



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**  
**SEDE QUITO**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**ANÁLISIS MOLECULAR DEL GÉNERO *Gongora* (*Orchidaceae*), MEDIANTE EL  
GEN *MATK*, *RPOC1* Y *YCF1*, DE LAS ESPECIES REGISTRADAS EN EL  
ECUADOR.**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORES:**

MARTIN ENRIQUE ROJAS BRAVO

EMILY MICHELLE SILVA CANTOS

**TUTOR:** MARCO FERNANDO CERNA CEVALLOS

**Quito - Ecuador**

**2023**

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Nosotros, Martin Enrique Rojas Bravo con documento de identificación N° 1727324061  
y Emily Michelle Silva Cantos con documento de identificación N° 1724199276;  
manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de  
lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de  
manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 22 de febrero del año 2023

Atentamente,



-----  
Martin Enrique Rojas Bravo

C.I. 1727324061



-----  
Emily Michelle Silva Cantos

C.I. 1724199276

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Martin Enrique Rojas Bravo con documento de identificación No. 1727324061 y Emily Michelle Silva Cantos con documento de identificación No. 1724199276, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Análisis Molecular del Género *Gongora* (Orchidaceae), mediante el gen *matK*, *rpoC1* y *ycf1*, de las especies registradas en el Ecuador”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 22 de febrero del año 2023

Atentamente,



-----  
Martin Enrique Rojas Bravo

C.I: 1727324061



-----  
Emily Michelle Silva Cantos

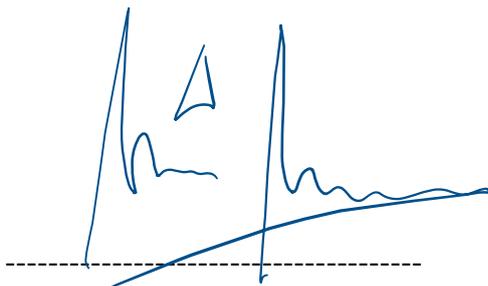
C.I: 1724199276

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Marco Fernando Cerna Cevallos con documento de identificación N° 0501872071, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Análisis Molecular del Género *Gongora* (Orchidaceae), mediante el gen *matK*, *rpoCl* y *ycf1*, de las especies registradas en el Ecuador”, realizado por Martin Enrique Rojas Bravo con documento de identificación N° 1727324061 y por Emily Michelle Silva Cantos con documento de identificación N° 1724199276, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 22 de febrero del año 2023

Atentamente,



Dr. Marco Fernando Cerna Cevallos, PhD.

C.I: 0501872071

## Dedicatoria

El presente proyecto va dedicado principalmente a *Dios*, nuestro creador, por otórganos voluntad, inspiración y sabiduría para cumplir nuestros objetivos y sueños en cada momento.

A mi padre, *Ángel Rojas* por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida, una figura inminente de responsabilidad y caballerosidad. A mi madre, *Leonor Bravo* por su eterno sacrificio, su bondad y su carisma en cada detalle y circunstancia de la vida. A mis hermanos, *Miguel Á. Rojas* y *Dario J. Rojas* por ser mis mejores amigos desde la cuna y brindar apoyo, consejos y compañía en todo momento, a mi sobrina *Danna Rojas*, que en un futuro encuentre su vocación y su pasión para hacer de este mundo un lugar mejor. En el ámbito personal, a mis amigos de la UPS, *Nicolay N.*, *Oscar E.*, *Grace P.*, *Santiago P.*, *Cristian M.*, *Isaac C.*, *Daysi V.*, *Edison T.*, *Danny S.*, *Ronny J.*, *Leonardo R.*, *Joseph S.*, cada salida de campo, viaje, aventura, sonrisa y lagrima permanecerá en la eternidad.

A todos los *biólogos*, *biotecnólogos*, *científicos*, profesionales de *Biociencias* que cada día están a la vanguardia de vislumbrar nuevos conocimientos, conocer los misterios del universo, de la naturaleza, en proteger la biodiversidad y el patrimonio genético de la humanidad.

*Martin Enrique Rojas Bravo*

Principalmente a *Dios*, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres, *Leyla Cantos* y *Juan Silva*, por haber sido mi pilar en todas las tomas de decisiones y haberme acompañado siempre de la mano en este duro camino. A *Alexandra Verdesoto*, *Rosa Silva*, *Maruja Cujano*, por la confianza que fue depositada en mí. A todos mis amigos, en especial a *Caroline Villacis*, *Karol Caicedo*, *Cristian Ron*, *Michael Molina*, *Santiago Tapia*, *Germania Vilaña*, *María F. Neto*, *Alison Freire*, *Kerly Santamaría*, *Melissa Rueda*, *Andrés Rivera*, *María José Masapanta*, *Camila Castillo* y *Byron Fuentes*, por su paciencia, comprensión y cariño en cada etapa del proceso. A *Anthony Revelo*, por estar conmigo en aquellos momentos en que el estudio y trabajo ocuparon mi tiempo y esfuerzo. A mis primos que son como mis hermanos y me han ayudado y apoyada cada curiosidad y diablura que eh tenido en mente. Para finalizar, se dice que nadie que alcance el éxito lo hace sin reconocer la ayuda de los demás, por eso, le agradezco a *Myrian Iza*, quien fue mi apoyo y cómplice en la institución donde laboro.

*Emily Michelle Silva Cantos*

## Agradecimiento

En primer lugar, queremos agradecer a la *Universidad Politécnica Salesiana* y la Carrera de *Ingeniería en Biotecnología* por abrirnos las puertas del conocimiento, brindar las herramientas y los recursos tangibles e inmateriales para ser *buenos cristianos y honrados ciudadanos*.

A nuestro tutor, *Dr. Marco Fernando Cerna Cevallos PhD.* por brindarnos la oportunidad de aprendizaje, conocimiento y pasión por el maravilloso mundo de las *orquídeas*, sin su tutela, su eterno carisma y valiosa experiencia en la Academia no hubiera sido posible la ejecución del trabajo.

Al *Grupo de Investigación Nunkui Wakan*, por gestionar el financiamiento para la ejecución del proyecto y brindar la oportunidad a colaboradores, docentes y estudiantes en enriquecer el aporte académico, científico-tecnológico y concluir la formación de futuros profesionales con sólidos conocimientos críticos, acertados y con fidelidad a la *Investigación y Desarrollo del Ecosistema UPS* en el área biotecnológica.

A la *Ing. Elizabeth Yugsi*, por su tiempo y experiencia en el área de *Biología Molecular* en el desarrollo experimental del presente proyecto. Al *MSc. Marco Ibarra, MSc. Denisse Benítez, MSc. Viviana Chiluisa, PhD. Elena Coyago, MSc. Gabriela Méndez, PhD. María E. Maldonado* por su apoyo, guía y consejo que enriqueció el desarrollo y culminación de la presente investigación.

Al *Laboratorio de Ciencias de la Vida* - y su talento humano: a la *MSc. Laura Huachi, Ing. Erika Paredes, Ing. Natalia Saravia, Ing. Johanna Meneses, Ing. Bryan Ramos, Ing. Gabriela Cisneros* por su gestión, colaboración y servicio en el lugar donde se materializo este sueño.

Finalmente, también agradecer a nuestros amigos y futuros colegas *Henry Solís, Christopher Álvarez, Jordán Almachi, Mateo Callatasig, Roberto Miranda, Fausto Torres, Sabrina Valencia* y *Sebastián Ocaña* quienes desinteresadamente brindaron su apoyo, consejo durante el desarrollo de la fase experimental, nuestra eterna gratitud a ustedes.

