativa estadísticamente en la brotación ni en la contaminación de las muestras; a diferencia de la variable mortalidad quien obtuvo un valor de  $p=0.0089 < 0.01$  aceptando Ha, siendo el T2 quien presentó 10% de mortalidad de explantes con 6 muestras que no presentaron ninguna contaminación u oxidación, mientras que los demás tratamientos presentaron porcentajes mayores al 20% con presencia de

oxidación a los 14 días después de la siembra, también se analizó el valor del coeficiente de Cramer para cada variable en donde brotación y mortalidad tuvieron una moderada relación con los tratamientos siendo el T2 quien presentó mayor cantidad de brotes con 6 muestras.

**Tabla 14. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 14 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0244	*Ho	0.34	0.7816	*Ho	0.12	0.0077	*Ha	0.39

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula, \*Ha: Se aceptó la hipótesis alternativa  
Reyes, 2022

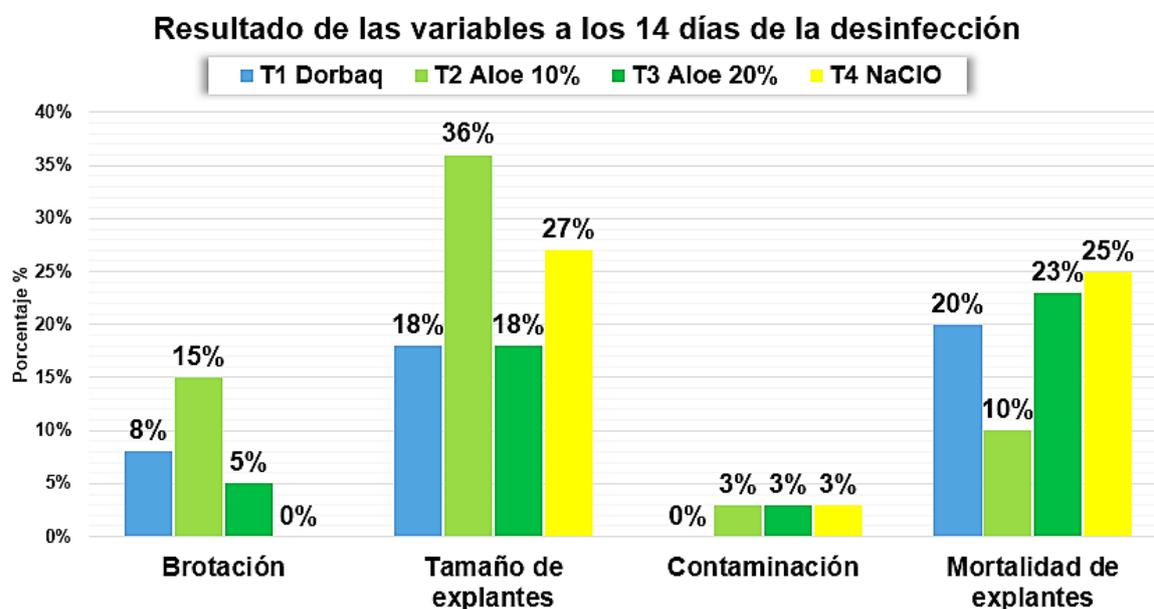


Figura 3. Resultados de protocolos de desinfección a los 14 días

Reyes, 2022

A partir de esta semana comenzó a notarse un mayor tamaño en los explantes que se trataron con 10% de gel de Aloe a diferencia de los demás tratamientos que mantuvieron su tamaño de explante, esta variable no tuvo diferencia significativa entre los tratamientos de protocolos de desinfección. Durante las observaciones algunos explantes oxidados se precipitaron gradualmente en el medio de cultivo.

**Tabla 15. Prueba estadística en variable numérica a los 14 días**

<b>Pruebas estadísticas según la variable</b>		
<b>Tamaño de explantes (cm)</b>		
<b>Shapiro Wilks</b>	<b>Kruskall-Wallis</b>	<b>Hipótesis Estadística</b>
0.0001	0.1444	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### **4.1.4 Resultados obtenidos a los 21 días de la desinfección**

La mayor parte de los brotes que se formaron en los explantes de babaco eran callos, en T2 se mantuvo la presencia de brotes con hojas y tallos a diferencia del T4 quien no ha presentado ningún brote después de la siembra; hubo contaminación en todos los tratamientos exceptuando el T1, en cuanto a la mortalidad hubo mayores muestras oxidadas en los T1, T3 y T4.

De acuerdo a los datos estadísticos, se aceptó que todos los tratamientos de los protocolos de desinfección no tuvieron una diferencia significativa entre las variables categóricas observadas en los explantes de babaco al completar los 21 días. Se presentó independencia de los tratamientos aplicados con la variable contaminación, las variables brotación y mortalidad tuvieron una moderada dependencia o asociación con los tratamientos

**Tabla 16. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 21 días**

<b>Pruebas estadísticas según las variables</b>								
<b>Brotación</b>			<b>Contaminación</b>			<b>Mortalidad</b>		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0175	*Ho	0.36	0.7816	*Ho	0.12	0.0175	*Ho	0.36

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

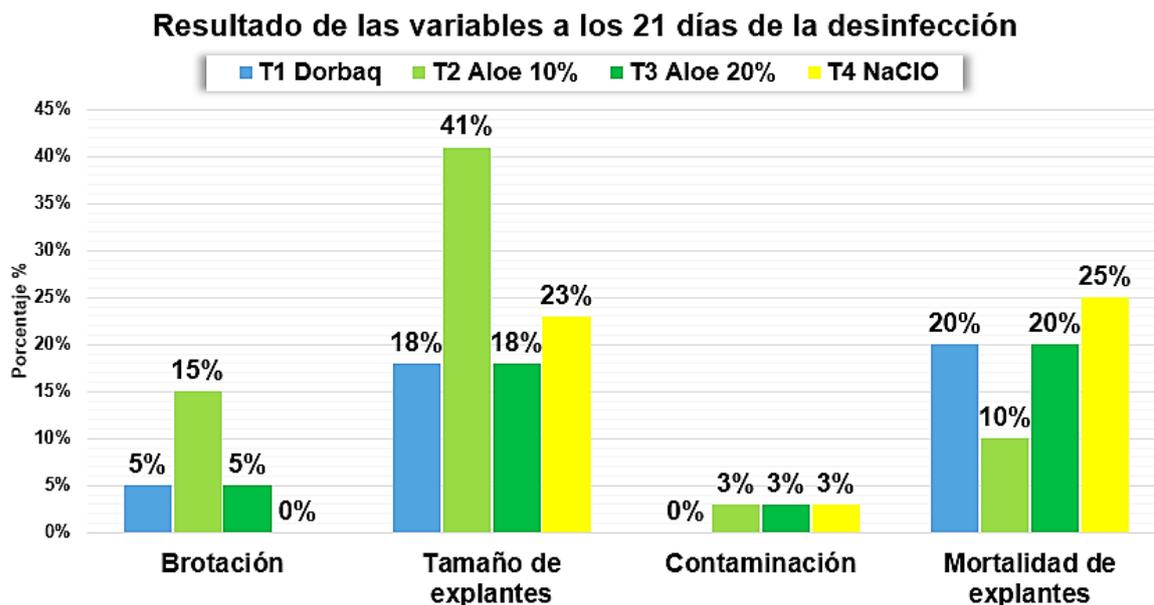


Figura 4. Resultados de protocolos de desinfección a los 21 días  
Reyes, 2022

En cuanto a la variable tamaño de explantes, según lo observado en las muestras del T4 la oxidación incidió mucho en el crecimiento de los explantes alcanzando solo 0.25 cm, en el T2 hubo un mejor desarrollo debido a que se usaron yemas apicales las cuales lograron mantener nuevos brotes con un tamaño de 0.45 cm; cabe recalcar que en todos los tratamientos se usaron yemas apicales y nodales. De acuerdo a los datos evaluados, ninguno de los tratamientos tuvo diferencia estadística en el tamaño de explantes de babaco con un valor  $p=0.2317$  aceptando la  $H_0$ .

**Tabla 17. Prueba estadística en variable numérica a los 21 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0001	0.2317	* $H_0$

\* $H_0$ : Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### 4.1.5 Resultados obtenidos a los 28 días de la desinfección

En esta última observación algunos brotes se mantuvieron, pero otros redujeron su crecimiento a causa de la oxidación presentando 1 muestra con brotes en el T3 y 0 brotes en el T4, en cuanto a la contaminación no hubo muchas muestras contaminadas a excepción del T3 quien presentó un 5% de explantes contaminados; el T2 es quien tuvo la mayor presencia de brotes disminuyendo la presencia de contaminación hasta el 3% y solo presentó 10% de mortalidad.

De acuerdo a las pruebas estadísticas se aceptó  $H_0$  en la variable contaminación, pero se rechazó en las variables brotación y mortalidad con valores menores al 1% de probabilidad de error, demostrando que el T2 tuvo mayor presencia de brotes con un 15%, en cuanto a la variable mortalidad de igual forma el T2 presentó menor presencia de explantes oxidados, siendo el T4 quien presentó mayores muestras con mortalidad al presentar un 25% a los 28 días luego de la siembra, se presentó una moderada asociación de los tratamientos con las variables mortalidad de explantes y brotación, en cuanto a la contaminación hubo una moderada independencia debido a que los tratamientos lograron mantener niveles adecuados de asepsia.

