Revista Veritas de Difusão Científica
Recepção: 05-03-2025 Aprovação: 09-04-2025
DOI: https://doi.org/10.61616/rvdc.v6i1.605

Propagación in Vitro de Quina (*Cinchona nitida*) con Reguladores de Crecimiento y su Aclimatación en Uchumayo, Arequipa, Perú

Roxana Bardales Alvarez
rbardales@unsa.edu.pe
https://orcid.org/0000-0002-5137-4067
Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Agronomía

Carmen Rosa Mollohuanca Ccuno
c.mollohuanca20@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-9105-8501
Sociedad Minera Cerro verde. Laboratorio de Biotecnología Vegetal

Luis Fernando Mayta Anco
lmaita@unsa.edu.pe
https://orcid.org/0000-0001-8359-4876
Sociedad Minera Cerro verde. Laboratorio de Biotecnología Vegetal

Edwin Bustamante Salas
ebustama@fmi.com
https://orcid.org/0000-0002-3958-7860
Sociedad Minera Cerro verde. Laboratorio de Biotecnología Vegetal

Elio Ponce Neira
Eponce@conexxaperu.com
https://orcid.org/0000-0002-9591-9604
Sociedad Minera Cerro verde. Laboratorio de Biotecnología Vegetal

Cleofe Candida Carpio Luna
c.carpio@conexxaperu.com
https://orcid.org/0009-0007-0177-1527
Sociedad Minera Cerro verde. Laboratorio de Biotecnología Vegetal

RESUMEN

La quina es una especie forestal de importancia medicinal que afronta peligros relacionados con las actividades antrópicas, por otro lado, sus semillas son recalcitrantes por lo que, pierden fácilmente su poder germinativo. El objetivo fue desarrollar la propagación *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. Para la fase de multiplicación, se emplearon brotes apicales de la germinación *in vitro* de semillas, que fueron sembrados en medio *Woody Plant* suplementado con ANA (Ácido 1-naftalenacético) y BAP (6-Bencilaminopurina) a diferentes concentraciones, obteniendo la mayor cantidad de brotes (8,86) con el tratamiento T12 (1 µM ANA + 8 µM BAP), los mismos que presentaron 11 mm de longitud y 2,4 hojas en promedio. Para la fase de enraizamiento se obtuvo el mayor porcentaje (100 %) con el tratamiento T3 (1 µM ANA + 0 µM BAP) y también permitió obtener el mayor número de raíces (7,86) y la mayor longitud de raíces por explante (17,6 mm). En la fase de aclimatación se logró un porcentaje de sobrevivencia del 100 % en los tratamientos T2, T4, T7 y T12 provenientes de la fase de enraizamiento; se concluye que es posible la micropropagación de quina empleando el BAP y ANA, también estos resultados permitirán iniciar programas de conservación y reforestación de esta especie.

Palabras clave: brote apical, enraizamiento, establecimiento, micropropagación, multiplicación

In vitro Propagation of Quina (*Cinchona nitida*) with Growth Regulators and its Acclimatization in Uchumayo, Arequipa, Perú

ABSTRACT

Cinchona is a forest species of medicinal importance that faces dangers related to anthropogenic activities; on the other hand, its seeds are recalcitrant so they easily lose their germination power. The objective was to develop the *in vitro* propagation of Cinchona nitida Ruiz & Pav. For the multiplication phase, apical shoots from *in vitro* seed germination were used, which were sown in *Woody Plant* medium supplemented with NAA (1-naphthaleneacetic acid) and BAP (6-Benzylaminopurine) at different concentrations, obtaining the greatest number of shoots. (8.86) with the T12 treatment (1 µM NAA + 8 µM BAP), which presented 11 mm in length and 2.4 leaves on average. For the rooting phase, the highest percentage (100%) was obtained with the T3 treatment (1 µM NAA + 0 µM BAP) and it also allowed obtaining the greatest number of roots (7.86) and the greatest length of roots per explant (17.6mm). In the acclimatization phase a survival percentage of 100% was achieved in treatments T2, T4, T7 and T12 from the rooting phase; it is concluded that *Cinchona* micropropagation is possible using BAP and NAA; these results will also allow the initiation of conservation and reforestation programs for this specie.

***Keywords**:* apical shoot, establishment, micropropagation, multiplication, rooting

INTRODUCCIÓN

La quina *Cinchona nitida*, pertenece a la familia Rubiaceae y al género *Cinchona*, cuenta con un promedio de 23 especies, las cuales se encuentran distribuidas en toda la Cordillera de los Andes, entre Costa Rica y Argentina (Gómez *et al*., 2016). El árbol de la quina, también conocida como cascarilla, representa uno de los recursos vegetales emblemáticos de la flora peruana (Huamán *et al*., 2019) y se constituye una especie de gran importancia medicinal, económica y ecológica (Jiménez y Agramonte, 2013; Campos-Ruiz *et al*., 2016). Debido a que desde hace mucho tiempo ha sido empleada por el hombre no solamente en la fabricación de utensilios y herramientas, sino también se le ha utilizado para curar o aliviar enfermedades (Maldonado *et al*., 2020), por ser fuente de quinina, la cual, tras su descubrimiento, fue muy eficaz para el tratamiento de la malaria en el siglo XVII (Canales *et al*., 2020).

La mayor cantidad de registro de quina están distribuidos en los bosques amenazados (Huamán *et al*., 2019) tales como las actividades antrópicas, la tala indiscriminada, la expansión de urbanizaciones y la actividad agrícola, sin medir sus consecuencias (Arreaga *et al*., 2019; Rosas 2022); además, otra amenaza lo constituye la dificultad de germinación que presentan las semillas en su hábitat (Campos-Ruiz *et al*., 2016) debido a que pierden rápidamente su poder germinativo (Caraguay-Yaguana *et al*., 2016), lo que dificulta la regeneración en su ambiente natural.

Todos estos factores, llevan a considerar nuevas opciones de conservación, a través de programas de reforestación, adaptación y domesticación de esta especie (Pucha-Cofrep *et al*, 2020).

Existen estudios realizados sobre su propagación sexual y asexual con resultados satisfactorios. Por ejemplo, Conde *et al*. (2017) con el objetivo de mejorar la propagación, empleó varias técnicas (germinación de semillas, enraizamiento de estacas, brotes y acodos aéreos); por su

lado, Campos-Ruiz *et al*. (2016) evaluó la acción del ácido giberélico ($C_{19}H_{22}O_6$), nitrato de potasio (KNO_3) y agua de coco para germinar semillas de *Cinchona pubescens* Vahl., y Sánchez *et al*. (2020) probó el efecto de tres sustratos y cuatro dosis de Ácido indol-3-butiríco AIB para la propagación asexual de *Cinchona officinalis* L.