*Sic Parvis Magna: “La grandeza nace de pequeños comienzos”. Sir Francis Drake*

## Resumen

Ecuador es considerado como uno de los países con mayor índice de diversidad de organismos vegetales a nivel global, dentro de su delimitación geográfica se puede hallar a la familia Orchidaceae como una de las más representativas, abundantes y diversas de la región. Dentro de esta categoría, se encuentra el género *Gongora* que abarca alrededor de 60 a 70 especies descritas que se encuentran distribuidas en América del Sur, Centro América, parte de México y Estados Unidos. Las investigaciones de identificación molecular y filogenia de este género son escasas, por ello, para saber su origen, evolución, nicho ecológico y estado de conservación, se recopiló información previa sobre las especies descritas en Ecuador, que engloba alrededor de 20 especies que se distribuyen en ecosistemas como bosques andinos bajos, amazónicos y litorales y 6 de ellas son endémicas en nuestro país. En el presente estudio se trabajó con 12 muestras vegetales del género *Gongora*, se amplificaron las regiones cloroplásticas *matK*, *rpoC1* y *ycf1* mediante *PCR* convencional, los productos de *PCR* fueron secuenciados mediante el método *Sanger*, se realizó control de calidad y limpieza de las secuencias génicas en *FinchTV* V 1.5.0 y con ello se construyó un árbol filogenético con el método de estimación de *Máxima Verosimilitud* y el modelo evolutivo *Tamura-Nei*; Mediante filogenia y de georreferenciación se clasificó a las especies en los respectivos grupos y considerando al grupo externo, los cuales revelaron que los genes *matk* y *rpoC1* fueron regiones ADN *barcode* eficientes para la identificación a nivel de género en comparación con *ycf1* que posee alto índice de divergencia interespecífica; El análisis y depurado de las nuevas secuencias fue recopilado en la base de datos *GenBank – NCBI* para aumentar la información filogenética sobre el género de estudio y se complementó los datos biogeográficos de las distintas especies mediante georreferenciación con *ARCGIS* V 10.8.2 e información de la base de datos botánicos *Tropicos* V 3.4.0.

**Palabras clave:** *Gongora*, Orchidaceae, filogenia, ADN *barcode*, georreferenciación.

## Abstract

Ecuador is considered one of the countries with the highest index of diversity of plant organisms globally, within its geographical delimitation, the Orchidaceae family can be found as one of the most representative, abundant and diverse in the region. Within this category is the genus *Gongora*, which includes about 60 to 70 described species distributed in South America, Central America, part of Mexico and the United States. Research on molecular identification and phylogeny of this genus is scarce, therefore, in order to know its origin, evolution, ecological niche and conservation status, previous information was collected on the species described in Ecuador, which includes about 20 species distributed in ecosystems such as low Andean, Amazonian and coastal forests and 6 of them are endemic to our country. In the present study we worked with 12 plant samples of the genus *Gongora*, the chloroplastic regions *matK*, *rpoC1* and *ycf1* were amplified by conventional *PCR*, the *PCR* products were sequenced by the *Sanger* method, quality control and cleaning of gene sequences were performed in *FinchTV V 1.5.0* and with this a phylogenetic tree was constructed with the *Maximum Likelihood* estimation method and the *Tamura-Nei* evolutionary model; By means of phylogeny and georeferencing, the species were classified in the respective groups and considering the external group, which revealed that the *matk* and *rpoC1* genes were efficient *barcode* DNA regions for identification at genus level in comparison with *ycf1*, which has a high rate of interspecific divergence; The analysis and refinement of the new sequences was compiled in the *GenBank NCBI* database to increase the phylogenetic information on the study genus and the biogeographic data of the different species were complemented by georeferencing with *ARCGIS V 10.8.2* and information from the *Tropicos* botanical database V 3.4.0.

**Keywords:** *Gongora*, Orchidaceae, phylogeny, DNA *barcode*, georeferencing

## Índice de contenido

1. Introducción .....	1
2. Marco Teórico.....	4
2.1. Familia Orchidaceae .....	4
2.1.1. Importancia de las orquídeas.....	5
2.1.2. Clasificación.....	5
2.1.2.1. Orquídeas Terrestres .....	5
2.1.2.2. Orquídeas Epífitas .....	6
2.2. Género <i>Gongora</i> .....	6
2.2.1. Distribución geográfica.....	7
2.2.2. Taxonomía.....	7
2.2.3. Morfología floral .....	8
2.2.4. Especies registradas en el Ecuador.....	10
2.2.5. Polinizadores .....	10
2.4. Técnicas moleculares.....	13
2.4.1. Barcoding.....	13
2.5. Marcadores moleculares a estudiar.....	13
2.5.1. Gen <i>matK</i> .....	14
2.5.2. Gen <i>rpoC1</i> .....	15

2.5.3.	Gen <i>ycf1</i> .....	15
2.6.	Filogenia.....	16
3.	Materiales y métodos.....	17
3.1.	Recolección y preparación.....	17
3.2.	Georreferenciación.....	17
3.3.	Estudio molecular.....	26
3.3.1.	Extracción de ADN.....	26
3.3.1.1.	Protocolo Directo.....	27
3.3.1.2.	Protocolo Modificado de Doyle y Doyle 1987.....	28
3.3.2.	Evaluación cualitativa de ADN.....	29
3.3.3.	Amplificación de ADN.....	30
3.3.4.	Secuenciación.....	32
3.3.4.1.	Purificación de los productos de PCR con ExoSAP-IT.....	33
3.3.4.2.	Reacción de Secuenciación.....	33
3.3.4.3.	Preparación de los componentes de purificación.....	34
3.4.	Filogenia molecular.....	35
3.4.1.	Control de calidad.....	35
3.4.2.	Alineamiento múltiple.....	36
3.4.3.	Elección de método evolutivo.....	36
3.4.4.	Elaboración de árbol filogenético.....	36
4.	Resultados y discusión.....	38

4.1. Recolección, preparación de muestras y estudio molecular .....	38
4.2. Estudio molecular .....	39
4.2.1. Extracción y evaluación de ADN .....	39
4.2.2.1. Gen <i>rpoC1</i> .....	43
4.2.2.2. Gen <i>matK</i> .....	44
4.2.2.3. Gen <i>ycf1</i> .....	46
4.2.3. Secuenciación de ADN .....	47
4.3. Filogenia molecular .....	50
4.3.1. Análisis filogenético del gen <i>matK</i> .....	51
4.4.1. Análisis filogenético del gen <i>rpoC1</i> .....	52
4.4.2. Análisis filogenético del gen <i>ycf1</i> .....	53
4.5. Georreferenciación .....	54
Conclusiones .....	58
Recomendaciones.....	59
Bibliografía.....	60
Anexos.....	74

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Información de georreferenciación del género <i>Gongora</i> .....	18
<b>Tabla 2</b> Composición de la Master Mix por genes.....	31
<b>Tabla 3</b> Temperaturas para amplificación de, <i>matK</i> , <i>rpoC1</i> y <i>ycf1</i> .....	31
<b>Tabla 4</b> Cebadores de las regiones cloroplásticas <i>matK</i> , <i>rpoC1</i> , <i>ycf1</i> .....	32
<b>Tabla 5</b> Componentes de la reacción de secuenciación .....	33
<b>Tabla 6</b> Preparación de los componentes de la reacción de secuenciación.....	34
<b>Tabla 7</b> Componentes de purificación.....	34
<b>Tabla 8</b> Grupos externos para el análisis filogenético.....	37
<b>Tabla 9</b> Especies del género <i>Gongora</i> recolectadas .....	38
<b>Tabla 10</b> Resultados de integridad de ADN de Protocolo Directo y Modificado .....	41
<b>Tabla 11</b> Resultados de amplificación del gen <i>matK</i> ; <i>rpoC1</i> ; <i>ycf1</i> .....	43
<b>Tabla 12</b> Muestras para secuenciación .....	48
<b>Tabla 13</b> Resultados de control de calidad de secuenciación.....	48
<b>Tabla 14</b> Datos de georreferenciación de las especies de <i>Gongora</i> .....	54