**Tabla 18. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 28 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0077	*Ha	0.39	0.5276	*Ha	0.17	0.0077	*Ha	0.39

\* $H_0$ : Se aceptó la hipótesis nula, \*Ha: Se aceptó la hipótesis alternativa  
Reyes, 2022

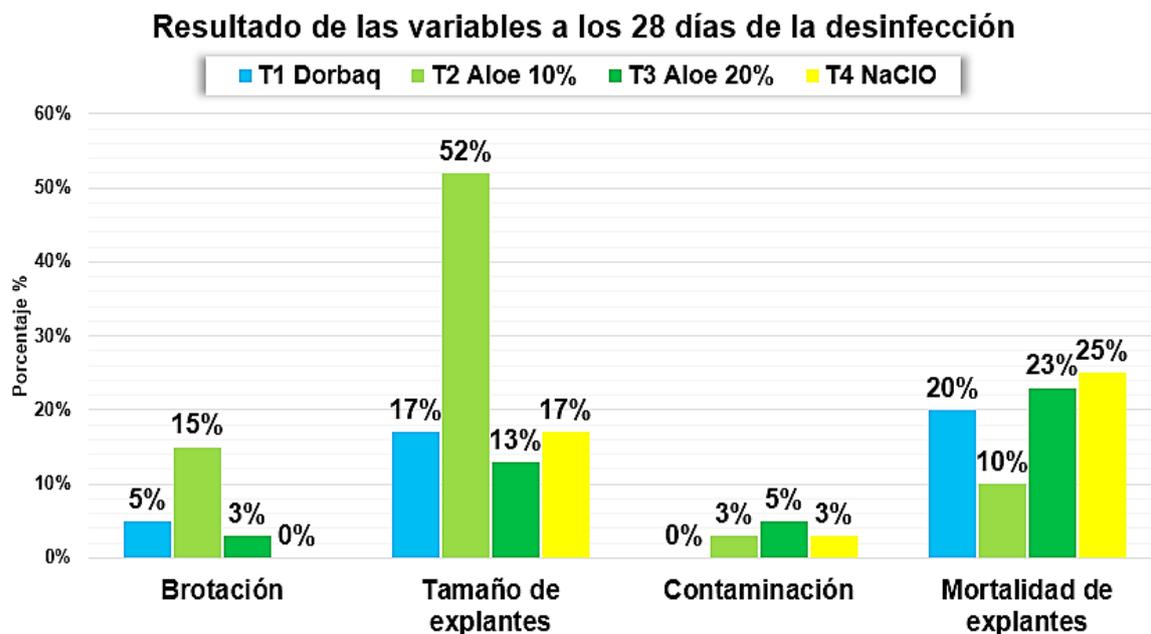


Figura 5. Resultados de protocolos de desinfección a los 28 días  
Reyes, 2022

Al comprobar que los datos no tienen una distribución normal en la variable tamaño de explantes, se procedió aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis dando un valor de  $p=0.0173 > 0.01$  analizando que ninguno de los tratamientos influyó de forma estadísticamente significativa en el tamaño de explantes siendo el T2 quien alcanzó el mejor tamaño con una mediana de 0.6 cm a los 28 días luego de la siembra.

**Tabla 19. Pruebas estadísticas en variable numérica a los 28 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0001	0.0173	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

## 4.2 Evaluación de los medios de cultivo con gel de *A. vera* y convencional para la fase de iniciación *in vitro* de babaco

### 4.2.1 Pruebas preliminares para medios de cultivo

Estas pruebas se realizaron con el objetivo de estudiar los compuestos que formaron parte de otros trabajos e investigaciones relacionándolas al trabajo planteado, comprobando su efectividad para implementarlos como parte de los tratamientos de los medios de cultivos a realizar.

#### 4.2.1.1. Primera prueba para medios de cultivo

En los medios de cultivos tratados con gel de Aloe se observó una mayor gelificación, además que se añadió un antibiótico a fin de disminuir la contaminación bacteriana; a pesar de todo lo aplicado todas las muestras se oxidaron y luego se contaminaron por hongos.

**Tabla 20. Primer prototipo para medios de cultivo**

Medios de cultivo
MS 4.43 gr/L + 1mg ANA + 3mg 6BAP + 10% y 20% de Aloe + 5ml tetraciclina
Reyes, 2022

#### 4.2.1.2. Segunda prueba para medios de cultivo

Se redujo al 50% el medio MS y se le añadió el ácido ascórbico con la finalidad de disminuir la oxidación de los explantes además que se le añadió  $\text{CuSO}_4$  para disminuir la contaminación, se aumentó la concentración de gel de Aloe para observar si hubo efectos bioestimulante; como resultado los explantes no lograron desarrollarse.

**Tabla 21. Segundo prototipo para medios de cultivo**

Medios de cultivo
2.215gr/l MS + 1mg ANA + 3mg 6BAP + Aloe 15% y 25% + 0.1 mg $\text{CuSO}_4$ + 150mg/L ácido ascórbico
Reyes, 2022

#### **4.2.1.3. Tercera prueba para medios de cultivo**

Se añadió el aceite de canela debido a sus propiedades antifúngicas y se disminuyó la concentración del antibiótico, a pesar de los productos usados se presentó contaminación en las muestras.

**Tabla 22. Tercer prototipo para medios de cultivo**

<b>Medios de cultivo</b>
2.215gr/L MS + 1mg ANA + 3mg 6BAP + 15% y 25% gel de Aloe + 0.1 mg CuSO <sub>4</sub> + 150mg/L ácido ascórbico + 0.5 gr/L aceite de canela (tween 20) + oxitetraciclina 0.25 mg/ml
Reyes, 2022

#### **4.2.1.4. Cuarta prueba para medios de cultivo**

Se agregó el hidróxido de cobre como parte del medio de cultivo a fin de mantener un mayor control de los agentes contaminantes. Se logró observar que en el medio de cultivo el hidróxido de cobre no se incorporó en su totalidad a los demás componentes, a pesar de ello no se presencié contaminación en los medios, pero si hubo altos niveles de oxidación en los explantes.

**Tabla 23. Cuarto prototipo para medios de cultivo**

<b>Medios de cultivo</b>
2.215gr/L MS + 1mg ANA + 3mg 6BAP + 15 %y 25% de Aloe + 0.1 mg CuSO <sub>4</sub> + 150mg/L ácido ascórbico + 0.2gr/L hidróxido de cobre
Reyes, 2022

#### **4.2.1.5. Quinta prueba para medios de cultivo**

Se reemplazó el medio MS por el medio WPM ya que éste es específicamente para plantas con características específicas del babaco, se sustituyó la auxina ANA por AIA debido a que la primera auxina mencionada causa mayor oxidación en los explantes, de igual forma se añadió el carbón activado para disminuir la oxidación.

Se observó que los explantes mantuvieron mayor vigorosidad y no hubo presencia de contaminación incluso se presenciaron hojas y callos en todos los

explantes; a partir de esta prueba se pudo establecer la mayor parte de los componentes que conformarían los tratamientos de los medios de cultivo.

**Tabla 24. Quinto prototipo para medios de cultivo**

Medios de cultivo
2.41gr/L WPM + 2mg/L 6BAP + 0.3mg/L AIA + 4mg/L GA <sub>3</sub> + Carbón activado
Reyes, 2022

En esta fase de establecimiento en medios de cultivo se usaron cuatro tratamientos en donde se evaluó cada uno según las composiciones del medio; las variables dependientes evaluadas fueron: Brotación, tamaño de explantes, contaminación por número de muestras y mortalidad de explantes; el tiempo de evaluación fue de 7, 14 y 21 días luego de la siembra *in vitro* bajo condiciones controladas.

En la figura 6 se puede observar los tratamientos con los porcentajes de cada variable evaluada en los tratamientos de medios de cultivos, siendo el T1 y T4 quienes presentaron resultados más favorables según se puede observar entre los demás tratamientos evaluados.

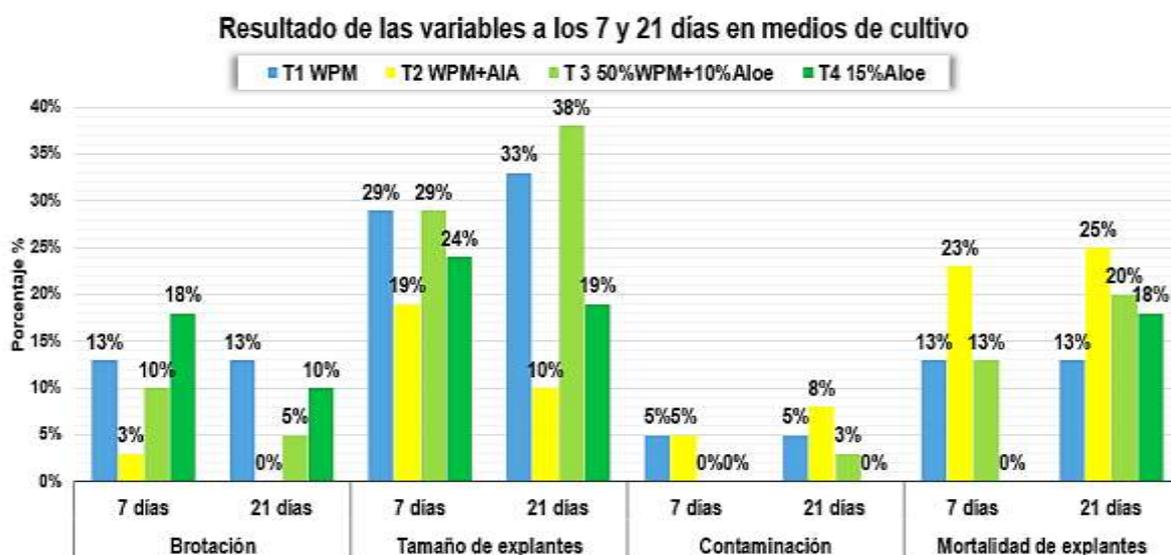


Figura 6. Resultados a los 7 y 21 días de medios de cultivo  
Reyes, 2022

#### 4.2.2 Resultados obtenidos a los 7 días en medios de cultivo

Se observó que la mayor parte de los brotes son callos, pero algunos explantes luego de presentar oxidación generaron nuevos brotes, hubo muestras contaminadas por bacterias en su mayoría en los T1 y T2 con 2 muestras cada uno, en lo que respecta a la mortalidad todos los tratamientos presentaron oxidación excepto el T4 con 15% de Aloe quien no presentó ninguna muestra oxidada o contaminada.

Se determinó por medio de la prueba estadística de Chi cuadrado de Pearson el nivel de significancia en donde las variables brotación y contaminación se aceptó la hipótesis nula debido a que los valores de p fueron mayores a los establecidos, en cuanto a la variable mortalidad de explantes hubo diferencia significativa con moderada asociación con los tratamientos, demostrando que el T4 tuvo menor mortalidad con 0% luego de la siembra, pero el T2 fue quien mayor mortalidad presentó con 23% a los 7 días después de la siembra. En cuanto a las variables brotación y contaminación presentaron una dependencia baja con los tratamientos aplicados.