También se encontraron estudios realizados en la propagación *in vitro* con resultados exitosos que posibilitaron la ejecución del presente estudio, donde la mayoría de autores emplearon el medio de cultivo MS (Lima *et al*., 2018; Eras-Guamán *et al*., 2019a; Moreno *et al*., 2019) mientras que Armijos-Gonzales y Pérez-Ruiz (2016) emplearon el medio de cultivo de Gamborg (B5). Para la germinación de semillas hicieron uso de AG_3 en diferentes concentraciones (Lima *et al*., 2018; Moreno *et al*., 2019), la mayor parte de los estudios realizados probaron el efecto de los reguladores de crecimiento en la fase de multiplicación *in vitro* de *Cinchona officinalis* L., obteniendo proliferación de brotes con la combinación de auxina y citoquina (Armijos-Gonzales y Pérez-Ruiz, 2016; Lima *et al*., 2018; Moreno *et al*., 2019) en tanto Eras-Guamán *et al*. (2019a) obtuvo el mayor porcentaje de brote sólo con el uso de citoquinina.

La micropropagación aporta herramientas útiles para la reproducción y alternativas de conservación de especies forestales amenazadas o con escasas poblaciones, a través del cultivo *in vitro* (Espinosa y Ríos, 2014; Lima *et al*., 2018; Eras-Guamán *et al*., 2019b), y también proporciona técnicas en la investigación que refuerzan los estudios alusivos al sector agrícola, biológico, etc. (Alcántara *et al*., 2017). Por otro lado, el empleo de semillas durante la propagación *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. garantiza la variabilidad genética, lo cual permitirá en investigaciones posteriores seleccionar aquellos clones, con características deseables, que se puedan aclimatar a las diferentes condiciones medio ambientales, para hacer frente al cambio climático.

Por ello, se debe considerar que en la propagación *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav, mediante el uso de reguladores de crecimiento, es posible la proliferación y enraizamiento de brotes.

El objetivo del trabajo fue el de preparar un protocolo de propagación *in vitro* de quina *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. a partir de explantes provenientes de la germinación *in vitro* de semillas, mediante la combinación adecuada de reguladores de crecimiento ácido 1-naftalenacético (ANA) y 6-Bencilaminopurina (BAP) que permita el mayor número de brotes por explante; el mayor porcentaje de enraizamiento de brotes apicales; y el mayor porcentaje de sobrevivencia durante la aclimatación, dichos resultados posibilitarán promover su cultivo y conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El trabajo de investigación se ejecutó en el Laboratorio de Biotecnología e invernadero de Sociedad Minera Cerro Verde, ubicado en el distrito de Uchumayo, departamento de Arequipa, Perú (Figura 1b).

El material vegetal utilizado fue de 1500 semillas (Figura 2a), con dos semanas de haber sido colectadas, correspondientes a la especie *Cinchona nitida* Ruiz & Pav., provenientes del distrito de San Ramón, provincia de Chanchamayo, departamento de Junín, Perú (Figura 1a), con coordenadas geográficas: 11°8'54'' Latitud sur, 75°22'25'' Longitud Oeste y altitud de 2930 msnm.

Figura 1. (a) Punto de colecta de semillas San Ramón, Junín, Perú y (b) zona de estudio Uchumayo, Arequipa, Perú.



METODOLOGÍA

Fase de Establecimiento

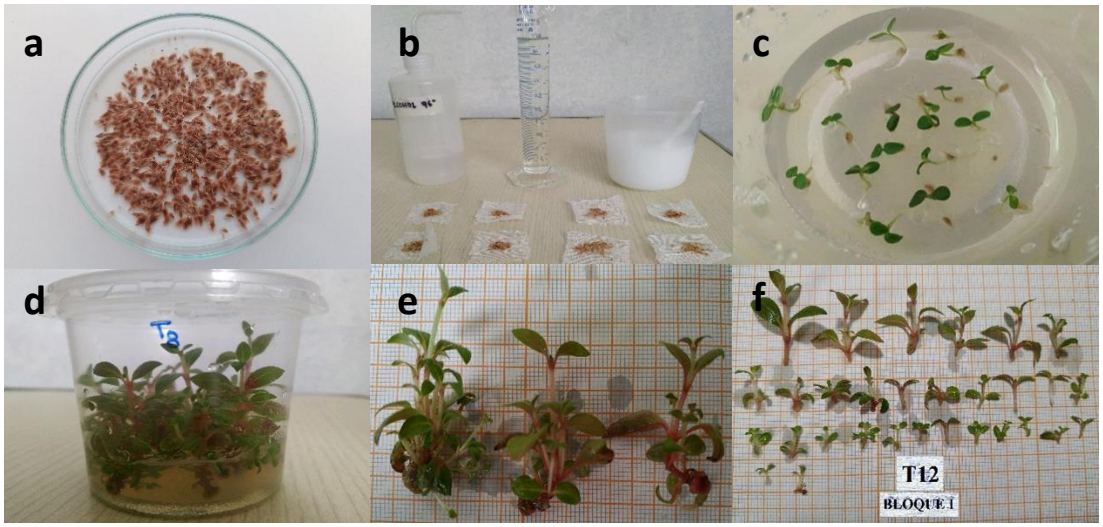
Para la desinfección (Figura 2b), las semillas fueron seleccionadas de acuerdo a sus características fenotípicas, las más grandes, con embrión en buen estado y se agruparon en número de 40 para su facilidad de manejo. Se desinfectó las muestras con etanol al 70% durante 1 min, y con Hipoclorito de Sodio NaClO al 2.5% durante 5 min y se enjuagó 3 veces con agua destilada estéril (Lima *et al*., 2018). Una vez culminada la desinfección, las semillas fueron sembradas en medio de cultivo *Woody Plant*, al cual se le agregó sacarosa al 3% y agar al 0.6%, se colocó 20 semillas por cada frasco (total de frascos empleados 75) y permanecieron en la cámara de incubación hasta el momento de la germinación (Figura 2c) a 25°C de temperatura, 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, al cabo de dos meses se pudo obtener 78% de germinación.

Fase de Multiplicación de brotes de quina

Se emplearon brotes apicales procedentes de la germinación *in vitro* de semillas (Lima *et al.,* 2018), se colocaron 9 brotes de 15 mm de tamaño por frasco (Figura 2d), en medio de cultivo *Woody Plant* al cual se le agregó 0,6% de agar, 3% de sacarosa y diferentes concentraciones de

ANA (0, 0,5 y 1 µM) combinado con BAP (0, 2, 4 y 8 µM), que hacen un total de 12 tratamientos con 5 repeticiones, empleándose un total de 60 frascos. Se realizaron 4 evaluaciones cada 15 días para obtener los datos del peso de los explantes. A los 60 días después del cultivo se evaluó las variables número de brotes (Figura 2e) y altura de brotes (Figura 2f).