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Morfología floral y vegetativa del género <i>Gongora</i> .....	9
<b>Figura 2</b> Macho <i>Euglossa</i> en polinización .....	11
<b>Figura 3</b> Abeja del Género <i>Euglossa</i> .....	12
<b>Figura 4</b> Gen <i>matK</i> .....	14
<b>Figura 5</b> Gen <i>rpoc1</i> .....	15
<b>Figura 6</b> Gen <i>ycf1</i> .....	16
<b>Figura 7</b> Mapa de georreferenciación del género <i>Gongora</i> .....	26
<b>Figura 8</b> Kit de extracción directo.....	27
<b>Figura 9</b> Marcador de peso molecular – DNA Ladder.....	30
<b>Figura 10</b> Recolección de muestras.....	39
<b>Figura 11</b> Extracción de ADN – Protocolo Directo .....	40
<b>Figura 12</b> Extracción de ADN – Protocolo Modificado .....	42
<b>Figura 13</b> Amplificación de ADN – Gen <i>rpoc1</i> .....	44
<b>Figura 14</b> Amplificación de ADN – Gen <i>matk</i> .....	45
<b>Figura 15</b> Amplificación de ADN – Gen <i>ycf1</i> .....	47
<b>Figura 16</b> Reporte de control de calidad de secuenciación .....	49
<b>Figura 17</b> Secuenciación de ADN – Gen <i>rpoc1</i> .....	50
<b>Figura 18</b> Resultado filogenético del gen <i>matK</i> .....	51
<b>Figura 19</b> Resultado filogenético del gen <i>rpoC1</i> .....	52
<b>Figura 20</b> Resultado filogenético del gen <i>ycf1</i> .....	53
<b>Figura 21</b> Georreferenciación de las especies analizadas por filogenia.....	56

## Índice de Anexos

<b>Anexo 1</b> Repositorio de especies e información descriptiva del Genero <i>Gongora</i> .....	74
<b>Anexo 2</b> Protocolo de Extracción de ADN .....	108
<b>Anexo 3</b> Protocolo de Integridad de ADN .....	108
<b>Anexo 4</b> Protocolo de Amplificación de ADN .....	109
<b>Anexo 5</b> Protocolo de Análisis Filogenético.....	109
<b>Anexo 6</b> Distribución Geográfica del género <i>Gongora</i> .....	110
<b>Anexo 7</b> Georreferenciación de género <i>Gongora</i> en Ecuador .....	110

## **1. Introducción**

En los últimos años, Latinoamérica y el Caribe se han caracterizado por ser regiones continentales proclives de investigación y desarrollo en proyectos de agroindustria, ecoturismo y conservación ambiental gracias a su extensa riqueza de flora, fauna y recursos naturales, por ello, no es ajeno al asunto que países como Colombia, Guatemala, Perú, Costa Rica y Ecuador hayan adoptado una cultura orquideológica para representar el patrimonio ecológico vegetal de una de las familias de flores más peculiares y exóticas del planeta (Larrea, 2020).

Ecuador es considerado entre los 17 países que alberga mayor diversidad en el mundo, esto se debe a sus características topográficas, ecosistemas, pisos climáticos y riqueza biológica de organismos vegetales y animales (Falceri & Freire, 2022; Mendoza-Montesdeoca *et al.*, 2022; OTCA, 2021). El Gobierno de la República declaró a Ecuador como el “País de las Orquídeas”, por instancia y apoyo de la comunidad científica internacional debido a la vasta presencia de ejemplares vegetales de esta familia, además, se menciona que una de cada cinco especies de orquídeas del mundo se encuentra a lo largo del territorio (Oña, 2020; Mogrovejo & Proaño, 2020; Montalvo & Vargas, 2019; Iza, 2018).

Se conoce que en Ecuador habitan el 14% de las orquídeas a nivel mundial, en las cuales están consideradas de 4 a 5 subfamilias, 20 tribus, 30 sub-tribus, 800 géneros y 25000 especies clasificadas y publicadas. Es así, que a nivel nacional se maneja un registro de 4232 especies de orquídeas, de las cuales 1714 son endémicas y al menos 400 especies se encuentran en curso en estudio y descripción (Gallardo *et al.*, 2021; Fernández-Fernández *et al.*, 2018; Oña, 2020).

Las orquídeas por varios años fueron consideradas como plantas exóticas, exclusivas, escasas y de precio costoso apreciadas por su diversidad de formas, colores, fragancias por aficionados

y catedráticos, sin embargo, nuevas técnicas biotecnológicas como la micropropagación y los bancos de germoplasma han permitido la producción masiva de orquídeas en espacios reducidos, menor tiempo, libres de patógenos y a bajo costo en condiciones controladas de laboratorio (Cardoso *et al.*, 2020; Vallejos, 2020; Pedraza, 2017).

Más allá de su diversidad geográfica y taxonómica, el cultivo y comercialización de orquídeas brinda un abanico de posibilidades destacando su uso ornamental con especies del género *Cattleya*, *Cyrtochilum*, *Bulbophyllum* (Cerna *et al.*, 2018), uso alimenticio para saborizantes en orquídeas del género *Vanilla*, bebidas como el “Salep” turco en *Orchis*, platillos como la “Chikandra” africana a partir de los géneros *Disa*, *Habenaria* y *Satyrium* (Molina, 2020), uso cosmético de fragancias en *Miltoniopsis*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Enciclya* (Matthews, 2021).

En el ámbito de la medicina ha surgido el interés por la bioprospección de metabolitos secundarios a partir de orquídeas como: fenoles, flavonoides, glucósidos, terpenoides debido a que estas biomoléculas confieren propiedades antioxidantes en orquídeas del género *Epidendrum*, actividad inflamatoria en *Catasetum*, potencial espasmolítico en *Maxillaria* (Molina, 2020; Cerna *et al.*, 2018).

A pesar de que los conocimientos de la familia Orchidaceae sean ampliamente difundidos sean las orquídeas cada día se encuentran amenazadas por la actividad antropogénica y el cambio climático, lo cual dificulta su identificación morfológica y, mermar su nicho ecológico considerando que esto afecta a la pérdida de su nicho ecológico y la familia por lo cual, es importante proponer investigaciones, desarrollo proyectos sustentable de conservación de la familia Orchidaceae (Oña, 2020).

La identificación y el seguimiento filogenético está siendo aplicada para la conservación de las especies animales y vegetales en general, ayudando así a tener un seguimiento y análisis de las diferencias moleculares hereditarias entre cada especie. El avance y auge en los progresos científicos en biología y otras disciplinas afines han generado grandes cantidades de datos, así como la información proveniente de genomas completos de diferentes organismos vivos, han hecho que se genere herramientas informáticas o computacionales para albergar dicha información, por lo tanto, estos datos han sido de gran ayuda para el manejo e identificación de géneros y especies biológicas (Pachecho *et al.*, 2021).

Adicional se puede mencionar que los genes que se han manejado para la identificación y diferenciación del género *Gongora* es el *gen matK*, que se lo considera como el más variable de los genes codificadores de proteínas de plastidios, ya que proporciona pocos o ningún sitio informativo de parsimonia entre especies estrechamente relacionadas dentro de los géneros de orquídeas. En el caso de Orchidaceae, *ycf1* es más variable que *matK* tanto en el número total de caracteres informativos de parsimonia como en el porcentaje de variabilidad (Alcántara, 2013), por lo tanto, se tomará como base los datos de los genes ya dispuestos junto al nuevo gen, que es el *gen ycf1*, para poder identificar la variabilidad interespecífica que existe entre las diferentes especies de este género (Loo, 2011).