**Tabla 25. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 7 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0533	*Ho	0.31	0.2173	*Ho	0.24	0.0010	*Ha	0.45

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula, \*Ha: Se aceptó la hipótesis alternativa  
Reyes, 2022

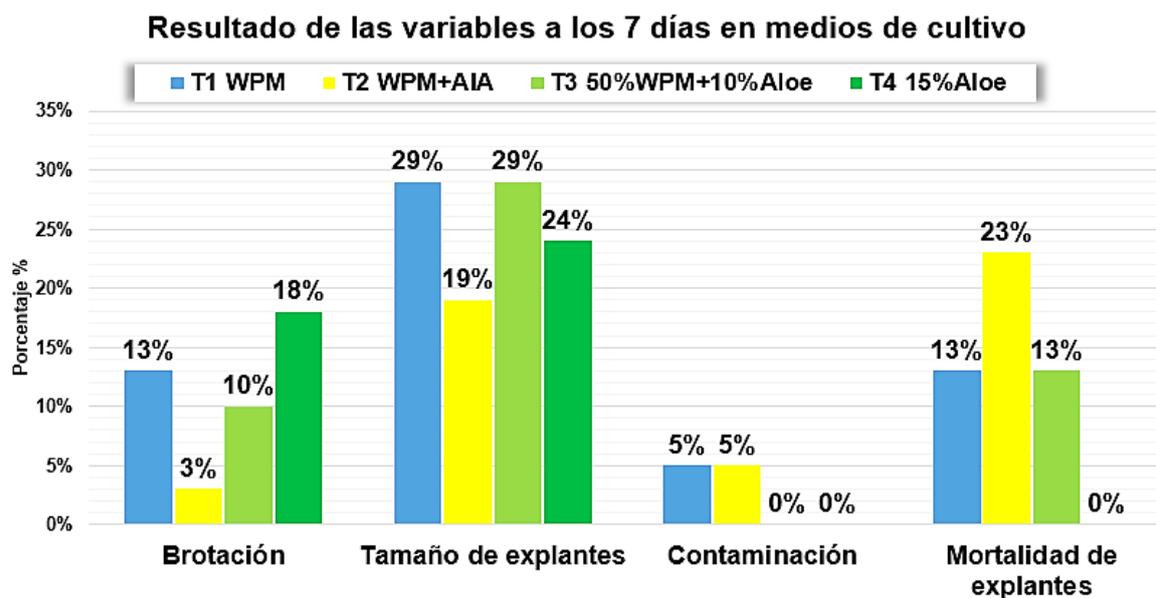


Figura 7. Resultados de medios de cultivo a los 7 días  
Reyes, 2022

Acorde a las observaciones realizadas, hubo mejor desarrollo en los explantes tomados del área apical de la plántula de babaco; se evaluaron los datos y no presentaron una distribución normal, para ello se realizó la prueba no paramétrica obteniendo un valor de  $p=0.5443 > 0.01$  aceptando la hipótesis nula al no presentar diferencia estadística entre los tratamientos, en donde los T1 y T3 presentaron una mediana de 0.30 cm siendo los tratamientos con mayor tamaño a diferencia del T2 con 0.20 cm a los 7 días después de la siembra.

**Tabla 26. Prueba estadística en variable numérica a los 7 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0030	0.5443	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### 4.2.3 Resultados obtenidos a los 14 días en medios de cultivo

De acuerdo a las observaciones realizadas en este periodo los explantes del T2 se oxidaron tomando una coloración blanca, en el T3 aparecieron hojas nuevas y

se mantuvo la coloración verde de los explantes esto se presencié más en las muestras con yemas apicales, en los T1 y T4 se mantuvo la brotación con 5 muestras resaltando la presencia de hojas y callos.

Al ingresar los datos al software estadístico se obtuvieron los valores para comparar el nivel de significancia, por lo tanto, se aceptó la hipótesis nula para las tres variables categóricas, en donde ninguno de los tratamientos presentó diferencia estadísticamente significativa con una baja asociación entre las variables y los tratamientos, demostrando que no hubo una relación de dependencia durante los 14 días luego de la siembra.

**Tabla 27. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 14 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0154	*Ho	0.36	0.2701	*Ho	0.22	0.0313	*Ho	0.33

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

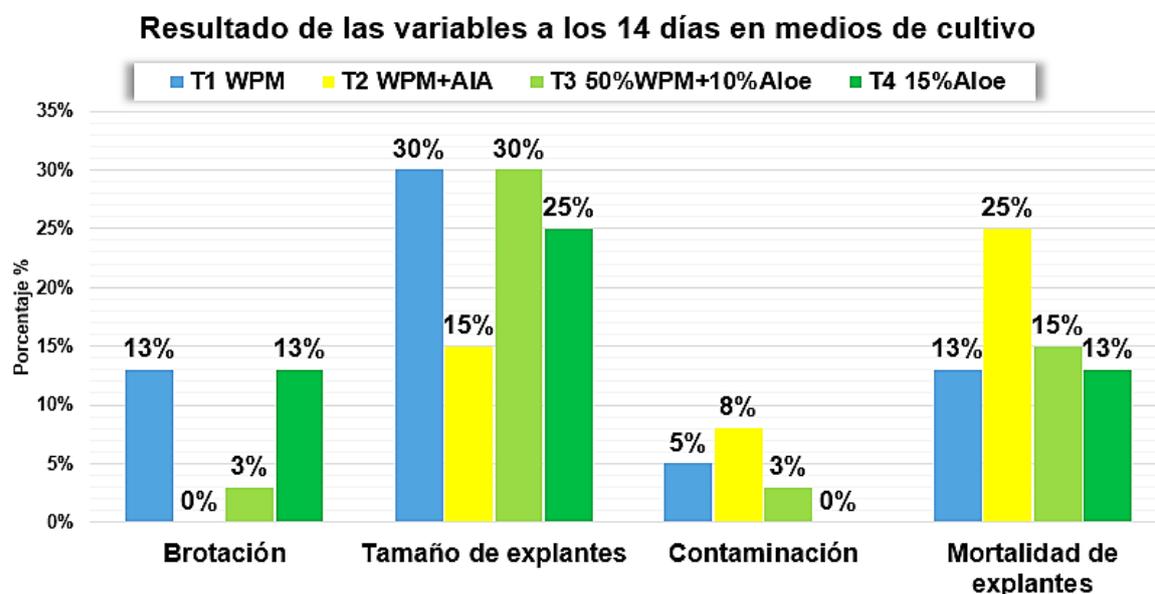


Figura 8. Resultados de medios de cultivo a los 14 días

Reyes, 2022

Durante las observaciones y toma de datos muchos explantes aumentaron su tamaño eso se vio en T1 con el 30% al presentar tallos más largos lo mismo ocurrió con los explantes en T3 debido a la presencia de yemas apicales activas.

Al presentar una distribución no normal, se aplicó la prueba de Kruskal y según los resultados estadísticos, se aceptó la hipótesis nula debido a que el  $p=0.0402 > 0.01$  por lo tanto los tratamientos planteados no influyeron de forma estadísticamente significativa en el tamaño de explantes luego de 14 días después de la siembra.

**Tabla 28. Prueba estadística en variable numérica a los 14 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0001	0.0402	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### 4.2.4 Resultados obtenidos a los 21 días en medios de cultivo

Algunos tratamientos mantuvieron la cantidad de brotes que tuvieron desde el inicio como es el caso del T1, los demás fueron disminuyendo de forma gradual y total. La mayoría de brotes fueron hojas con callos, en el T3 se observaron explantes que desarrollaron nuevos tallos con hojas cercanas a las yemas apicales, siendo el T1 quien presentó una mayor brotación con 13% seguido del T4 con 10%. Algunos brotes que desarrollaron callos se oxidaron, pero a pesar de ello no presentaron contaminación en esta última observación.

Se determinó por medio de pruebas estadísticas los niveles de significancia para cada variable cualitativa dando como respuesta valores mayores a 0.01 demostrando de esta forma que no hay significancia estadística presentando

moderada relación de dependencia entre las variables evaluadas con los tratamientos planteados.

**Tabla 29. Pruebas estadísticas en variables categóricas a los 21 días**

Pruebas estadísticas según las variables								
Brotación			Contaminación			Mortalidad		
Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer	Chi cuadrado	Hipótesis Estadística	Coef. Cramer
0.0602	*Ho	0.30	0.2701	*Ho	0.22	0.0741	*Ho	0.29

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula

Reyes, 2022

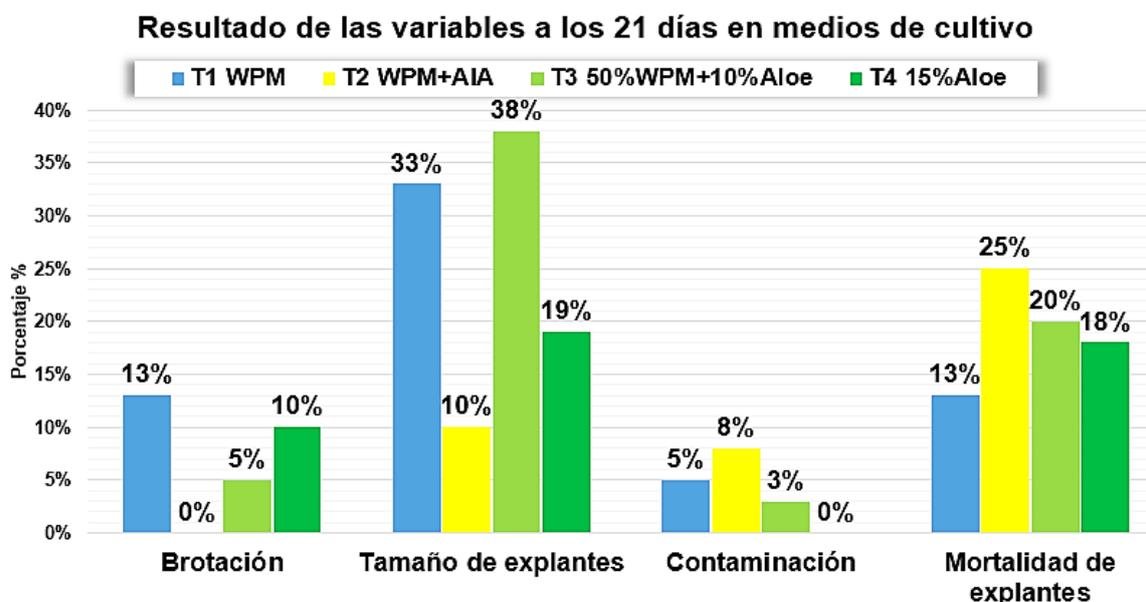


Figura 9. Resultados de medios de cultivo a los 21 días

Reyes, 2022

Algunos explantes observados a los 21 días luego de la siembra presentaron oxidación y se precipitaron en el medio de cultivo, el T3 es el que mayor crecimiento ha obtenido con una mediana de 0.4 cm seguido por el T1 con 0.35 cm a pesar de presentar niveles moderados de contaminación. Debido a que el valor del nivel de significancia fue mayor a 0.01, se aceptó la hipótesis nula demostrando que los tratamientos no son estadísticamente significativos en esta variable evaluada, previamente comprobando que no hay una distribución normal en la variable numérica tamaño de explantes.