Figura 2. (a) Semillas de quina, (b) Desinfección, (c) Germinación, (d) Medio de multiplicación con explantes, (e) Multiplicación de brotes (f) Brotes diseccionados, correspondientes a *Cinchona nitida* Ruiz & Pav.



Fase de Enraizamiento de brotes de quina

Se emplearon brotes apicales provenientes de la fase de multiplicación (Eras-Guamán *et al*., 2019a), se colocaron 10 brotes por frasco de un tamaño promedio de 15 mm, en medio de cultivo *Woody Plant*, al cual se agregó 0,6% de agar, 3% de sacarosa y se adicionó diferentes concentraciones de ANA (0, 0,5, 1, 1,5 µM) combinado BAP (0, 0,05 y 0,1 µM), utilizándose en total 60 frascos. Durante esta etapa, los explantes fueron colocados a 25° C de temperatura, 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad y se evaluaron semanalmente; a los 45 días después del cultivo se evaluó las variables de los porcentajes de enraizamiento, el número de raíces, la longitud de raíces y la altura de plántulas in vitro (Figura 3a, 3b y 3c).

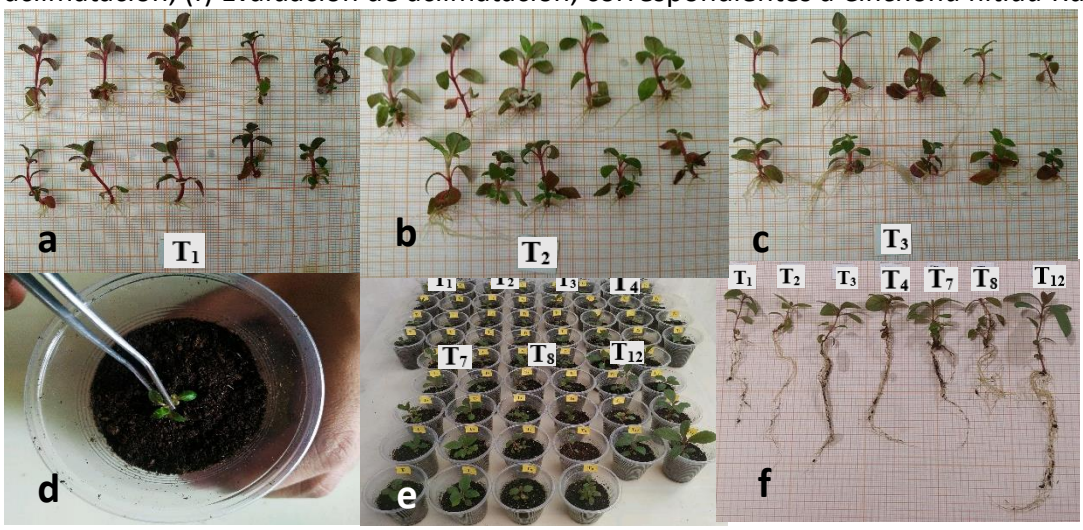
Fase de aclimatación de plántulas in vitro de quina

Esta actividad se realizó bajo condiciones de invernadero, se empleó 150 plantas in vitro de aproximadamente de 25 mm de tamaño, que procedían de los 7 mejores tratamientos de la fase de enraizamiento con una óptima formación de raíces (Figura 3e), con la finalidad de evaluar su respuesta durante la aclimatación, se utilizó 4,5 kg de sustrato comercial de turba y se trasplantó cada plántula in vitro en vasos descartables de plástico de 130 ml la cantidad aproximada de 33 gr (total de vasos empleados 150) (figura 3d), se aplicó una solución de fungicida Fosetil Aluminio 0,5 g L^{-1} y finalmente se les cubrió con vasos del mismo tamaño (Espinosa-Reyes *et al*., 2019). Transcurrido 60 días después del trasplante, se procedió con la evaluación final (Figura 3f), donde se evaluó las variables porcentaje de sobrevivencia, altura de plántula, número de hojas, ancho promedio de hojas, longitud promedio de hojas y longitud de raíces.

Análisis estadístico de datos

Se aplicó el diseño de bloques completamente al azar, con análisis de varianza (ANOVA) para muestras independientes y se establecieron diferencias significativas con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0,05; las variables evaluadas son paramétricas y corresponden al tipo discreto y continuo.

Figura 3. (a, b y c) Evaluación del enraizamiento *in vitro*, (d) Trasplante, (e) Tratamientos de aclimatación, (f) Evaluación de aclimatación, correspondientes a *Cinchona nitida* Ruiz & Pav.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de multiplicación de brotes de quina

Los datos alcanzados del peso de explantes de los doce tratamientos durante las semanas 2, 4, 6 y 8 en la fase de multiplicación (Tabla 1), mediante el análisis de varianza ($p > 0,05$) existe diferencia significativa entre tratamientos, observándose que en la semana 2 el tratamiento T6 (0,5 µM ANA + 2 µM BAP) presentó el valor más alto, con 0,44 g entre todos los tratamientos; durante la semana 4, el tratamiento T12 (1 µM ANA + 8 µM BAP) presentó el valor más alto de peso promedio con 0,95 g, en la semana 6 el tratamiento T8 (0,5 µM ANA + 8µM BAP) presentó el valor más alto en peso con 2,08 g y finalmente en la semana 8, los tratamientos T4 (0 µM ANA + 8 µM BAP), T8 (0,5 µM ANA + 8 µM BAP) y T12 (1 µM ANA + 8 µM BAP) presentaron los valores más altos en peso con 4,17, 4,18 y 4,30 g respectivamente.

.