## **2. Marco Teórico**

### **2.1. Familia Orchidaceae**

Las orquídeas se consideran una de las familias más extensas, antiguas y más cotizadas del mundo, constan más de 25 mil especies identificadas hasta el momento, considerando que el 7% de las plantas son orquídeas lo cual las convierten en una familia botánica más extensa, se puede mencionar que es tan grande debido a su forma, tamaño y color que es muy diverso, además, a esta diversidad natural se le suman la existencia de 60 mil híbridos y variedades que son producidas para la parte comercial (Salazar, 2018). Las orquídeas habitan casi todos los rincones del planeta, en lo general viven en medio de árboles donde su forma de subsistir es tomando calor, luz y aire, pero también algunas crecen en rocas, suelos (Ministerio de Turismo, 2020).

Son una familia de plantas monocotiledóneas que se diferencian por su extrema variedad de morfología, colores y fragancias. Además, se distinguen por sus interacciones ecológicas con los agentes polinizadores, bacterias y hongos con las que forman asociaciones simbióticas en la naturaleza (Ruiz, 2020).

El hábitat de la mayoría de la familia Orchidaceae se encuentra en climas de regiones tropicales como; subtrópicos o trópicos, cuya temperatura anual no baja de los 18°C, ya que se encuentran desde 0 hasta los 5000 m.s.n.m. como plantas epífitas, considerando que están ausentes en lugares desérticos (Cadena, 2017).

### **2.1.1. Importancia de las orquídeas**

Las orquídeas aparte de ser plantas exóticas y escasas, desempeñan funciones intrínsecas como; regulación del ciclo de nutrientes, producción primaria de biomasa y pueden ser empleadas como bioindicadores de la salud de los ecosistemas (Jelber & Jaramillo Herrera, 2018).

Algunas orquídeas son utilizadas como medicina, alimento y ornamental, uno de los ejemplos más significativos es la vainilla, que se le conoce por sus usos variados ya que se está utilizando a las orquídeas como medio de comercio y turismo, tomando en cuenta que es una especie vegetal muy vistosa y exótica que llama la atención (Coronado, 2020).

### **2.1.2. Clasificación**

Las orquídeas son las especies vegetales más variadas del reino vegetal y cada vez se van generando más especies híbridas que en total cuentan alrededor de veinte mil especies divididas en unos ochocientos géneros distribuidos por todo el mundo, la mayor parte se encuentran por debajo de los 2,000 metros sobre el nivel del mar, encontrándolas desde Oceanía y América del norte, hasta los climas tropicales como América, o distintos lugares de Asia, África y Europa; debido a esto también, hay orquídeas con características y necesidades muy distintas, existen dos tipos de orquídeas; las epífitas y las terrestres (Salvador, 2020).

#### **2.1.2.1. Orquídeas Terrestres**

Estas orquídeas en su mayor parte se encuentran arraigadas o enraizadas en el suelo directo y por sus tallos suelen ser más erguidos y poseen flores más pequeñas, son nativas de las tierras rocosas de los pinos de la región de los Everglades, en el sur de Florida, pero en general, se encuentran en cualquier lugar, por su facilidad de crecimiento, tomando en cuenta que son muy difíciles de trasplantar de un lugar a otro, usualmente crecen en una capa delgada de escombros orgánicos o bosques secos, estas se diferencian ya que no dependen de un soporte para la

alimentación o crecimiento, en sí, se le considera que se encuentre en cualquier lugar (Chaparro, 2018).

#### **2.1.2.2.Orquídeas Epífitas**

En su mayoría las orquídeas epífitas suelen encontrarse en regiones tropicales o semitropicales como el sudeste del continente asiático, Polinesia, India y en su gran mayoría en Sudamérica (Rojas et al., 2006). Para su sustento no necesitan de otra planta, ya que no son parásitas de su soporte, solo necesitan el clima y el ambiente adecuado para subsistir, de igual forma que las terrestres pueden crecer en medio de la nada, solo deben de tener una luz solar difusa, una buena corriente de aire y una humedad relativa adecuada, usualmente ellos extraen los nutrientes de ramas troncos que se caen de la naturaleza de su alrededor, se diferencian de las terrestres ya que han modificado su estructura creando pseudobulbos o tallos hinchados donde pueden almacenar agua y nutrientes disueltos en ellos, adicional con raíces aéreas, ayudándoles a sobrevivir si existe algún cambio brusco de temperatura (Parrales, 2015).

#### **2.2.Género *Gongora***

El género *Gongora* es un género Neotropical que consta alrededor de 80 especies, fue descrito y publicado por los botánicos españoles Hipólito Ruiz y José Pavón en 1794, en honor a Don Antonio Caballero y Góngora, arzobispo de Santa Fe de Bogotá y Virrey de Nueva Granada, durante los años 1777 hasta 1788 que se descubrieron numerosas especies considerándolas como un grupo de orquídeas epífitas, herbáceas, de pseudobulbos bifoliados, hojas plicadas un tanto alargadas, elíptico, lanceoladas, y al final un poco pecioladas (Hernández, 2022).

Poseen un desarrollo de forma lateral en las que el brote terminal al finalizar su ciclo muere. Se desarrollan en un ambiente con un gradiente geográfico amplio desde las selvas húmedas que están a nivel de las regiones montañosas de los Andes (García & Jiménez, 2015).

### **2.2.1. Distribución geográfica**

El género *Gongora* consta de 65 especies conocidas en América Central, Trinidad y América sur tropical, aunque en general la mayoría de las especies se encuentra en América, esta especie crece en un amplio rango geográfico ubicándose en una gran concentración en Colombia en lo cual se lo puede ver en la **Tabla 1** (Jay *et al.*, 2023).

### **2.2.2. Taxonomía**

La taxonomía del Género *Gongora* es muy compleja, ya que es muy cercano o parecido a sus especies, todas poseen inflorescencias colgantes con aproximadamente de 10 a 20 flores e incluso algunas presentan hasta 50 flores que se abren simultáneamente, suelen florecer entre 3 a 7 días antes de marchitarse y durante este tiempo emiten un aroma floral fuerte, las flores individuales están compuestas por 2 sépalos laterales, 1 sépalo inferior, 2 pétalos pequeños, 1 pétalo altamente modificado llamado labelo y la columna que presenta las estructuras reproductivas de ambos sexos, adicional con su herborización, por lo tanto, se va opacando los rasgos que los diferencian en cada una de ellas haciendo que sea difícil tener un registro de la mayoría de las especies del género (Engels *et al.*, 2020).

En el Ecuador se considera que existe más de un tercio de las especies del género *Gongora*, 6 son endémicas y el género se divide en tres subgéneros: *Acroptera*, *Gongora* y *Portentosa* (León, 2018).

### 2.2.3. Morfología floral

Todas las especies de este género son epífitas con un crecimiento simpodial, se caracteriza por tener la presencia de dos a tres hojas apicales, adicional las inflorescencias nacen del pseudobulbo y por lo general son péndulas y racemosas y se puede generar más de seis inflorescencias, seguidas los pseudobulbos miden de largo 8 cm como en la especie *Gongora similis* (ABO, 2022).

En relación a las raíces son aéreas de color blancas y delgadas, tomando un crecimiento de forma robusta, erguida y por lo general se encuentran cerca de hormigueros. En cuanto al tallo posee diferentes formas en relación a su crecimiento, ya que al inicio es erguido y a medida que va tomando una madurez va tomando una forma de dobles colgado, dando relación a la distribución de las flores que también se encuentran colgadas, mencionando que el labelo se coloca hacia arriba, mientras que los pedicelos dependiendo el género se va doblando casi de forma circularmente (Hernández, 2022).

Poseen dos sépalos laterales y un sépalo dorsal, adicional se puede mencionar que poseen cuernos en la base del labelo como la *Gongora gratulabuda* o también pueden poseer cuernos cortos en la base del labelo que en si sería otra característica que posee este género como se le puede ver en la Figura 1, en cuanto a las flores poseen labio completo dividido en hipochilo y epichilo en el sépalo dorsal en las cuales se encuentran fusionadas por medio de una columna al igual que los pétalos, adicional van tomando una consistencia cerosa y con fragancia, considerando que las fragancias van cambiando de especie a especie como por ejemplo algunas huelen a cera de vela sin quemar, otros a nuez moscada, cardamomo o canela, y como característica final se nombra a los polinios que se superponen a un estípite, que es sostenido por un disco viscoso, considerando como un gran punto de polinización, que en su gran mayoría son abejas del género *Euglossa* (Engels *et al.*, 2020).