**Tabla 30. Prueba estadística en variable numérica a los 21 días**

Pruebas estadísticas según la variable		
Tamaño de explantes (cm)		
Shapiro Wilks	Kruskall-Wallis	Hipótesis Estadística
0.0001	0.0221	*Ho

\*Ho: Se aceptó la hipótesis nula  
Reyes, 2022

#### 4.3 Valoración del gel de *Aloe vera* como suplemento antiséptico y biorregulador en los nudos de babaco

En este objetivo se va a considerar el efecto que tuvo el gel de *A. vera* en las variables brotación, tamaño de explantes, contaminación por número muestras y mortalidad de explantes. Al observar el desarrollo de los explantes con gel de *A. vera* con varias dosis se lograron resultados con altos e iguales porcentajes tanto en los protocolos de desinfección como en los medios de cultivos.

##### 4.3.1 Gel de *A. vera* como suplemento antiséptico en protocolos de desinfección

#### Valoración del gel de *A. vera* en protocolos de desinfección

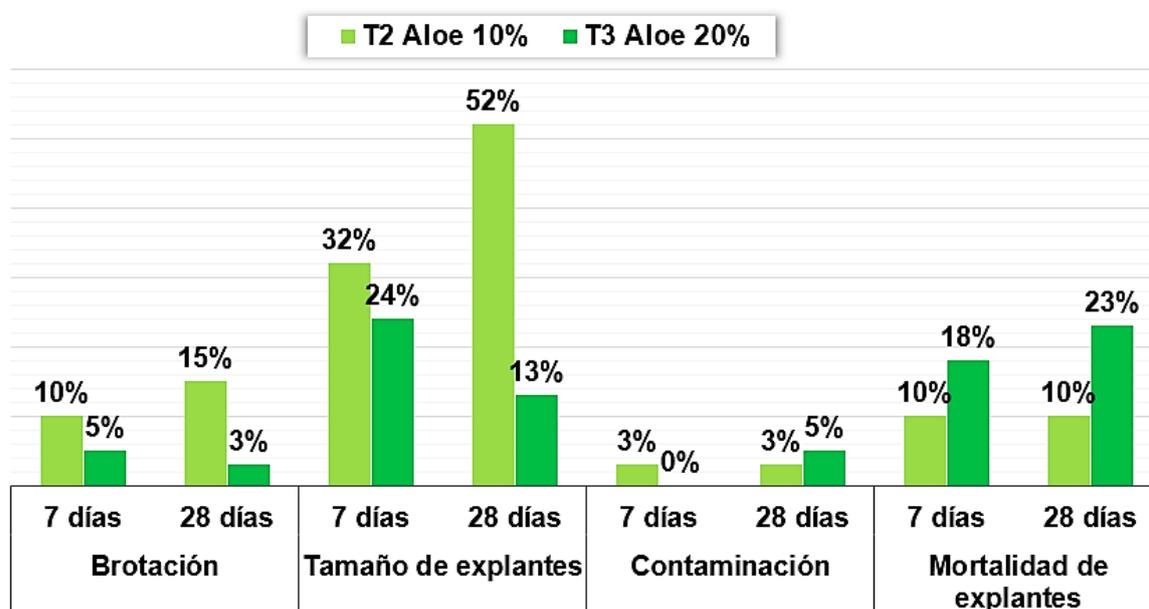


Figura 10. Valoración del gel de *A. vera* en protocolo de desinfección

Reyes, 2022

Según indica la figura 10, al usar el gel de la sábila como parte de la desinfección de los nudos de babaco, éstos tuvieron un buen desarrollo incluso se observó que su color y consistencia vegetativa se mantuvo luego de exponerse por varios minutos ante el alcohol e hipoclorito de sodio, compuestos que causan alteraciones en la epidermis de las plantas, también se evidenció muestras con niveles moderados de mortalidad y contaminación los cuales se lograron controlar luego de establecerlos *in vitro*.

Al aplicar 10% del gel de *A. vera* se logró controlar la contaminación al iniciar con un 3% y terminar con el mismo valor del 3%, en cuanto a la mortalidad hubieron solo 4 muestras que se oxidaron, pero se logró alcanzar una mayor brotación con 6 muestras que presentaron buen desarrollo vegetativo además el tamaño de los explantes fueron los mejores con una mediana de 0.6 cm, analizando que a pesar de usar una concentración del 10% del gel de *A. vera* con el mismo tiempo de inmersión (30min) los resultados fueron más deseables que con una dosis aumentada al 20% p/v *A. vera*.

En el T3 con 20% p/v de *A. vera* se inició con un buen porcentaje de crecimiento y tamaño de explantes tomando en cuenta la presencia de la mortalidad, pero a la cuarta semana aumentó la contaminación hasta un 5% afectando el desarrollo de los explantes dejando solo 1 muestra viable a los 28 días luego de la siembra, esto puede ser a causa de bacterias las cuales son endógenas en las plantas de babaco, bacterias a las cuales no se logró controlar en su totalidad durante los protocolos de desinfección establecidos para esta fase.

#### **4.3.2 Gel de *A. vera* como biorregulador en medios de cultivo**

En la fase de establecimiento en medios de cultivo, al aplicar el gel de sábila se observaron altos porcentajes de crecimiento como muestra la figura 11, una de las

causas pudo ser que al aplicar otros reguladores de crecimiento como el 6BAP y el GA<sub>3</sub> actuaron en conjunto para mantener un buen tamaño y mayor brotación, siendo esta una buena combinación ya que otros reguladores sintéticos de tipo auxínico causan oxidación, por ello se reemplazó el uso de AIA (ácido indol acético) por el gel de *A. vera* quien también posee propiedades auxínicas.

En la aplicación del 10% p/v de *A. vera*, hubo 5 muestras con mortalidad a los 7 días después de la siembra, ya en los 21 días se presencié contaminación al 3% incluso la mortalidad aumento un poco. También se obtuvo mayor presencia de brotes como callos y hojas además de explantes en buen estado. A los 21 días disminuyó la brotación, pero aun los que quedaron aumentaron de tamaño, demostrando de esta forma que el gel de *A. vera* al agregarlo en el medio de cultivo produjo efectos de elongación promoviendo el crecimiento en hojas jóvenes de los nudos de babaco, todo esto es debido a la presencia del aminoácido ácido glutámico quien va a mejorar la absorción de nutrientes del medio WPM.

Al emplear el 15% de *A. vera* se logró disminuir en la primera semana los niveles de mortalidad y contaminación al 0%, incluso se obtuvo un buen tamaño con una mediana de 0.2 cm y con una brotación de 18%, al transcurrir los 21 días aumentó la presencia de mortalidad al 18% trayendo como consecuencia la resta de nuevos brotes vegetativos y su tamaño, esto puede ser porque no se le agregaron las sales del WPM pero a pesar de ello no disminuyó en su totalidad el tamaño y los brotes ya desarrollados en contraste con los demás tratamientos que si poseían este medio nutritivo.

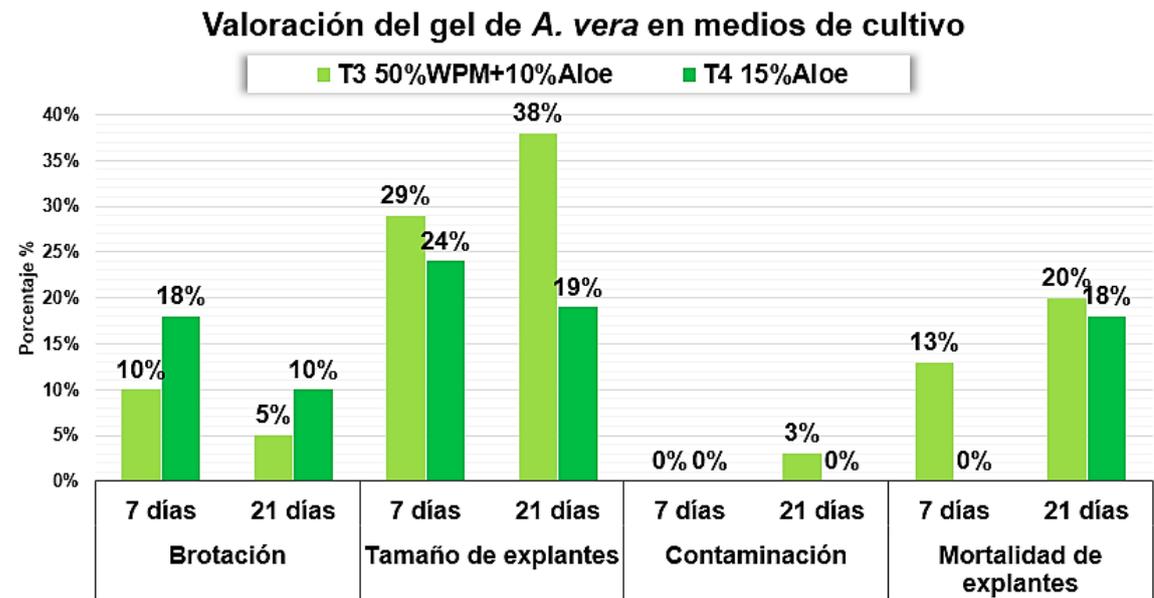


Figura 11. Valoración del gel de *A. vera* en medios de cultivo  
Reyes, 2022

## 5. Discusión

De acuerdo a los resultados expuestos de la presente investigación sobre el efecto bioestimulante y antiséptico del gel de *A. vera* aplicados en nudos de babaco, se logró obtener resultados positivos acorde a la hipótesis anteriormente planteadas, en donde la primera hipótesis consistió en las dosificaciones propicias en los protocolos de desinfección para disminuir la presencia de fitopatógenos en el cultivo *in vitro* de nudos de babaco, demostrando que en la fase de protocolos de desinfección el gel de *A. vera* disminuyó la presencia de agentes contaminantes además de incrementar el tamaño de los explantes y brotación al sumergirlos por el tiempo de 30 minutos con la cantidad del 10% p/v, lo cual va de acuerdo a lo aplicado en nudos de violeta africana, ya que al sumergirlas durante 10 y 20 min en 10% y 20% de gel de sábila, se obtuvo de estos tratamientos los mejores resultados incluso se mantuvo la vigorosidad de las plantas con tallo y hojas firmes además de mantener un color verde intenso (Rodríguez, 2015).