Tabla 1. Peso de brotes/explante de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. en 12 tratamientos combinados de ANA y BAP a partir de un peso promedio inicial de 0,02 g, durante 8 semanas, en condiciones de laboratorio, Arequipa, Perú

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Evaluación semanal de peso promedio (g)			
	ANA (µM)	BAP (µM)	2	4	6	8
T1*	0	0	0,22 de	0,24 e	0,32 gh	0,45 e
T2	0	2	0,20 def	0,36 df	0,49 defg	0,80 c
T3	0	4	0,21 de	0,43 d	0,66 de	1,26 bc
T4	0	8	0,30 bc	0,76 b	1,79 b	**4,17 a**
T5	0,5	0	0,09 g	0,10 f	0,16 h	0,21 e
T6	0,5	2	**0,44 a**	0,57 c	0,63 de	0,80 d
T7	0,5	4	0,20 def	0,43 d	0,68 d	1,29 bc
T8	0,5	8	0,36 b	0,85 ab	**2,08 a**	**4,18 a**
T9	1	0	0,13 g	0,32 de	0,40 fg	0,47 e
T10	1	2	0,26 cd	0,59 c	1,06 c	1,55 b
T11	1	4	0,14 fg	0,31 de	0,56 def	1,18 c
T12	1	8	0,34 b	**0,95 a**	1,81 b	**4,30 a**

Letras diferentes en la columna y para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (alfa = 0,05)
* Tratamiento control

Se observa un incremento de peso (Tabla 1), a medida que transcurren las semanas, especialmente en la semana 8, donde los tratamientos presentan incrementos de peso que superan de 10 a 200 veces más su peso inicial; así mismo en la semana 8, los tratamientos que contenían la concentración de 8 µM de BAP, fueron los que mayor peso obtuvieron, esta concentración mantiene similitud con la empleada por Lima *et al*. (2018), la cual les permitió obtener el mejor resultado en cuanto al número de brotes y de igual manera en el presente estudio para el caso del peso de explantes y por consiguiente en el número de brotes.

En cuanto al número de brotes obtenidos de los doce tratamientos en la fase de multiplicación, mediante el análisis de varianza (p > 0,05), existe diferencia significativa entre tratamientos; donde T12 (1 µM ANA + 8 µM BAP), T8 (0,5 µM ANA + 8 µM BAP) y T4 (0 µM ANA + 8 µM BAP) obtuvieron los mejores resultados con 8,86, 8,02 y 7,86 brotes, respectivamente (Tabla 2). Los

resultados permiten afirmar que la adición de citoquinina BAP sola o combinada con la auxina ANA en el medio de cultivo tuvo un efecto positivo en la formación de nuevos brotes, resultados que también fueron logrados en otras especies forestales. Por ejemplo, Suárez y Avila (2006), en la multiplicación *in vitro* de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC, obtuvo el mayor número de brotes cuando el medio contenía las concentraciones más altas de BAP (4,4, 8,8 y 17,76 µM) en comparación con aquellos explantes que fueron cultivados empleando la dosis más baja de BAP (2,22 µM). Por otro lado, Núñez *et al*. (2017), obtuvo los valores más altos con respecto al efecto del BAP, sólo o combinado con ANA en la generación de nuevos brotes de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) Kuntz especialmente con la combinación 1 mg/L (4 µM) de BAP + 0,1 mg/L (5 µM) de ANA, Tiwari *et al* (2002), pudieron obtener el mayor número de brotes durante la multiplicación de *Tectona grandis* L. cuando el medio contenía la combinación de BAP (22,2 µM) y AIB (0,57 µM), similar resultado obtuvo Carranza *et al*. (2014) al combinar BAP (4,4 µM) y AIB (5 µM), permitiéndole obtener 70% de brotes en la propagación *in vitro* de *Swietenia macrophylla* King in Hook, lo que concuerda con lo que define Pierik (1987) que las citoquininas promueven la división celular en particular si se combina con una auxina.

Tabla 2. Número y longitud de brotes a los 60 días en la multiplicación *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. en 12 tratamientos combinados de citoquina y auxina, en condiciones de laboratorio, Arequipa, Perú

Tratamiento	Reguladores de crecimiento		Número de brotes	Longitud de brotes (mm)
	ANA (µM)	BAP (µM)		
T1*	0	0	1,00 d	**19,00 a**
T2	0	2	3,96 bc	10,00 b
T3	0	4	5,44 bc	10,4 b
T4	0	8	**7,86 a**	12,20 b
T5	0,5	0	1,00 d	**17,20 a**
T6	0,5	2	3,78 c	10,00 b
T7	0,5	4	4,60 bc	10,20 b
T8	0,5	8	**8,02 a**	11,2 b
T9	1	0	1,00 d	**18,4 a**
T10	1	2	6,06 b	9,8 b
T11	1	4	5,94 b	10,6 b
T12	1	8	**8,86 a**	11.00 b

Letras diferentes en la columna y para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo la prueba de Tukey (alfa = 0,05)
* Tratamiento control

De acuerdo al análisis de varianza (p > 0,05) realizado a los doce tratamientos; se puede observar que existe diferencia significativa con respecto a la longitud de los brotes (Tabla 2), donde los tratamientos T1 (0 µM ANA + 0 µM BAP), T9 (1 µM ANA + 0 µM BAP) y T5 (0,5 µM ANA + 0 µM BAP) presentaron los mejores resultados (19; 18,4 y 17,2 mm respectivamente). Para el caso de esta variable se logra notar que, aquellos tratamientos con la adición de citoquinina BAP presentaron menor longitud de brotes en comparación con aquellos tratamientos sin la adición de citoquinina. Similar resultado obtuvo Jiménez *et al*. (2020), en la multiplicación *in vitro* de *Buddeleja incana* Ruiz & Pav, el medio de cultivo que no contenía BAP mostró el mejor resultado respecto a la altura de brote. En el presente estudio, el tratamiento que generó la mayor cantidad de brotes por explante no presentó la mayor longitud de brotes, parecido a lo obtenido por Huamán *et al*. (2012) el tratamiento que estaba conformado por 1 mg/L (4,4 µM) de BAP presentó mayor cantidad de nudos, pero menor

altura de explante, debido a que las citoquininas disminuyen la dominancia apical Pierik (1987). Estos resultados difieren a lo reportado por Cavazos-Galindo *et al*. (2018) en la propagación *in vitro* de *Vitis vinífera* L., donde el tratamiento que presentó los valores más altos para el número de brotes, también presentó la mayor longitud de brotes. Por otro lado, se calculó el coeficiente de correlación entre los valores de las variables peso de brotes (Tabla 1) y el número de brotes (Tabla 2) de la semana 8, obteniéndose como resultado 0,88 entre ambas variables y tomando en cuenta la interpretación realizada por Martínez *et al*. (2009), el resultado indicaría ser una relación positiva y según Dagnino (2014) cuanto más próximo a 1 mayor será la fuerza de asociación entre las variables, lo que permite afirmar que a medida que incrementa el peso lo mismo sucederá con el número de brotes.

A continuación, se muestra los resultados a nivel de citoquinina y auxina (Tabla 3). Para el caso de la citoquinina, existe diferencias significativas entre las concentraciones empleadas, en el que la concentración 8 µM BAP presentó el mejor resultado con 8,25 brotes. Por medio de la técnica *in vitro* y haciendo uso de concentraciones apropiadas se puede conseguir la generación de yemas axilares, con lo que se podrá contar con material ya sea para nuevas investigaciones o para producir nuevas plantas (Eras-Guamán *et al*., 2019a). En el caso de la auxina, existe diferencia significativa entre las concentraciones empleadas, en el que la concentración 1 µM ANA permitió el mejor resultado con 5,47 brotes.