Figura 1 Morfología floral y vegetativa del género *Gongora*

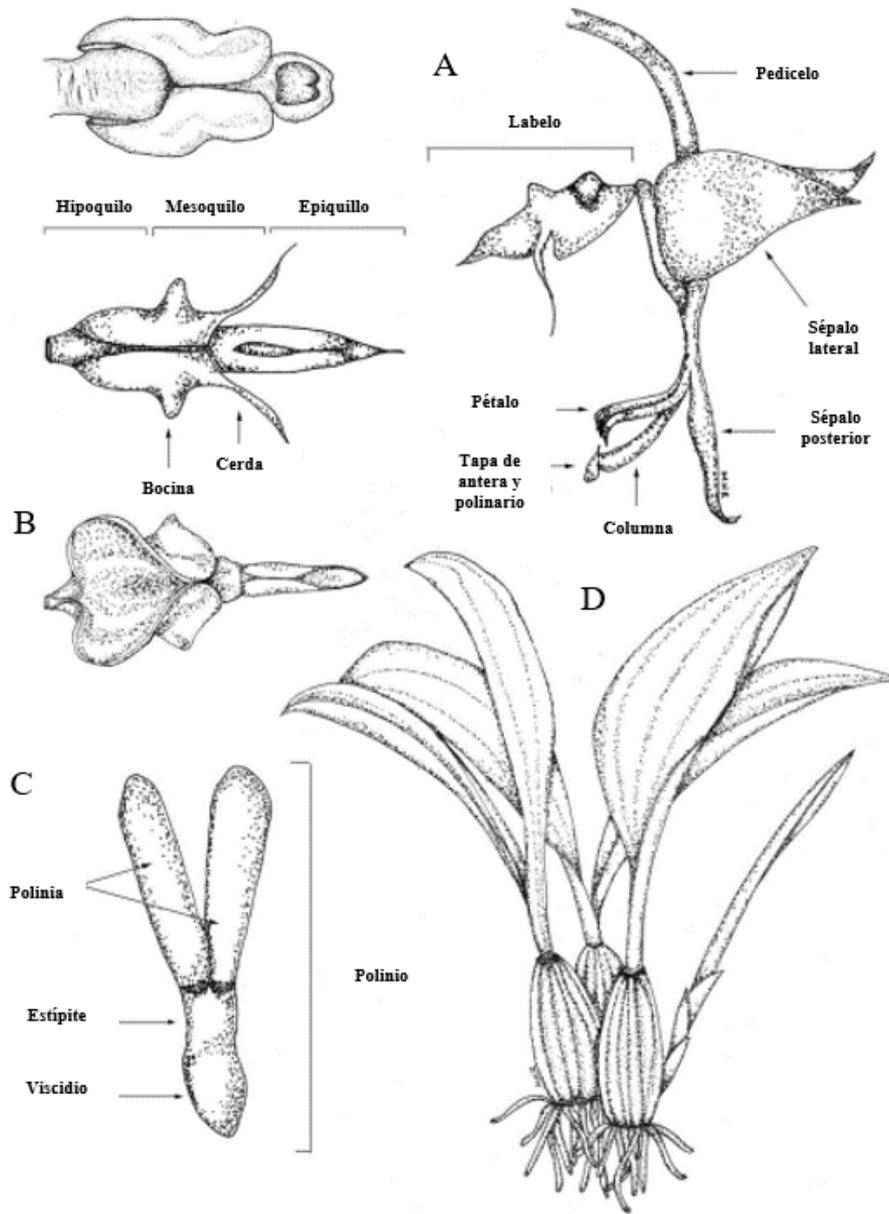


Figura 1: Morfología floral y vegetativa del Género *Gongora*; A: Inflorescencia, B: Polinio, C:

Órganos reproductores, D: Forma Vegetativa

Fuente: (Ramírez, 2015)

#### **2.2.4. Especies registradas en el Ecuador**

En el Ecuador existen aproximadamente alrededor de 20 especies ya registradas hasta el año 2020, estas se encuentran distribuidas en los bosques andinos bajos, amazónicos y litorales. En los cuales con estudios de indagación de filogenia molecular se han encontrado 3 subgéneros y 7 secciones, por lo tanto, siguen siendo difícil tener una indagación verídica y confiable en su totalidad de las especies analizadas, ya que poseen una estructura morfológica muy parecida. Además, las especies ya registradas y encontradas se las detalla en el Anexo 1 (Jaramillo, 2020).

#### **2.2.5. Polinizadores**

Se entiende como polinización al proceso de transporte de granos de polen desde la parte de la antera hasta el estigma de otra flor, es considerado como un proceso de fecundación de las especies vegetales en su gran mayoría, considerando como actor principal al polinizador (Hernández, 2022).

En las orquídeas en mayor cantidad se puede denotar que por ser flores pequeñas el mayor polinizador de estas son las abejas, ya que buscan olores y fragancias con compuestos aromáticos florales, por lo general se han encontrado que los macho *Euglossa villosa* como se lo ve en la Figura 2, son atraídos por la base del labelo del género *Gongora*, en la cual puede pasar dos aspectos en general, que la abeja llegue a polinizar o que la flor por el peso se rompa (Telléz & Tejada, 2013).

Figura 2 Macho *Euglossa* en polinización

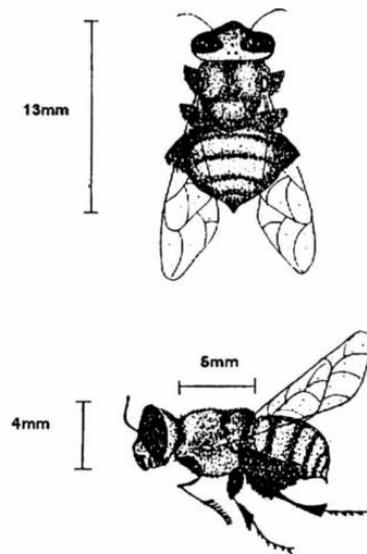


**Figura 2:** *Euglossa villosa* en la polinización de *Gongora cassidea*

**Fuente:** (Ramírez, 2015)

Se considera que este género de abejas pertenece a un grupo no sociable de un tamaño algo mayor a la abeja común, como se le puede ver en la Figura 3, adicional posee un color metálico muy brillante verdoso, son voladores rápidos y resistentes, considerando que toman vuelos de grandes distancias, encontrándose principalmente en lugares tropicales como lugares tropicales, el caribe y zonas selváticas, su alimento por lo general es un néctar de flores tubulares (Rodríguez *et al.*, 1995).

Figura 3 Abeja del Género *Euglossa*



**Figura 3:** Proporciones de *Euglossa villosa* Moure, polinizadora de las orquídeas del género *Gongora*

**Fuente:** (Rodríguez *et al.*, 1995)

### 2.3. Técnicas de identificación botánica

En lo largo de la historia se ha podido ver diferentes técnicas de identificación de especies vegetales, para así poder diferenciarlas, de este modo no solo nos preocupamos de su forma, color, tamaño y textura (Vela, 2019).

Por lo cual, para identificar una especie vegetal se debe de realizar una previa recolección de material vegetal, en especial la parte de la planta que se vaya a manejar, posterior a este proceso se hace un reconocimiento de los caracteres morfológicos, tanto sea en forma cualitativa y cuantitativa, por lo tanto, se debe de utilizar microscopio y estereomicroscopio (Guerrero *et al.*, 2011).

## **2.4. Técnicas moleculares**

Las técnicas actuales de manejo molecular se basan en la identificación de regiones de ADN, en varias áreas de la ciencia para la identificación de enfermedades, bacterias, especies vegetales y animales, entre otras (Matzumura *et al.*, 2013).