Al usar Dorbaq (30 min) e hipoclorito de sodio al 1.25% (3 min) como parte del T1 se obtuvieron los niveles más bajos de contaminación, pero como efecto secundario se dio la oxidación y muerte de la mayoría de los explantes tal como indicaron Jadán *et al.* (2016) ya que al exponer a los explantes bajo la solución de 1.5% de NaClO por 10min se logró disminuir un 57% la contaminación microbiana pero como consecuencia obtuvieron plántulas necrosadas, lo que coincide con Lapid et al. (2020) quienes aplicaron el mismo protocolo de desinfección de los anteriores autores, obteniendo muestras con altos índices de mortalidad a causa de los tiempos de inmersión durante la desinfección dando como resultados explantes necrosados con un color marrón oscuro además de presentar contaminación por bacterias en la mayoría de los explantes.

En lo que respecta a los explantes de los tratamientos de desinfección, se sembraron en medios de cultivo ya preparados, los cuales contenían reguladores de crecimiento como 6BAP, GA<sub>3</sub> y AIA, este último según indicó Jordan (2015) al agregar el regulador de crecimiento AIA como parte del medio de cultivo para los explantes de *Vasconcellea ch.*, no presentaron una respuesta positiva debido a la oxidación vegetativa con coloración parda, color muy similar a la que presentaron los nudos de babaco durante las observaciones realizadas en el transcurso del trabajo experimental, por otra parte Bazantes (2016) concluyó que al usar el carbón activado en el medio de cultivo como un antioxidante para los explantes de babaco logró un mejor desarrollo evitando altos porcentajes de muestras necrosadas.

De acuerdo a la segunda hipótesis planteada, la cual consistió en la acción de los medios de cultivo apropiados como un estimulador óptimo del desarrollo vegetativo presentando mayor crecimiento de tallos, hojas o brotes en los nudos de babaco; se aceptó dicha hipótesis al comprobar que en la fase de establecimiento en medios de cultivos se observaron que los tratamientos que contenían 10 y 15% de gel de *A. vera* como parte de las sales preparadas, tuvieron buenos resultados en cuanto a brotación y tamaño de explantes, a pesar que en el T4 se suprimió el medio de cultivo WPM en su totalidad, en relación con Oviedo y García (2018) quienes aplicaron concentraciones de 50%, 25% y 12.5% de gel de *A. vera* como un agente gelificante al medio de cultivo obteniendo como respuesta explantes de papa (*Solanum t.*) con tonos de color verde intenso e incluso mayor presencia de raíces demostrando una mayor absorción de los nutrientes; por otra parte Bazantes (2016) corrobora que debido a la composición de los micronutrientes del medio WPM las plántulas de babaco tuvieron menor grado de necrosamiento y buen crecimiento, entre los elementos que se encuentran en este medio está el cobre

pentahidratado quien va a ayudar en la formación de clorofila, activación de enzimas y la regularización de la transferencia electro-fotosintética.

Según indicó Trujillo (2019) al aplicar los reguladores de crecimiento 6BAP, GA<sub>3</sub> y AIA obtuvo explantes de babaco viables además de presentar callos y brotes con una altura de 3.81cm considerándolo como el mejor tratamiento para la iniciación de brotes apicales de babaco; en cambio el autor Millones (2019) empleó los mismo reguladores 6BAP, GA<sub>3</sub> y AIA pero no logró obtener respuestas favorables en el desarrollo de los explantes de babaco, solo hubo presencia de un callo al aplicar las concentraciones de 0.2 mg/L de AIA + 0.5 mg/L de BAP, también sembró yemas apicales pero éstas no lograron su crecimiento y desarrollo al aplicar la concentración de 0.2 mg/L de AG3 + 0.2 mg/L de BAP; en lo que respecta a la presente investigación al suprimir el AIA por 10% p/v de *A. vera* en el T3 se obtuvo una mediana de 0.30 cm de tamaño de explantes a los 7 días y luego alcanzó hasta 0.40 cm a los 21 días; de esta forma se da iniciativa a este compuesto orgánico como un suplemento más para añadir en la preparación de medios de cultivos.

Se comprobó que al aplicar el gel de *A. vera* como parte de la solución del medio nutritivo para los explantes de babaco ayudó a disminuir la contaminación hasta el 3 y 0%, contribuyendo a la mayor formación de nuevos brotes e incluso aumentando el tamaño de explantes en comparación con los productos convencionales los cuales tuvieron poco control, así lo afirmaron los autores Jaramillo et al. (2017) quienes lograron controlar al hongo *Mycosphaerella f.* al aplicar una concentración de 1000 ppm de gel de *A. vera* en un medio de cultivo (PDA) reduciendo el micelio de dicho hongo hasta el 44.84% evidenciando la actividad fúngica del gel de sábila.

Al realizar este estudio con el gel de *A. vera* en la iniciación *in vitro* se observaron respuestas antisépticas y bioestimulante en los nudos de babaco, así lo atribuyeron Pulido y Becerra (2016) quienes consideran que el gel de *A. vera* tiene la capacidad antimicrobial debido a la presencia de sustancias tal como barbaloin, ácido aloético y el aloin los cuales son mecanismos de defensa de la propia planta, capaces de bloquear la síntesis de ácidos nucleicos en las bacterias, lo cual se presencié en este trabajo realizado al aplicar el 10% y 20% de gel de *A. vera* como parte del protocolo de desinfección, reduciendo la presencia de contaminación desde el 5% hasta 0%.

Cabe recalcar que al establecer una dosis óptima del gel de sábila como parte del medio de cultivo se disminuirían el uso de otros componentes empleados cotidianamente en las etapa de micropropagación, esto va en concordancia con Hamdeni *et al.* (2021) quienes consideran que el gel de *A. vera* es un suplemento útil al realizar las soluciones de medios de cultivos y probarlas en explantes de *Aloe vera* L. (Asphodelaceae) obteniendo una mayor brotación al aplicar 5% de gel de *A. vera* al medio nutritivo, además obtuvieron un promedio de  $2.21 \pm 0.84$  cm de longitud del explante con una alta presencia de raíces luego de las cuatro semanas después de la siembra, siendo estos resultados positivos que reafirman lo estudiado en el presente trabajo al aplicar 10% y 15% de gel de *A. vera* como parte del medio nutritivo de los explantes de babaco obteniendo una mediana de 0.4 cm y 0.2 cm de tamaño de explantes luego de los 21 días después de la siembra.

Los resultados discutidos con otros autores a través de la presente investigación han logrado constatar la eficacia del uso del gel de *A. vera* aceptando la hipótesis general sobre las dosificaciones apropiadas en protocolos de desinfección, además se demostró que en los tratamientos de los medios de cultivo hubo efectos

bioestimulantes, pero estos no fueron a causa del gel de *A. vera* sino por compuestos convencionales aceptando la hipótesis general planteada para el uso de los medios de cultivos propuestos, cabe recalcar que es de importancia investigar como complementar otros ingredientes biológicos en los procesos de la micropropagación de distintas especies vegetales, en este caso el babaco, a fin de obtener un mejor desarrollo de los explantes y aminorar la presencia de compuestos tóxicos o contaminantes.

## 6. Conclusiones

Se determinó que el mejor método de desinfección según los protocolos establecidos fue el T2 (jabón líquido-povidin, 10% p/v gel de *A. vera*, Alcohol al 70%, 1.25% v/v NaClO) al presentar respuestas favorables como un buen número y tamaño de explantes además de presentar una contaminación del 3% y con una mortalidad de 10% a los 28 días después de la siembra, siendo favorables para el correcto desarrollo de explantes de babaco ya que este cultivo presenta dificultades al establecerlo *in vitro*.

Según los medios de cultivos evaluados en la etapa de iniciación, se logró obtener los mejores resultados con el T1 (WPM, 2mg/L 6BAP, 4mg/L GA<sub>3</sub>) a pesar de presentar una mortalidad del 13%, se logró controlar la contaminación hasta el 5% después de los 7 y 21 días, llegando a obtener altos porcentajes de desarrollo de los explantes de babaco *Vasconcellea x heilbornii* con el 13% de brotación y con una mediana de 0.35 cm de altura del explante.

Se valoró en esta investigación al gel de *A. vera* ya que al aplicarlo como parte del protocolo de desinfección se obtuvieron resultados positivos tal como disminuir la contaminación hasta el 3% así como obtener un efecto bioestimulante con un 52% de tamaño de explantes con el T2 (10% p/v gel de *A. vera*, Alcohol al 70%, 1.25% v/v NaClO); incluso, al agregar el gel de *A. vera* al medio de cultivo éste actuó como un compuesto nutritivo y promotor de nuevos brotes con un 19% de tamaño de explantes y un 10% de nuevas yemas en las muestras observadas del T4 (2mg/L 6BAP, 4mg/L GA<sub>3</sub>, 15% p/v gel de *A. vera*); valorando al gel de *A. vera* como un compuesto orgánico, logrando obtener resultados muy positivos en cuanto al control de fitopatógenos, así como la acción bioestimulante en las células vegetativas del babaco.

## 7. Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda el uso del gel de *A. vera* al 10% como parte del protocolo de desinfección, tomando en consideración que debería probarse el tiempo de desinfección con el hipoclorito de sodio en brotes jóvenes y maduros de la planta de babaco debido a que durante el trabajo experimental algunos segmentos nodales se oxidaron según el desarrollo vegetativo.

Se recomienda el uso del medio WPM ya que es específicamente para plantas leñosas o semileñosas como lo es el babaco, no se recomienda medios con altos niveles de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , se sugiere hacer pruebas preliminares con medios de cultivo que contengan otras composiciones de nitrógeno de mejor asimilación para los explantes.

Se recomienda el uso del gel de *A. vera* como un compuesto antiséptico y bioestimulante para su aplicación tanto en protocolos de desinfección, así como agregarlo al medio de cultivo debido a que los tratamientos aplicados en la presente investigación presentaron resultados favorables.