Tabla 3. Número de brotes a los 60 días después de la siembra a nivel de Citoquinina y Auxina en la multiplicación *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav., en condiciones de laboratorio, Arequipa, Perú

Citoquina	Concentración BAP	Promedio N° brotes	Auxina	Concentración ANA	Promedio N° brotes
C4	8 µM	8,25 a	**A2**	1 µM	5,47 a
C3	4 µM	5,33 b	**A1**	0 µM	4,57 ab
C2	2 µM	4,60 b	**A3**	0,5 µM	4,35 b
C1	0 µM	1,00 c			

Letras diferentes en la columna y para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (alfa = 0,05)

Fase de enraizamiento de brotes de quina

En relación al porcentaje de enraizamiento de los doce tratamientos (Tabla 4), según el análisis de varianza (p > 0,05); los tratamientos presentaron diferencias significativas, donde T2 (0,5 µM ANA + 0 µM BAP) y T3 (1,0 µM ANA + 0 µM BAP) presentaron los mejores resultados 98 y 100% respectivamente, frente a los tratamientos T5 (0 µM ANA + 0,05 µM BAP), T9 (0 µM ANA + 0,1 µM BAP) y T10 (0,5 µM ANA+0,1 µM BAP) que presentaron el valor promedio más bajo del 0%. Al analizar los datos se pudo comprobar que es necesaria la adición de la auxina ANA para incrementar el porcentaje de enraizamiento. Similar resultado se pudo evidenciar en el estudio realizado por Criollo y Delgado (2016), cuando utilizaron las concentraciones de 0,0 mg L^{-1} (0 µM), 0,5 mg L^{-1} (2,5 µM) y 1,0 mg L^{-1} (5 µM) de AIB, sin la presencia de BAP, obtuvieron porcentajes de enraizamiento del 93, 100 y 93,3 % respectivamente; posteriormente Eras-Guamán *et al*. (2019a), obtuvieron el porcentaje más alto cuando empleó 2 mg/L (10 µM) de AIB. Aquellos tratamientos en donde estuvo presente la citoquinina BAP (Tabla 4) presentaron un porcentaje muy bajo de enraizamiento, resultado que se contrasta con lo obtenido por Barragán-Zúñiga *et al*. (2020) en la propagación *in vitro* de *Quercus sideroxyla* Bonpl., en el cual lograron porcentajes de enraizamiento entre el 14,28 y 20% con las combinaciones de 1,0 mg L^{-1} (5 µM) ANA + 0,1 mg L^{-1} (0,44 µM) BAP y 2,0 mg L^{-1} (10 µM) ANA + 0,2 mg L^{-1} (0,88 µM) BAP, respectivamente.

El número de raíces obtenidos de los doce tratamientos en la fase de enraizamiento según el análisis de varianza (p > 0,05); los tratamientos presentaron diferencias significativas, donde T3 (1 µM ANA + 0 µM BAP), T4 (1,5 µM ANA + 0 µM BAP) y T2 (0,5 µM ANA + 0 µM BAP) muestran los mejores resultados con 7,9; 7,5 y 6,8 raíces respectivamente (Tabla 4). Se pudo notar en el presente estudio que al estar ausente la auxina hubo formación de raíces, pero en menor cantidad y la adición de la misma propició el incremento del número de raíces, esto se corrobora con lo obtenido por Raya-Montaño *et al*. (2011), al estar ausente ANA se reduce el número de raíces mientras que su aplicación favorece el aumento en la fase de enraizamiento de *Laelia habingeriana* Salazar & Soto Arenas, lo mismo ocurre con *Tectona grandis* L., donde Polo *et al.* (2017), pudieron conseguir formación de raíces sin adicionar auxina al medio pero en menor cantidad comparado con aquellos tratamientos que contenían diferentes concentraciones de AIB. De acuerdo con nuestros resultados se afirma que en algunas especies es posible el enraizamiento sin la presencia de auxinas, ya sea porque contienen o acumulan auxinas endógenas, pero si se quiere mejorar el número y longitud de raíces es necesario adicionar auxinas al medio de cultivo. Sin embargo, estos resultados difieren a los obtenidos por Eras-Guamán *et al*. (2021), durante el enraizamiento de *Cinchona officinalis* L, en su ensayo que no presentaba auxina no formó ninguna raíz y sólo el tratamiento que le permitió formación de 4,67 raíces fue el que contenía 0,5 mg (2,5 µM) de AIB + 0 mg (0 µM) de BAP y al aumentar la concentración de la auxina tampoco pudieron obtener raíces. Moreno *et al*. (2019), en el enraizamiento *in vitro* de *Cinchona officinalis* L. al emplear 1,0 mg L^{-1} (5 µM) de ANA les permitió obtener el más alto valor de número de raíces por explante (5,31), también se pudo evidenciar que este tratamiento no necesariamente presentó la mayor longitud de raíces, la mayor altura de brotes y el mayor número de hojas. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado, diferenciándose sólo en aquellos tratamientos donde se obtuvo el mayor

número de raíces, en los que también presentaron la mayor longitud de raíces. Se puede observar en la Tabla 4, los tratamientos que presentaron los valores más altos en el porcentaje de enraizamiento también presentaron el mayor número de raíces.

Tabla 4. Resultados a los 45 días del enraizamiento *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. en 12 tratamientos combinados de citoquinina y auxina, en condiciones de laboratorio Arequipa, Perú

Tratamiento	Reguladores de crecimiento		Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud de raíces (mm)	Altura de plántulas in vitro (mm)
	ANA (µM)	BAP (µM)				
T1*	0	0	84% b	4,42 b	**15,60 a**	20,00 bcd
T2	0,5	0	**98% a**	**6,76 a**	**17,40 a**	18,40 cd
T3	1,0	0	**100% a**	**7,86 a**	**17,60 a**	19,40 bcd
T4	1,5	0	94% ab	7,48 a	**12,80 a**	17,20 c
T5	0	0,05	0% e	0,00 c	0,00 c	20,80 bcd
T6	0,5	0,05	12% de	0,34 c	1,40 bc	21,60 bcd
T7	1,0	0,05	26% c	0,80 c	4,40 bc	23,60 abc
T8	1,5	0,05	28% c	0,86 c	6,40 b	21,60 bcd
T9	0	0,1	0% e	0,00 c	0,00 c	**27,40 a**
T10	0,5	0,1	0% e	0,00 c	0,00 c	20,20 bcd
T11	1	0,1	8% de	0,20 c	1,40 bc	24,80 ab
T12	1,5	0,1	16% cd	0,34 c	2,80 bc	**27,60 a**

Letras diferentes en la columna y para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (alfa = 0,05)