Actualmente las técnicas que se conocen en plantas son; polimorfismos de los fragmentos de restricción RFLPs, Número variable en repeticiones den tándem VNTRs, Secuencias simples marcadas o microsatélites SSRs y la que más se utiliza la Reacción en cadena de polimerasa *PCR*, es la técnica molecular más utilizada a nivel mundial, tomando en cuenta que es un método enzimático *in vitro* que ayuda a la amplificación de una secuencia específica del ADN. En tal sentido es una técnica que usa dos oligonucleótidos para completar el ADN molecular (Al-Yassiry & Al-Alwani, 2022).

### **2.4.1. *Barcoding***

El manejo de material genético en la actualidad se ha dado por medio de bases de datos y códigos de manipulación mundial, con información de carácter genético que ayuda a facilitar el reconocimiento de alguna especie a analizar, tomando el nombre de ADN *Barcoding*, se puede mencionar que la sobrevivencia de diversidad ecológica, se debe a la supervivencia de los ecosistemas equilibrados, pero existen ecosistemas que por el manejo ambiental actual se ha ido perdiendo, por consecuente, con el tiempo se ha generado nuevas formas y manejos de esta diversidad, tomando como punto de base el material genético (Benavides & Yanéz, 2016).

## **2.5. Marcadores moleculares a estudiar**

Se considera a un marcador molecular como la secuencia de genes de carácter relevante de identificación para una especie a estudiar, esto se debe a su funcionalidad y composición ya que

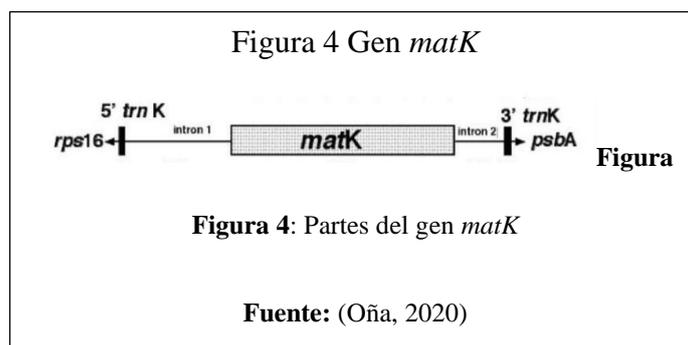
tienen la capacidad de detectar los polimorfismos en un loci único o múltiple, tomando en cuenta que puede ser dominante o codominante (Alcántara, 2013).

En el caso del género *Gongora* existen algunos genes como el *matK*, *ypc1* y *ycf1* que se le maneja con relevancia para poder identificarlos y así poder tomar una diferenciación relevante por especies dentro del género (Cid *et al.*, 2019).

### 2.5.1. Gen *matK*

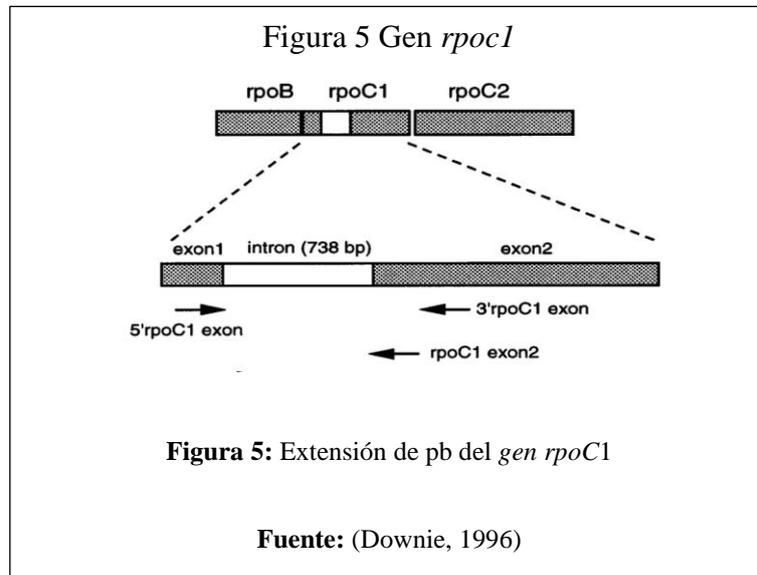
El uso de técnicas moleculares ha ayudado a mejorar la identificación de alguna especie, la cual, por lo general se usan regiones *Barcoding* y en especial de la zona cloroplástica, el gen *matK* posee una región no codificante proveniente del genoma plastidio (Alvarado *et al.*, 2015).

Posee una gran variabilidad y su tamaño es de 1500 pb de longitud, se le puede encontrar ubicado en el intrón del gen *trnK* como se observa en la Figura 4, contiene altas tasas de sustitución dentro de la especie y su región 3' que es más conservada que la región 5', Por lo tanto, se puede mencionar que esta región ayuda a dar una información útil para análisis filogenéticos entre especies (Cerna & Miño, 2018).



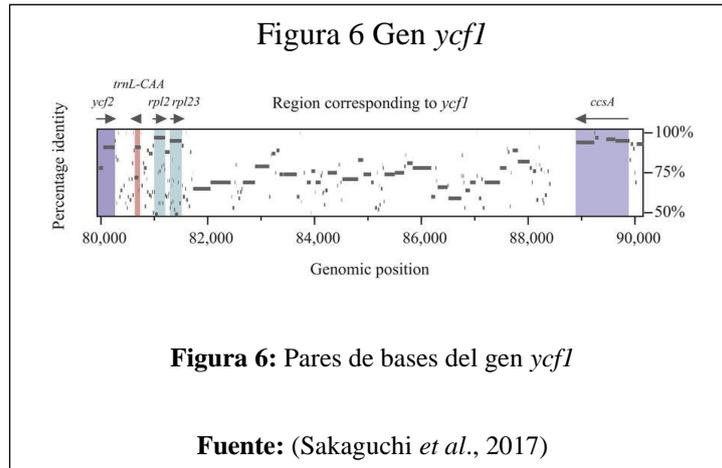
### 2.5.2. Gen *rpoC1*

El gen *rpoC1* se encuentra en el genoma plastidio y espaciador intertergénico *trnH-psbA*, esta región sigue siendo muy conservada, más que las otras regiones a analizar, ayudando así a analizar regiones taxonómicas. Considerándolo de un tamaño de 550 a 750 pb como se ve en la Figura 5, tomando en cuenta que es una cadena pequeña (Ho-Lee *et al.*, 2012).



### 2.5.3. Gen *ycf1*

La región *ycf1* es la región más grande del genoma cloroplástico, está confirmado por 1600 pb como se puede ver en la Figura 6 es un gen rico en adeninas y timinas, presenta regiones de repetición invertida y de copia única, se lo usa por lo general como marcador molecular para la identificación de especies ya que es una región muy conservada (Cid *et al.*, 2019).



## 2.6. Filogenia

Todos los organismos descendemos de una forma ancestral, o un ser vivo en común, evidencias morfológicas, químicas y biológicas constatan esto, Haeckel a partir del siglo XIX acudió al término filogenia para indicar la historia evolutiva de un grupo biológico, con él se establecen las clasificaciones filogenéticas y su representación por medio de árboles evolutivos, en cambio Willi Henning siendo el padre de la filogenética propuso la investigación y representación de las relaciones de las especies, dando así el primer indicio de la sistemática filogenética (Sosa, 2009).

Para construir una filogenia, sea solo de un grupo, es necesario tener la especie a estudiar junto a sus caracteres, relaciones y representaciones gráficas, en las cuales se toman tres métodos de lectura para analizar; el método de parsimonia en un contexto científico implica no suponer más causas de las necesarias para explicar los hechos y en el caso del método de máxima verosimilitud se basan en un modelo probabilístico, con un soporte estadístico y buscan la respuesta más probable y en el caso del método bayesianos también seleccionan un modelo de evolución y el cladograma donde determina por probabilidades posteriores obtenidas mediante el uso de estadística bayesiana (Universidad de la República, 2015).