## 8. Bibliografía

- Aldaz, A. (2017). *Efecto del 1-metilciclopropeno en la inhibición del Etileno en la maduración de babaco (Vasconcellea x heilbornii var. Pentagona)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8330/1/T-UCE-0004-01.pdf>
- Andrade, M. (2010). *Situación fitosanitaria y evaluación de productos alternativos y convencionales para manejar Fusarium oxysporum en Vasconcella sp.* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/163/1/07630.pdf>
- Arellano, A. (2014). *Plan de negocios para la producción y comercialización de babaco orgánico en la provincia de Tungurahua - Ambato* (Tesis de pregrado). Recuperado de [www.journal.uta45jakarta.ac.id](http://www.journal.uta45jakarta.ac.id)
- Asamblea Nacional. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Recuperado de <https://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/es/ec/ec030es.pdf>
- Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar. (2003). *El cultivo de babaco en invernadero*. Quito, Ecuador: Editorial Abya Yala. Recuperado de <https://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article>
- Azofeifa, Á. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 153–175. Recuperado de [http://www.mag.go.cr/rev\\_mesov20n01\\_153.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_mesov20n01_153.pdf)
- Badillo, V., Eynden, V., y Damme, P. (2000). *Carica palandensis* (Caricaceae), a new species from Ecuador. *Novon*, 10(1), 4–6. <https://doi.org/10.2307/3393173>
- Baque, L. (2019). *Comparación de medios de cultivo en la micropropagación de piña (Ananas comosus L.)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cia.uagraria.edu.ec>

- Bazantes, K. (2016). *Establecimiento in vitro y multiplicación de brotes de babaco (Vasconcellea x heilbornii) mediante el uso de reguladores de crecimiento*. (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://www.bibliotecasdelecuador.com/Record/ir-:33000-5481>
- Bravo, C., Larriva, W., y Minchala, L. (2012). Manejo integrado de la marchitez vascular o fusariosis (*Fusarium oxysporum*) en el cultivo de babaco. *INIAP*, 409, 17. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2327>
- Calderón, M., Quiñones, M., y Pedraza, J. (2011). Efectos Benéficos del Aloe en la Salud. *Vertienter, Revista Especializada En Ciencias de La Salud*, 14(2), 53–73. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/vertientes/vre-2011/vre112a.pdf>
- Campoverde, C. (2020). *Germinación y micropropagación in vitro de híbridos interespecíficos en cítricos en la provincia del Guayas* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cia.uagraria.edu.ec>
- Castillo, A. (2000). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Unidad de Biotecnología*, 5(3) 1–8. Recuperado de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentoscompartidos/111219220807102417.pdf>
- Coyago, R., León, F., y Patiño, V. (2010). *Evaluación del comportamiento del babaco (Vasconcellea x heilbornii) en tres tipos de alturas de podas en plantas de seis años de producción* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4747/1/UPS-CT001969.pdf>
- Domínguez, R., Arzate, I., Chanona, J., Welti, J., Alvarado, J., Calderón, G., ... Gutiérrez, G. (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), 23–44. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/scielo>
- Fabara, J., y Quillay, N. (2012). *Determinación de la capacidad embriogénica de babaco (Vasconcellea x heilborni) a partir de óvulos y hojas multiplicados in vitro vía embriogénesis somática* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/1681>
- García, M., Hernández, R., Echevarría, Y., Estévez, M., y Santos, D. (2008). Utilización del *Aloe vera* L. en la composición de medios de cultivo para la fase de enraizamiento de la variedad comercial de plátano FHIA 18. *Citma*, 10(4), 1-10. Recuperado de <https://1library.co/document/zwo42egy-titulo-utilizacion-del-aloe-vera-l-en-la-composicion-de-medios-de-cultivo-para-la-micro-propagacion-de-la-variedad-comercial-de-platano-fhia-18.html>
- Gil, D. (2009). *Efecto del Yodo en germinación y vigor de plántulas de tomate (Lycopersicon esculentum)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://1library.co/document/qmw6l2wz-efecto-yodo-germinacion-vigor-plantulas-tomate-lycopersicon-esculentum.html>
- González, G. (2020). *Micropropagación in vitro de Pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus Haw) a partir de tallos seleccionados de siembra comerciales, limoncito - Santa Elena* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cia.uagraria.edu.ec>
- Guamán, D. (2018). *Desarrollo de un protocolo de establecimiento in vitro de mora de castilla (Rubus glaucus Benth) a partir de meristemos axilares* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://awsassets.wwfz.panda.org>
- Hamdeni, I., Yangui, I., Sanaa, A., Slim, S., Louhaichi, M., Messaoud, C., ...

- Bettaieb, T. (2021). *Aloe vera* L. (Asphodelaceae): Supplementation of *in-vitro* culture medium with *Aloe vera* gel for production of genetically stable plants. *South African Journal of Botany*. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2021.08.025>
- Helmuth, R. (2001). *Manejo Integrado de Plagas en Cultivos de la Amazonía Ecuatoriana*. Quito, Ecuador: Editorial Mossaico. Recuperado de <https://repositorio.iica.int/handle/11324/16679>
- Jadán, M., Basantez, K., Gómez-Kosky, R., y Bermúdez-Carabaloso, I. (2016). Establecimiento *in vitro* de brotes de *Vasconcellea x helbornii* (Badillo) Badillo. *Biotecnología Vegetal*, 2(2), 67–72. Recuperado de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/511/pdf>
- Jaramillo, E., Barrezueta, S., Luna, E., y Castillo, S. (2017). Efecto biofungicida del gel de *Aloe vera* sobre *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musa (AAA). *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 273–278. Recuperado de <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.10>
- Jordan, M. (2015). *In vitro* morphogenic responses of *Vasconcellea chilensis* Planch. ex A. DC (Caricaceae). *Agronomía Colombiana*, 3(29), 481–485. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99652011000300018](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652011000300018)
- Lapiz, Y., Huamán, E., Neri, J., y Oliva, M. (2020). Efecto de reguladores de crecimiento en el establecimiento *in vitro* de (*Vasconcellea sp.*), a partir de meristemas apicales en Chachapoyas, Amazonas. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(1), 43-49. doi: 10.25127/aps.20201.542
- Macías, B. (2020). *Micropropagación in vitro del cultivo de café conilon (Coffea*

- canephora*) a partir de hojas, mediante embriogenesis somática (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cia.uagraria.edu.ec>
- Maldonado, C. (2015). *Estudio investigativo del babaco y propuesta gastronómica* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/11639>
- Mariño, L. (2019). *Determinación del cariotipo del babaco (Vasconcellea x heilbornii "babaco")* (V. M. Badillo) V. M. Badillo (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/20478/1/T-ESPE-039303.pdf>
- Matute, L., y Tirado, B. (2013). *Análisis bromatológico de Vasconcellea pulchra V. M. Badillo y Vasconcellea x heilbornii procedentes de la provincia Bolívar, Ecuador* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6008/1/UPS-QT04153.pdf>
- Millones, C. (2019). Propagación *in vitro* de babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) del distrito de Luya, región Amazonas. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 2(1), 45–51. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.25127/ucni.v2i1.447>
- Muñoz, M. (2012). *Biotecnología*. Bernal, Argentina: Editora Axcel Books do Brasil. Recuperado de <https://docplayer.es/5077897-Biotecnologia-maria-antoniamunoz-de-malajovich.html>
- Otero, K. (2020). *Germinación y conservación in vitro de semillas de orquidea (Encyclia angustiloba)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cia.uagraria.edu.ec>
- Oviedo, J., y García, A. (2018). Evaluación de dos medios de cultivo: *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* miller) y la pulpa de papel como gelificantes alternativos del agar-agar para la propagación in-vitro de la variedad de papa andinita

- (*Solanum tuberosum* L). *Revista Educare*, 21(2), 58–67.  
<https://doi.org/10.46498/reduipb.v21i2.53>
- Pulido, N., y Becerra, J. (2016). *Aloe vera (Aloe barbadensis* Miller) en la regeneración de explantes de Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Cultura Científica*, 14, 58–68. Recuperado de  
<http://www.longwoodherbal.org/aloe/aloe.pdf>
- Quisintuña, E. (2014). *Estudio del efecto del gel de penca de sábila (Aloe vera) sobre la vida útil del babaco (Carica pentagona L) producido por agricultores de la parroquia San Miguelito* (Tesis de pregrado). Recuperado de  
[https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8579/1/MAI 12.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8579/1/MAI%2012.pdf)
- Robles, A., Herrera, L., y Torres, R. (2016). El babaco (*Vasconcellea heilbornii* var. *pentagona* Badillo), Principales agentes fitopatógenos y estrategias de control. *Centro Agrícola*, 43(2), 83–92. Recuperado de  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852016000200011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852016000200011)
- Robles, A., y Rentería, D. (2015). *Estudio de la interacción entre fusarium-trichoderma en babaco (Vasconcellea heilbornii badillo. var. pentagona), mediante estudios histológicos* (Tesis de pregrado). Recuperado de  
<https://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/10049>
- Rodríguez, J. (2015). *Efecto de los extractos de Aloe vera, Kalanchoe pinnata, Zea mays, Gerbera jamesonii y del híbrido interespecífico OxG (Elaeis oleífera x Elaeis guineensis) y como alternativas naturales de reguladores de crecimiento vegetal* (Tesis de maestría). Recuperado de  
<https://fdocuments.ec/document/efecto-de-los-extractos-de-aloe-vera-kalanchoe-pinnata-.html>

- Rodríguez, H., y Hechevarría, I. (2006). Gel de *Aloe vera* (L.) N.L. Burm. y harina de sagú como soporte sólido de medio de cultivo para plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1), 1–5. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Rodríguez, K. (2013). *Plan de exportación de babaco para la compañía Agro-Productos del Ecuador “El Migrante Cia. Ltda.” de la ciudad de Saraguro al mercado europeo para el año 2013* (Tesis de pregrado). Recuperado de [http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/7862/3/UTPL\\_Rodriguez\\_Karen\\_1133329.pdf](http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/7862/3/UTPL_Rodriguez_Karen_1133329.pdf)
- Sharry, S., Adema, M., y Abedini, W. (2020). *Plantas de probeta: Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata. Recuperado de <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/407>
- Trujillo, C. (2019). *Microinjertación in vitro de babaco [Vasconcellea x heilbornii (badillo) badillo] en patrones de jigacho (Vasconcella stipulata), para la obtención de plantas con resistencia a Fusarium oxysporum* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/20558>
- Vaca, I. (2008). *Incremento del número de brotes de babaco (Vasconcellea x heilbornii cv Babaco) in vitro mediante la interacción de reguladores de crecimiento para la regeneración de plantas completas* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/9652>
- Vega, R., y Barberán, C. (1993). Shoot Regeneration from Peduncles and Shoot-like Regeneration from Leaves of Babaco, *Carica pentagona*. *Turrialba*, 43(2), 93–99. Recuperado de

<https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/9635/A0792e02-01.pdf?sequence=5>