* Tratamiento control

Respecto a la longitud de raíces de los doce tratamientos (Tabla 4), según el análisis de varianza ($p > 0,05$); los tratamientos presentaron diferencias significativas, donde T3 (1 µM ANA + 0 µM BAP), T2 (0,5 µM ANA + 0 µM BAP), T1 (0 µM ANA + 0 µM BAP) y T4 (1,5 µM ANA + 0 µM BAP) presentaron los mejores resultados (17,6, 17,4, 15,6 y 12,8 mm respectivamente). Cabe señalar, que el tratamiento T4 (Tabla 4) empieza a presentar una disminución en la longitud de raíz debido a que presenta la mayor concentración de ANA. Por lo que se puede aseverar que las mayores longitudes de raíces fueron obtenidas empleando bajas concentraciones de la auxina ANA. Este efecto positivo fue reportado de manera similar por Uribe *et al*. (2012), al emplear 1 mg/L de ANA o AIB las raíces presentaron mayor longitud en tanto que al

incrementar la concentración a 2 y 3 mg/L de ANA o AIB ocurrió lo contrario y también concuerda con lo que expresa Pierik (1987), las auxinas a bajas concentraciones inducirán la formación de raíces y se producirá un efecto contrario con altas concentraciones de auxina. La altura de plántula in vitro de los doce tratamientos (Tabla 4), según el análisis de varianza (p > 0,05); muestra que los tratamientos presentaron diferencias significativas, donde T12 (1,5 µM ANA + 0,1 µM BAP) y T9 (0 µM ANA + 0,1 µM BAP) presentaron los mejores resultados con 27,6 y 27,4 mm respectivamente. Se pudo obtener en el presente estudio, que aquellos tratamientos que presentaron el mayor número y longitud de raíces disminuyeron la altura de plántulas in vitro y número de hojas. Campos-Ruiz *et al*. (2020) mencionan que es importante que las plántulas in vitro tengan un buen número de raíces y longitud de raíces, para que estas puedan sobrevivir durante la aclimatación y también cuando se tengan que trasplantar al campo definitivo.

Fase de Aclimatación de plántulas in vitro de quina

Los resultados obtenidos en la fase de aclimatación (Tabla 5), mediante el análisis de varianza (p > 0,05), existen diferencias significativas entre tratamientos; donde T2, T4, T7 y T12 provenientes de la fase de enraizamiento presentaron los mejores resultados alcanzando el 100 % de sobrevivencia. Con esto se demuestra que las plántulas in vitro de quina pudieron superar el cambio de las condiciones *in vitro* a condiciones naturales, ello se debe a la selección adecuada de plántulas in vitro, como lo mencionan Espinosa-Reyes *et al*. (2019), tanto el tamaño y la calidad de las mismas, son factores que se deben tomar en cuenta durante la aclimatación, lo cual proporcionará resultados positivos en relación con la sobrevivencia, rápido desarrollo y producción en campo. En cambio, Ramos *et al*. (2017) pudieron obtener un 100 % de sobrevivencia en todos los tratamientos, cabe mencionar que los sustratos que usó pasaron por un proceso de esterilización. De otro lado está el uso de un sustrato que

proporcione las características ideales para que puedan desarrollarse las plántulas in vitro, manteniendo humedad, proporcionando aireación y dejándolas libre de agentes patógenos. Esto se puede lograr con el uso del sustrato comercial a base de turba, el cual tras haber pasado por estándares de calidad asegura dichas características y esto se comprueba con lo que obtuvo Bascuñán (2021), durante la aclimatación de *Aristotelia chilensis*, al emplear un sustrato poroso a base de turba perlita se consiguió que las plántulas in vitro pudieran captar agua y nutrientes y por consiguiente el crecimiento de las mismas; del mismo modo, al mantener una alta humedad en el ambiente se evita el estrés que se pueda generar al trasplante, lo mencionado se corrobora con el trabajo realizado por Arbeloa *et al*. (2018), quien indicó que en la fase de aclimatación de *Pistacia atlantica* obtuvieron un porcentaje de sobrevivencia cercana al 100 % debido a que emplearon buenas condiciones de humedad y temperatura.

Tabla 5. Resultados de variables evaluadas en la aclimatación de plántulas *in vitro* de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav. provenientes de 7 tratamientos de enraizamiento en condiciones de invernadero, Arequipa, Perú.

Tratamientos provenientes del enraizamiento			% de sobrevivencia	Altura de plántula (mm)	Número de hojas	Ancho promedio de hojas (mm)	Longitud promedio de hojas (mm)	Longitud de raíces (mm)
	ANA(µM)	BAP (µM)						
T1	0	0	96,55%	33,6 b	9,00 b	6,11 bcd	10,19 bc	67,1 ab
T2	0,5	0	100%	31,8 b	9,00 b	5,46 d	9,17 bc	57,8 b
T3	1	0	96,55%	38,9 ab	8,40 b	7,18 abc	12,27 ab	75,7 ab
T4	1,5	0	100%	28,8 b	7,80 b	6,18 bcd	10,18 bc	60,5 ab
T7	1	0,05	100%	39,7 ab	10,20 ab	7,45 ab	12,08 abc	72,0 ab
T8	1,5	0,05	92,86%	37,7 b	14,20 a	5,64 cd	8,77 c	67,7 ab
T12	1,5	0,1	100%	51,6 a	9,25 ab	8,54 a	15,56 a	97,6 a

Letras diferentes en la columna y para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (alfa = 0,05).

Con relación a la altura de plántula (Tabla 5), se observan diferencias significativas; siendo el tratamiento T12 el que obtuvo el mayor incremento de altura. Analizando el número de hojas, se puede comprobar que el tratamiento T8 presenta una diferencia significativa, es posible

que este incremento de hojas esté relacionado debido a que en la fase de enraizamiento este tratamiento contenía una alta concentración de citoquinina BAP respecto a la auxina ANA; ello permitió que las plántulas in vitro acumularan esta citoquinina, observándose durante las evaluaciones desarrollo de brotes laterales, que generaron un aumento de hojas. Se puede ver (Tabla 5) que el tratamiento T12 muestra los mejores resultados respecto a las variables ancho y longitud promedio de hojas. Con relación a la variable longitud de raíces, el tratamiento T12 presenta también el mejor resultado, lo que puede estar relacionado con la calidad de la plántula in vitro, ya que en la evaluación realizada durante el enraizamiento se pudo ver que estas presentaban tallos más gruesos y hojas anchas. Por otro lado, a este resultado le sigue los tratamientos T1, T3, T4, T7 y T8 los mismos que durante la fase de enraizamiento presentaron la mayor cantidad de raíces, lo que puede estar influenciando en dicho resultado. Probar la combinación de auxina y citoquinina que generó la mayor proliferación de brotes en *Cinchona nitida* Ruiz & Pav, en la fase de multiplicación en otras especies de quina y evaluar el porcentaje de enraizamiento a medida que aumentan los subcultivos, empleando el tratamiento de enraizamiento que permitió el mejor resultado con el fin de lograr una propagación masiva de plantas.