### **3. Materiales y métodos**

#### **3.1. Recolección y preparación**

Las muestras vegetales del género *Gongora* fueron recolectadas en diferentes provincias del Ecuador como; de la colección privada del Sr. Darío Guisal en Pedro Vicente Maldonado, Pichincha; de los invernaderos de Ecuagenera, Zamora Chinchipe y de la colección privada de Pichincha, Quito.

Para la recolección de las 12 muestras vegetales se seleccionó material foliar que cumpla con las siguientes características: hojas jóvenes, sanas, sin daños mecánicos y libres de enfermedades según el instructivo INT/BM/27 de diagnóstico vegetal descrito por (Agrocalidad, 2018).

Para su respectivo análisis, cada muestra vegetal fue empacada en bolsas de papel Kraft y localizada en un recipiente térmico acondicionado a 4 °C, cada bolsa fue transportada hacia los Laboratorios de Ciencias de la Vida, Cuarto de Refrigeración de la Universidad Politécnica Salesiana en donde fueron almacenadas en un congelador Whirpool Botton Mount a -20°C (Cascante, 2008).

#### **3.2. Georreferenciación**

La localización de las especies del género *Gongora*, fue recopilada por medio de indagación bibliográfica y tomando de la Base de Datos Botánicos Trópicos v3.4.0. en la que se obtuvo información referente a: Taxonomía, Referencias, Año de Registro y coordenadas (latitud y longitud) de las 21 especies descritas, las cuales para tener una recopilación de su georreferenciación en general se lo detallo en la **Tabla I**.

Adicional para referenciar la ubicación geográfica de forma visual se utilizó la plataforma ArcGIS, que permitió recopilar, organizar, administrar, analizar, compartir y distribuir información geográfica de la biodiversidad como se lo ve en (Ricker, 2019) .

**Tabla 1 Información de georreferenciación del género *Gongora***

N°	Especie	Lugar de Ubicación	de Latitud	Longitud
1	● <i>Gongora escobariana</i>	● Colombia- Antioquia	5°46'00.0"N	74°20'00.0"W
2	● <i>Gongora portentosa</i>	● Perú- Junín ● Perú- San Martín, Tarapoto	11°07'42.5"S 6°27'58.3"S	76°00'16.5"W 76°20'55.7"W
3	● <i>Gongora cassidea</i>	● Costa Rica- Alajuela ● Honduras- Yoro ● Nicaragua- Estelí ● Nicaragua- Matagalpa	10°18'00.0"N 15°12'00.0"N 13°15'00.0"N 12°55'00.0"N	°45'00.0"W 87°35'00.0"W 86°16'00.0"W 85°55'00.0"W

		•Nicaragua- Jinotega	13°16'00.0"N	86°10'00.0"W
4	 <i>Gongora horichiana</i>	•Panamá Rio Hato	08°29'00.0"N	081°05'00.0"W
5	 <i>Gongora armeniaca</i>	•Costa Rica San Jose- Purascal	9°42'00.0"N	84°24'00.0"W
		•Nicaragua- Matagalpa	12°49'00.0"N	85°22'00.0"W
		•Panamá-Rio Hato	8°26'00.0"N	80°06'00.0"W
6	 <i>Gongora galeata</i>	•Guatemala	15°46'00.0"N	90°13'00.0"W
		•México- Chiapas	16°49'00.0"N	95°24'00.0"W
7	 <i>Gongora scaphephorus</i>	•Bolívar Cochabamba Chapare	17°03'00.0"S	65°28'00.0"W
		•Bolivia- La Paz	14°34'00.0"S	68°46'00.0"W

		•Ecuador- Morona Santiago	3°26'00.0"S	78°31'00.0"W
		•Perú-Pasco- Oxapampa	10°21'00.0"S	75°17'00.0"W
		•Perú- Loreto- Ucayali	7°23'00.0"S	76°12'00.0"W
		•Perú-San Martin- Tocache	7°56'00.0"S	76°35'00.0"W
<b>8</b>		<i>Gongora</i> <i>sanderiana</i>	•Perú	9°15'00.0"S 74°57'00.0"W
<b>9</b>		<i>Gongora</i> <i>rufescens</i>	•Bolívar •Ecuador •Perú- Amazonas- Bongará •Perú- Pasco- Oxapampa	16°23'00.0"S °28'00.0"S 78°09'00.0"W 5°55'00.0"S 78°00'00.0"W 10°34'00.0"S 75°24'00.0"W
<b>10</b>		<i>Gongora</i> <i>pardina</i>	•Ecuador- Morona Santiago	2°41'00.0"S 78°19'00.0"W

		•Ecuador- Napo	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W
<b>11</b>	 <i>Gongora pleiochroma</i>	•Ecuador- Napo	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W
		•Panamá- Canal área	9°09'00.0"N	79°50'00.0"W
		•Perú-San Martín	7°11'00.0"S	76°45'00.0"W
		•Perú- Amazonas- Condorcanqui i	4°28'00.0"S	78°09'00.0"W
<b>12</b>	 <i>Gongora grossa</i>	•Ecuador- Los Rios	1°47'00.0"S	79°17'00.0"W
		•Ecuador- Esmeraldas	0°47'00.0"N	79°39'00.0"W
		•Ecuador- Guayas	1°50'00.0"S	80°44'00.0"W
<b>13</b>	 <i>Gongora hirtzii</i>	•Ecuador Carchi	1°06'00.0"N	78°16'00.0"W

14		<i>Gongora quinquenervis</i>	•Belice-	16°16'00.0"N	89°06'00.0"W
			Toledo		
			•Ecuador-		
			Zamora	4°00'00.0"S	78°30'00.0"W
			Chinchipe		
			•México-		
			Chiapas,	16°55'00.0"N	91°16'00.0"W
			Ocosingo		
			•México-		
			Michoacán	18°43'00.0"N	103°23'00.0"W
15		<i>Gongora fulva</i>	•Panamá	8°57'00.0"N	79°25'00.0"W
16		<i>Gongora ionodesme</i>	•Ecuador:	4°22'00.0"S	78°48'00.0"W
			Zamora		
			Chinchipe		

17		<i>Gongora gracilis</i>	•Ecuador- Napo	1°04'00.0"S	77°25'00.0"W
			•Perú- Cajamarca	4°59'00.0"S	78°54'00.0"W
18		<i>Gongora superflua</i>	•Ecuador	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W
19		<i>Gongora ilense</i>	•Bolivia- Cochabamba , Chapare	17°04'00.0"S	65°27'00.0"W
			•Ecuador- Los Ríos	0°35'00.0"S	79°22'00.0"W
			•Ecuador- Esmeraldas, Quinindé	0°21'00.0"N	79°44'00.0"W
			•Ecuador- Pichincha	0°30'00.0"S	79°30'00.0"W
20		<i>Gongora latisepala</i>	• Perú-Loreto, Ucayali	7°20'00.0"S	75°59'00.0"W
21		<i>Gongora leucochila</i>	•Belize- Toledo	16°23'00.0"N	89°04'00.0"W

---

•Costa Rica-	10°25'00.0"N	84°00'00.0"W
Heredia		
•Costa Rica-	9°46'00.0"N	84°31'00.0"W
San José,		
Turrubares		
•Costa Rica-	10°52'00.0"N	85°24'00.0"W
Alajuela,		
Upala		
•Costa Rica-		
Puntarenas,	9°13'00.0"N	83°18'00.0"W
Buenos Aires		
•Costa Rica-		
Cartago,	9°52'00.0"N	83°46'00.0"W
Paraíso		
•Honduras	15°13'00.0"N	86°15'00.0"W
•México-		
Chiapas,	16°59'00.0"N	91°17'00.0"W
Ocosingo		
•Nicaragua-		
Atlántico	14°01'00.0"N	84°34'00.0"W
Norte		