- Velástegui, G., y García, P. (2012). *Evaluación de la tolerancia de cinco accesiones de vasconcellas a Fusarium sp. como posible portainjertos para babaco (Vasconcellea x heilborni) bajo cubierta plástica en la Estación Experimental del Austro de INIAP* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/1676>
- Vélez, D., Armijo, R., y Jordán, M. (2015). Mejoramiento de la germinación, control de la hiperhidricidad y formación de brotes en *Vasconcellea stipulata* Badillo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 16–21. Recuperado de <https://doi.org/10.15446/REV.COLOMB.BIOTE.V17N2.43611>
- Viteri, P. (1992). El cultivo del Babaco en el Ecuador. *INIAP*, 19(7), 1-17. Recuperado de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2450/1/iniapscm19c.pdf>
- Zapata, P., Navarro, D., Guillén, F., Castillo, S., Martínez, D., y Valero, D. (2013). Characterisation of gels from different *Aloe spp.* as antifungal treatment: Potential crops for industrial applications. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 223–230. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2012.06.002>

## 9. Anexos

Tabla 31. Variables categóricas y numérica a los 7 días – Protocolo

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 Dorbaq	10	0	10	0	4	6	0,24
T2 Aloe 10%	6	4	9	1	6	4	0,39
T3 Aloe 20%	8	2	10	0	3	7	0,29
T4 NaClO	10	0	9	1	1	9	0,3

Reyes, 2022

Tabla 32. Variables categóricas y numérica a los 14 días – Protocolo

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 Dorbaq	7	3	10	0	2	8	0,2
T2 Aloe 10%	4	6	9	1	6	4	0,4
T3 Aloe 20%	8	2	9	1	1	9	0,2
T4 NaClO	10	0	9	1	0	10	0,3

Reyes, 2022

Tabla 33. Variables categóricas y numérica a los 21 días – Protocolo

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 Dorbaq	8	2	10	0	2	8	0,2
T2 Aloe 10%	4	6	9	1	6	4	0,45
T3 Aloe 20%	8	2	9	1	2	8	0,2
T4 NaClO	10	0	9	1	0	10	0,25

Reyes, 2022

**Tabla 34. Variables categóricas y numérica a los 28 días – Protocolo**

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 Dorbaq	8	2	10	0	2	8	0,2
T2 Aloe 10%	4	6	9	1	6	4	0,6
T3 Aloe 20%	9	1	8	2	1	9	0,15
T4 NaClO	10	0	9	1	0	10	0,2

Reyes, 2022

**Tabla 35. Variables categóricas y numérica a los 7 días – Medios**

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 100% Medio WPM	5	5	8	2	5	5	0,3
T2 100% Medio WPM+AIA	9	1	8	2	1	9	0,2
T3 50%WPM+Aloe 10%	6	4	10	0	5	5	0,3
T4 Aloe 15%	3	7	10	0	10	0	0,25

Reyes, 2022

**Tabla 36. Variables categóricas y numérica a los 14 días – Medios**

Tratamientos	Variables de medición						
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						Prueba de Kruskall
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		Tamaño de explantos (cm)
	0	1	0	1	0	1	Medianas
T1 100% Medio WPM	5	5	8	2	5	5	0,3
T2 100% Medio WPM+AIA	10	0	7	3	0	10	0,15
T3 50%WPM+Aloe10%	9	1	9	1	4	6	0,3
T4 Aloe 15%	5	5	10	0	5	5	0,25

Reyes, 2022

**Tabla 37. Variables categóricas y numérica a los 21 días – Medios**

Tratamientos	Variables de medición						Prueba de Kruskal Tamaño de explantes (cm) Medianas
	Tablas de contingencia (frecuencias absolutas)						
	Brotación		Contaminación		Mortalidad		
	0	1	0	1	0	1	
T1 100% Medio WPM	5	5	8	2	5	5	0,35
T2 100% MedioWPM+ AIA	10	0	7	3	0	10	0,1
T3 50%WPM+Aloe10%	8	2	9	1	2	8	0,4
T4 Aloe 15%	6	4	10	0	3	7	0,2

Reyes, 2022

**Tabla 38. Composición del medio WPM**

Lloyd & McCown Woody Plant Basal Medium with Vitamins		
Componentes	Fórmula	(mg/L)
Macro y micronutrientes		
Nitrato de amonio	$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	400
Fosfato de potasio, monobásico	$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	170
Ácido bórico	$\text{H}_3 \text{BO}_3$	6.2
Sulfato de potasio	$\text{K}_2 \text{SO}_4$	990
Cloruro de calcio, anhidro	$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	72.5
Sulfato de zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	8.6
Nitrato de calcio	$\text{Ca} (\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	386
Sulfato cúprico	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0.25
Sulfato ferroso	$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	27.85
Quelato de sodio	$\text{Na}_2 \text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	37.3
Sulfato de magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	180.7
Sulfato de manganeso	$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	22.3
Ácido molibdico (sal de sodio)	$\text{Na}_2 \text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.25
Vitaminas		
Glicina (base libre)		2
Myo-Inositol		100
Ácido nicotínico		0.5
Piridoxina-HCl		0.5
Tiamina-HCl		1

Phytotechnology, 2017

**Tabla 39. Formulaciones para preparación de medios de cultivo**

<b>Formulaciones de medios de cultivo</b>					
<b>Preparaciones</b>	<b>*explantos de protocolo (500 ml)</b>	<b>T1 100% WPM (120 ml)</b>	<b>T2 100%WPM+ AIA (120 ml)</b>	<b>T3 50%WPM+ Aloe10% (120 ml)</b>	<b>T4 Aloe 15% (120 ml)</b>
<b>Composición</b>					
Medio WPM	1.20 gr	0.28 gr	0.28 gr	0.14 gr	-----
Azúcar	15 gr	3.6 gr	3.6 gr	3.6 gr	3.6 gr
6BAP 2mg/L *(HCl)	1mg	0.24mg	0.24mg	0.24mg	0.24mg
AIA 0.3mg/L *(NaOH)	0.15 mg	-----	0.036mg	-----	-----
GA <sub>3</sub> 4mg/L *(etanol 95%)	2mg	0.48mg	0.48mg	0.48mg	0.48mg
Gel de sábila 10-15 gr/L	-----	-----	-----	1.2gr	1.8gr
Carbón activado	1.25gr	0.3gr	0.3gr	0.3gr	0.3gr
Agar agar	4 gr	0.96 gr	0.96 gr	0.96 gr	0.96 gr

\* explantos de protocolo: preparación de medio para establecer los nudos de los tratamientos de protocolo de desinfección

\*(HCl), \*(NaOH), \*(etanol 95%): compuestos para diluir los reguladores de crecimiento. Reyes, 2022

**Tabla 40. Componentes de protocolos de desinfección**

<b>Formulaciones para protocolo de desinfección</b>						
<b>Tiempo (44min)</b>	<b>Tratamientos Composición</b>	<b>*Medios 100ml</b>	<b>T1 (Dorbaq) 100ml</b>	<b>T2 10% Aloe 100ml</b>	<b>T3 20% Aloe 100ml</b>	<b>T4 Testigo 100ml</b>
10 min	Jabónpovidin	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml
30 min	Dorbaq	-----	0.6ml	-----	-----	-----
	<i>Aloe vera</i>	-----	-----	10gr	20gr	-----
1min	Alcohol 70%	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml
3 min	(NaClO) 1.25%	25ml NaClO+ tween	25ml NaClO+ tween	25ml NaClO+ tween	25ml NaClO+ tween	25ml NaClO+ tween
<i>Nudos totales</i>		<i>40</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>

\*Protocolo de desinfección para los nudos de los tratamientos de medios de cultivo

Reyes, 2022



Figura 12. Plántulas y nudos de babaco para trabajo experimental  
Reyes, 2022



Figura 13. Reactivos usados para medios de cultivo  
Reyes, 2022



Figura 14. Pesando reactivos en la balanza analítica  
Reyes, 2022



Figura 15. Extracción y pesado de gel de *A. vera*  
Reyes, 2022



Figura 16. Calibración de pH en medios de cultivo  
Reyes, 2022



Figura 17. Tratamientos para la fase de medios de cultivo  
Reyes, 2022



Figura 18. Lavado de explantes con solución de yodo  
Reyes,2022



Figura 19. Tratamientos para la fase de protocolos de desinfección  
Reyes, 2022



Figura 20. Explantes oxidados en sus bordes durante la desinfección  
Reyes, 2022



Figura 21. Siembra de explantes de babaco en medio nutritivo  
Reyes, 2022

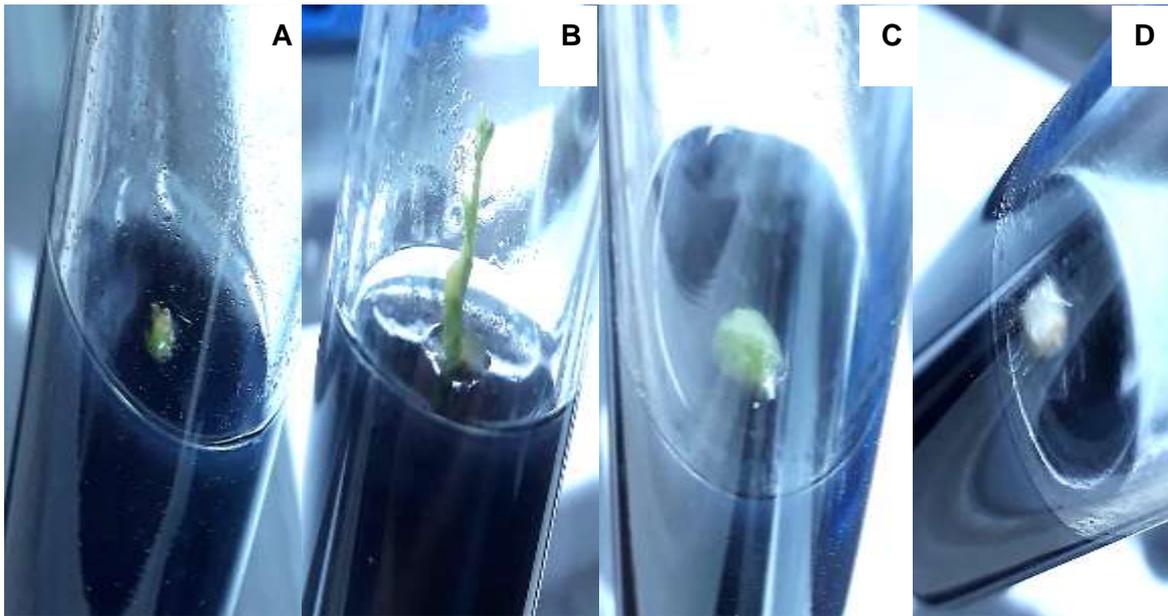


Figura 22. Explantes de protocolo de desinfección a los 7 días

En su respectivo orden; **A:** T1 Dorbaq, **B:** T2 10% *A. vera*, **C:** T3 20% *A. vera*, **D:** T4 NaClO