Impacto y aplicación práctica

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que es posible establecer un protocolo eficiente de propagación in vitro de *Cinchona nitida* Ruiz & Pav., lo cual representa una herramienta biotecnológica importante para la conservación de esta especie emblemática. La combinación óptima de reguladores de crecimiento identificada, permite una producción masiva de plántulas in vitro con alto porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia en fase de aclimatación, lo que facilita su uso en programas de reforestación y restauración ecológica.

Estos resultados pueden ser replicados en iniciativas de reforestación en distintas regiones del Perú donde la quina ha sido históricamente sobreexplotada o se encuentra en riesgo de desaparecer. Además, la micropropagación garantiza la producción de material vegetal libre de patógenos y con buen potencial de adaptación, lo cual es fundamental en zonas de difícil acceso o degradadas por la actividad humana. De este modo, se contribuye no solo a la conservación de la biodiversidad nativa, sino también al fortalecimiento de ecosistemas forestales, la mitigación del cambio climático y el rescate del valor cultural de la quina como símbolo nacional.

Limitaciones del estudio

Si bien los resultados obtenidos en laboratorio e invernadero bajo condiciones controladas son prometedores, sin embargo, es necesario considerar algunas limitaciones. No se pudo verificar el comportamiento de las plántulas in vitro en ambientes naturales, ello debido a que las condiciones edafoclimáticas de la región de Arequipa, no son las más adecuadas para el desarrollo y adaptación de esta especie en campo abierto. Por tanto, se recomienda que futuras investigaciones consideren la evaluación del prendimiento, sobrevivencia y adaptabilidad de plantas de quina in vitro, bajo condiciones naturales, en distintos pisos ecológicos donde esta especie crece de forma nativa.

CONCLUSIONES

El medio *Woody Plant* suplementado con la mayor concentración de citoquinina 8 µM de BAP en combinación con la auxina 1 µM de ANA generó la mayor proliferación de brotes con 8,86. La adición de la auxina ANA en el medio de cultivo es necesaria para la formación de raíces, siendo la concentración 1 µM de ANA la adecuada para obtener el 100% de enraizamiento. Se logró la aclimatación de plántulas in vitro enraizadas, en condiciones de invernadero, con un

alto porcentaje de sobrevivencia del 100% lo que permitirá continuar con la propagación masiva de plántulas para implementar programas de reforestación y conservación.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a Sociedad Minera Cerro Verde, empresa minera que hizo posible la realización de la investigación a través del contrato N° 37031903237 – CLS-236-2019. A Eduardo Molinari Novoa por la revisión crítica del manuscrito y al Ing. Alonso Astete Maldonado por su revisión y orientación en la parte estadística.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alcántara, J., Castilla, M., Sánchez, R. (2017) Importancia de los cultivos vegetales *in vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias*, 1(1).

Arbeloa, A., García, E., Lorente, M. P., Andreu, P., Marín, J. A. (2018) Micropropagación del pistacho: pros y contras. *Revista de Fruticultura,* 64: 120-133.

Armijos-González, R., Pérez-Ruiz, C. (2016) Germinación *in vitro* y proliferación de brotes de la especie amenazada *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae). *Revista de investigación forestal*, 27 (6): 1229-1236.

Arreaga, E., Castro, C., Gutiérrez, X., Guerrero, J., García, M. (2019) Importancia agroecológica de los cultivos forestales en la parroquia Febres Cordero, provincia de Los Ríos. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales* (septiembre 2019).

Barragán-Zúñiga, J., Rocha-Guzmán, N. E., Montoya-Ayón, J. B., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., Sigala-Rodríguez, J. Á., *et al*. (2020) Propagación *in vitro* de *Quercus sideroxyla* a partir de bellotas maduras. *Agrociencia*, 54 (1): 129-145.

Bascuñán, D. (2021) *Propagación in vitro de maqui (Aristotelia chilensis) mediante condiciones autotróficas.* (Tesis de Postgrado) Universidad de Talca (Chile). Facultad de Ciencias Agrarias, Talca, Chile. 38.

Campos-Ruiz, J., Arteaga-Cuba, M., Campos-Ruiz, S., Chico-Ruíz, J., Cerna-Rebaza, L. (2020) Establecimiento de un protocolo de desinfección y micropropagación *in vitro* de "caoba" *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). *Arnaldoa*, 27 (1): 141-156. http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27107

Campos-Ruiz, J., Campos-Ruiz, S., Cerna-Rebaza, L., Chico-Ruíz, J. (2016) Germinación de semillas de quina, *Cinchona pubescens* Vahl. con ácido giberélico, nitrato de potasio y agua de coco. *Revista Científica Pakamuros*, 4 (1): 13. https://doi.org/10.37787/pakamuros-unj.v4i1.38

Canales, N. A., Hansen, T. N. G., Cornett, C., Walker, K., Driver, F., Antonelli, A., Maldonado, C., Nesbitt, M., Barnes, C., Ronsted, N. (2020) Historical chemical annotations of Cinchona bark collections are comparable to results from current day high-pressure liquid chromatography technologies. *Journal of ethnopharmacology*, 249, 112375. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112375

Caraguay-Yaguana, K., Eras-Guaman, V., Gonzales-Zaruma, D., Moreno-Serrano, J., Minchala-Patiño, J., Yaguana-Arevalo, M. y Valarezo-Ortega, C. (2016) Potencial reproductivo y análisis de calidad de semillas de *Cinchona officinalis* L., provenientes de relictos boscosos en la Provincia de Loja–Ecuador. *Revista Investigaciones Altoandinas*, 18 (3): 271-280.

Carranza, M., Escobar, A., Reyes, H., Morante, J., Nieto, J., Lorena, M., Cevallos, O. y Mora, W. (2014) Propagación clonal *in vitro* de *Swietenia macrophylla* king (caoba). *Ciencia y Tecnología*, 6 (2): 1-8. https://doi.org/10.18779/cyt.v6i2.133

Cavazos-Galindo, J. M., Alvarado-Gómez, O. G., Santos-Haliscak, J. A., Moreno-Degollado, G., Rodríguez Fuentes, H., Ojeda-Zacarías, M. D. C. (2018) Propagación clonal de dos

cultivares adultos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su conservación *in vitro*. *Polibotánica*, (45), 181-190. https//doi.org/10.18387/polibotánica.45.13

Conde, M., Moreno, J., Eras, V., Minchala, P., Gonzáles, D., Yaguana, M., Valarezo, C. (2017) Multiplicación sexual y asexual de *Cinchona officinalis* L., con fines de conservación de la especie. *Tzhoecoen*, 9 (1): 81-93. https://doi.org/10.26495/rtzh179.121509

Criollo, H., Insuasti, K., Delgado, W. (2016) *In vitro* regeneration of tamarillo (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10 (2): 252-261. https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5750

Dagnino, J. (2014) Coeficiente de correlación lineal de Pearson. *Chil Anest*, 43 (1): 150-153.

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

Eras-Guamán, V., Moreno-Serrano, J., Méndez-Montaño, K., Yaguana-Arévalo, M., Angamarca, R. A. P. (2019b) Procesos biotecnológicos para la formación de callos y estructuras de novo de *Cinchona officinalis* L. provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9 (2): 20-28.

Eras-Guamán, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R., Cueva, C. (2021) Inducción *in vitro* de raíces de *Cinchona officinalis* L., a partir de vitroplantas. *Bosques Latitud Cero*, 11 (2): 43-52. https://doi.org/10.54753/blc.v11i2.1006

Espinosa, C., Ríos, G. (2014) Patrones de crecimiento de *Cinchona officinalis in vitro* y ex vitro; respuestas de plántulas micropropagadas y de semillas. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 35 (1-2): 73-82. https://doi.org/10.26807/remcb.v35i1-2.250

Espinosa-Reyes, A., Silva-Pupo, J. J., Bahi-Arevich, M., Romero-Cabrera, D. (2019) Influencia del tamaño de las plantas *in vitro* y tipo de sustrato en la aclimatación de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 42 (1): 23-29.

Gómez, A., Beraun, L. A., Gómez, O. J., Llatas, E. (2016) *Identificación de la regeneración natural de la quina roja o cascarilla Cinchona Pubescens Vahl, por la morfología de sus estadios naturales en el Bosque de Neblina de Upaypitec, distrito de Kañaris, región Lambayeque*. Dispinible en: http://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/380

Huamán, L., Albán, J., Chilquillo, E. (2019) Aspectos taxonómicos y avances en el conocimiento del estado actual del árbol de la quina (*Cinchona officinalis* L.) en el norte de Perú. *Ecología Aplicada*, 18 (2): 145-153. http://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i2.1333

Huamán, X. Ruíz-Sánchez, M.E., Guerrero-Abad, J.C., Pichis-García, R., García, L., Solis, R. (2012) Propagación *in vitro* de segmentos nodales de cedro (*Cedrela odorata* L.) obtenidos a partir de semillas botánicas. *Folia Amazónica*, 21(1-2): 109-114. https://doi.org/10.24841/fa.v21i1-2.39

Jiménez, P., Barrera, P., Huachi, L. E., Vera, A., Caicedo, C. (2020) Propagación *in vitro* de Quishuar (*Buddleja incana* Ruíz & Pav). *LA GRANJA*. *Revista de Ciencias de la Vida*, 31(1): 61-71. https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.05

Jiménez-Terry, F. Agramonte, D. (2013) Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Biotecnología vegetal*, 13 (1).

Lima, N., Moreno, J., Eras-Guamán, V., Minchala, J., González, D., Yaguana, M., Valarezo, C. (2018) Propagación *in vitro* de *Cinchona officinalis* L. a partir de semillas. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20 (2): 169-178. http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.361

Maldonado, C., Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, R. W., Zenteno-Ruiz, F. S. Fuentes, A. F. (2020) La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la

cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, 55 (1): 1-5.

Martínez, R. M., Tuya, L. C., Martínez, M., Pérez, A. Cánovas, A. M. (2009) El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman caracterización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 8 (2): 0-0.

Moreno, J. A., Pérez, C., Moreno, I. Moreno, J. (2019) Effect of culture medium on morphogenic processes *in vitro* in *Cinchona officinalis* L. *Revista De La Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 51 (1): 55-68.

Núñez, J., Quiala, E., de Feria, M., Mestanza, S., Teanga, S. (2017) Propagación *in vitro* de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz a partir de yemas axilares de árboles plus seleccionados. *Biotecnología Vegetal*, 17(2).

Polo, J., Suarez, I., Gatti, K. (2017) Micropropagación de *Tectona grandis* L. f. a partir de meristemos preexistentes. *Temas agrarios*, 18 (2): 83-93.

Pierik. R. (1987) *In vitro* culture of higher plants, 67.

Pucha-Cofrep, D., Rodríguez, J., Rey, Y., Macas, F., Aguinsaca, F., Chocho, A. (2020) El consumo de *Cinchona officinalis* durante la emergencia sanitaria COVID-19 en la provincia de Loja, Ecuador. *Bosques Latitud Cero*, 10 (2): 161-174.

Ramos, R. A., Cárdenas, A. M., Vera, R. R., Limongi, J. R., Grijalva Olmedo, J. E. (2017) Propagación *in vitro* de tres especies del género Paulownia bajo el sistema de propagación convencional. *Quebracho (Santiago del Estero),* 25 (2): 69-79.

Raya-Montaño, Y., Carrillo-Castañeda, G., Pedraza-Santos, M., Corona-Torres, T., Carrillo-Salazar, J., Alcantar-Gonzales, G. (2011) Propagación *in vitro* de *Laelia halbingeriana*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2 (SPE3): 539-553.

Rosas, J. Y. (2022). La extinción del árbol de la quina por la actividad agrícola a propósito de la tradición «Los polvos de la condesa». El Palma de la Juventud, 4(4), 161-175. https://doi.org/10.31381/epdlj.v4i4.4882

Sánchez, T., Silva, G., Chichipe, A., Trigoso, M., Bobadilla, L., Jiménez, G. (2020) Influencia de sustratos y concentraciones de ácido indol butírico en la propagación vegetativa de *Cinchona officinalis* L. (quina) en Amazonas, Perú. *Revista cubana de ciencias forestales*, 8 (2): 241-251.

Suárez, I., Jarma, A., Avila, M. (2006) Desarrollo de un protocolo para propagación *in vitro* de roble (*Tabebuia rosea* Bertol DC). *Temas Agrarios*, 11 (2): 2006. https://doi.org/10.21897/rta.v11i2.645

Tiwari, S., Tiwari, K., Siril, E. (2002) An improved micropropagation protocol for teak. Plant Cell, *Tissue and Organ Culture*, 71 (1): 1-6.

Uribe, M., Ulloa, J., Delaveau, C., Sáez, K., Muñoz, F., Cartes, P. (2012) Influencia de las auxinas sobre el enraizamiento *in vitro* de microtallos de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. Gayana. *Botánica*, 69 (1): 105-112. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432012000100010