Reyes, 2022

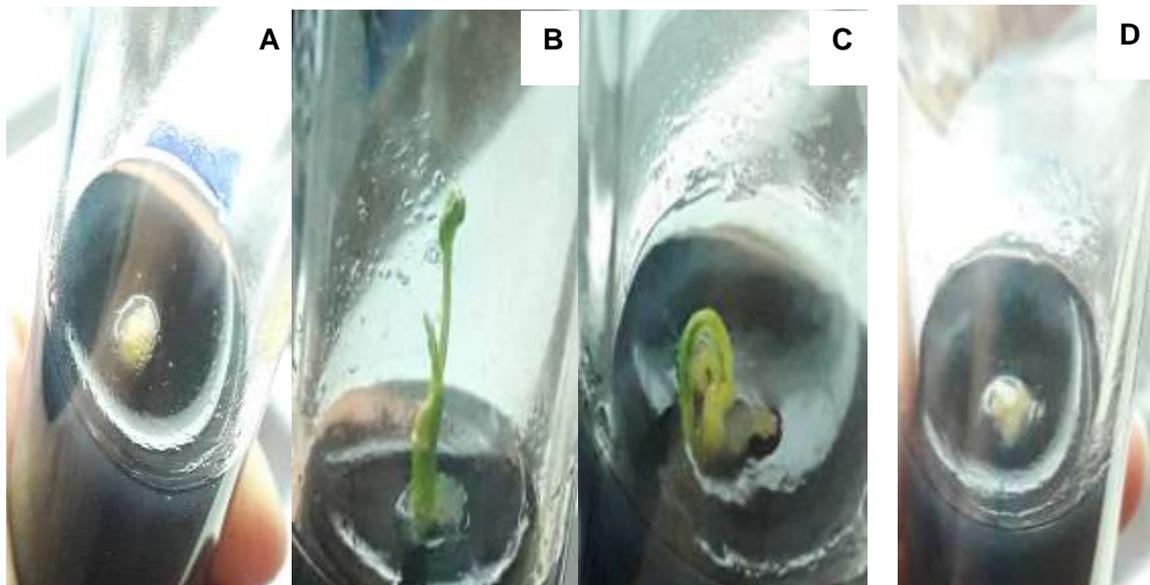


Figura 23. Explantes de protocolo de desinfección a los 28 días

En su respectivo orden; **A:** T1 Dorbaq, **B:** T2 10% *A. vera*, **C:** T3 20% *A. vera*, **D:** T4 NaClO

Reyes, 2022

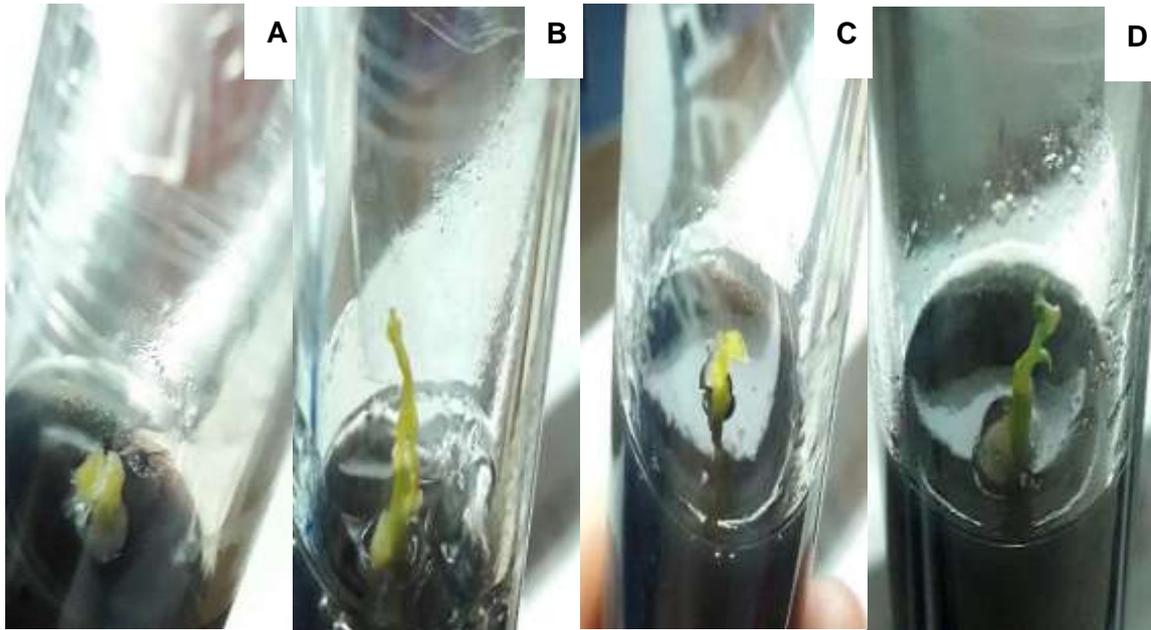


Figura 24. Explantes de los tratamientos de medios de cultivo a los 7 días

En su respectivo orden; **A:** T1 100%Medio WPM, **B:** T2 100%Medio WPM +AIA, **C:** T3 50%WPM +10% *A. vera*, **D:** T4 15% *A. vera*  
Reyes, 2022

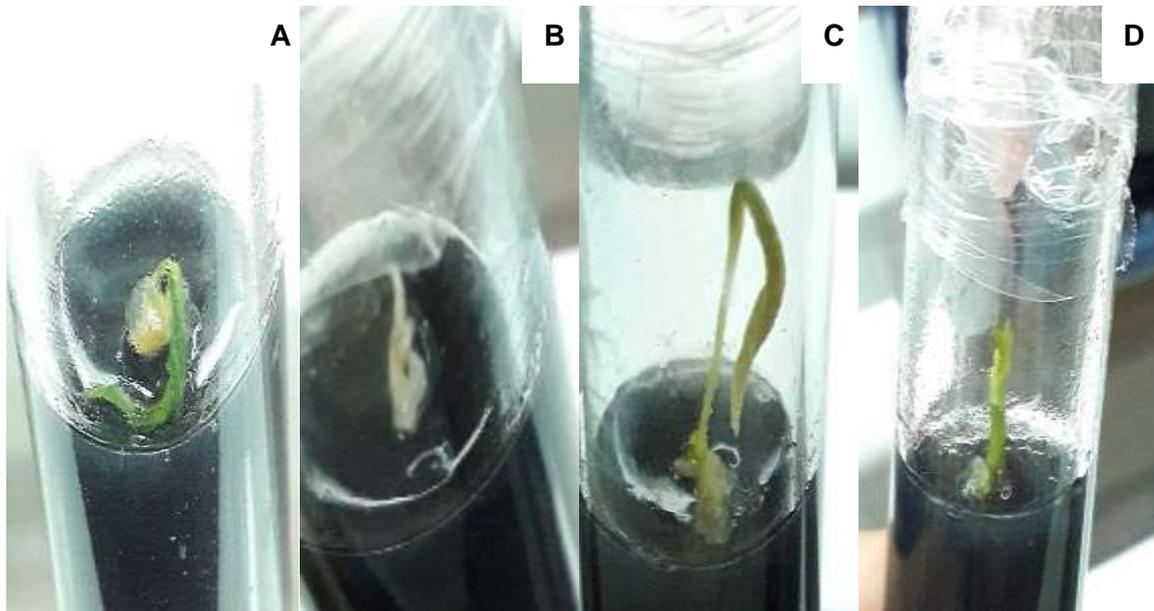


Figura 25. Explantes de los tratamientos de medios de cultivo a los 21 días

En su respectivo orden; **A:** T1 100%Medio WPM, **B:** T2 100%Medio WPM +AIA, **C:** T3 50%WPM +10% *A. vera*, **D:** T4 15% *A. vera*  
Reyes, 2021



Figura 26. Observación de explantes bajo supervisión del tutor

Reyes, 2022

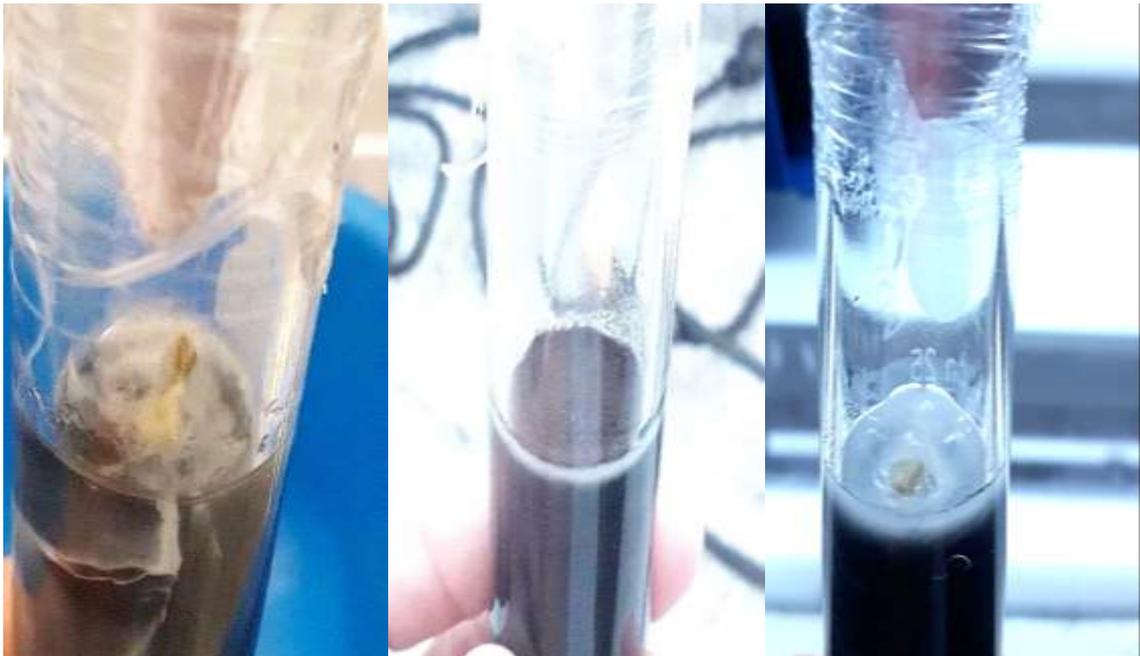


Figura 27. Muestras contaminadas por hongos y bacterias

Reyes, 2022