---

---

•Nicaragua-		
Jinotega	13°24'00.0"N	85°42'00.0"W
•Nicaragua-		
Chontales	12°10'00.0"N	85°10'00.0"W
•Nicaragua-		
Boaco	12°24'00.0"N	85°33'00.0"W
•Nicaragua-		
Matagalta	13°00'00.0"N	85°14'00.0"W
•Panamá	8°26'00.0"N	80°06'00.0"W

---

**Nota:** Los símbolos de color representas las diferentes ubicaciones de especies del género *Gongora* de la Tabla 7

---

**Fuente:** (Trópicos, 2023)

Figura 7 Mapa de georreferenciación del género *Gongora*

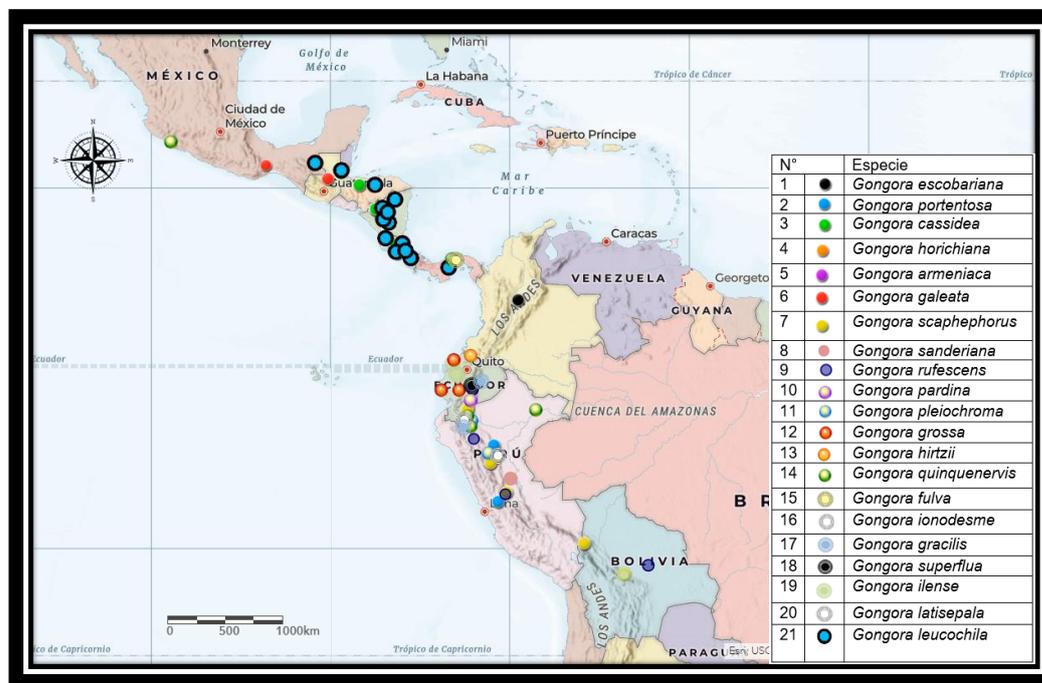


Figura 7: Distribución geográfica de las especies del género *Gongora*

Fuente: (ArcGIS, 2023; Trópicos, 2023)

### 3.3. Estudio molecular

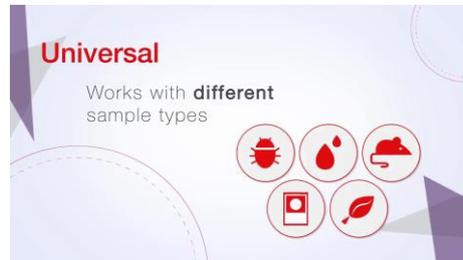
El desarrollo experimental del estudio molecular del género *Gongora* se llevó a cabo durante el período octubre del 2022 hasta enero de 2023 en las instalaciones de los Laboratorios de Ciencias de la Vida, área de Biología Molecular de la Universidad Politécnica Salesiana, ubicados en el Campus el Girón, en la ciudad de Quito.

#### 3.3.1. Extracción de ADN

Para la obtención de ADN total se probó dos protocolos de extracción: Protocolo directo con: el *Kit Platinum Direct PCR Universal Master Mix* de la marca *Thermo Fisher Scientific* como se lo ve en la Figura 8 y el *Protocolo Doyle y Doyle* modificado, la modificación del protocolo

se debe a que las hojas del género *Gongora* poseen una elevada cantidad de polifenoles y polisacáridos (Mogrovejo & Proaño, 2020).

Figura 8 Kit de extracción directo



**Figura 8:** Kit *Platinum Direct PCR Universal Master Mix* para Extracción y Amplificación de ADN

**Fuente:** (*Thermo Fisher Scientific*, 2018)

**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

### 3.3.1.1. Protocolo Directo

El protocolo directo de extracción de ADN se realizó con el *Kit Platinum Direct PCR Universal Master Mix, Invitrogen*, para 500 reacciones, por los cuales, según las recomendaciones del fabricante; se tomó una muestra de tejido vegetal de aproximadamente 2 mm de diámetro y se colocó en un tubo de *Eppendorf* de 1,5 mL; posterior, se agregó 20  $\mu$ L de *Dilution Buffer* y con la punta de una micropipeta se maceró presionando el tejido vegetal contra las paredes del microtubo hasta que la mezcla se tornó de color verde claro; posteriormente, se llevó a la microcentrífuga por 10 seg y finalmente, se tomó 1  $\mu$ L de ADN del sobrenadante para la Amplificación de ADN por PCR (*Thermo Fisher Scientific*, 2019).

### 3.3.1.2. Protocolo Modificado de *Doyle y Doyle*

Para la obtención de ADN total se tomó como referencia el protocolo de extracción *Doyle y Doyle 1987* modificado por Mogrovejo & Proaño (2020), se tomó 30-50 mg de muestra vegetal en microtubos de 1,5 mL y se añadió 600 µL de Buffer Lisis (100 mM TrisHCl pH 8, 50 mM EDTA pH 8 y 500 mM NaCl), se maceró con un pistilo acoplado a un taladro atornillador modelo GSR 1000 BOSCH, hasta obtención una mixtura homogénea.

Posterior, se añadió 94 µL de SDS al 10 % y se mezcló por inversión de 5 a 8 veces. Cada muestra fue incubada en un termobloque digital *Thermo Scientific*<sup>TM</sup> durante 60 min a una temperatura de 65°C. Luego, se añadió 120 µL de acetato de potasio [5M], se mezcló por inversión de 5 a 8 veces y se colocó en un recipiente con hielo a -20°C por 30 min.

Luego se centrifugo a los microtubos a 12000 rpm por 5 minutos, se transfiere el sobrenadante a un nuevo microtubo de 1,5 mL y se añade 600 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y se mezcla por inversión de 5 a 8 veces.

Se procedió a centrifugar los tubos a 12000 rpm por 5 minutos, posterior, se tomó la fase intermedia (250-300 µL aprox.) evitando mezclar la fase superior acuosa (ADN) e inferior orgánica (proteínas), se agregó 200 µL de isopropanol frío, se mezcló por inversión de 5 a 8 veces y se almaceno los tubos toda la noche a -20 ° C.

Al día siguiente, se centrifugo los ensayos a 12000 rpm por 5 minutos y se rescató el sobrenadante. El sedimento (pellet) permaneció en los tubos, posterior a este se procedió a lavar los microtubos con 200 µL de etanol al 70 % por inversión de 3 a 5 veces y se centrifugo a 12000 rpm durante 5 minutos. Este paso se realizó durante 3 veces.

En el último lavado, se descartó el exceso de etanol y en un termobloque previamente calentado a 35 ° C se calentó los microtubos para retirar el remanente de etanol de las muestras vegetales.

Una vez evaporado el alcohol, se resuspendió el sedimento con 30  $\mu\text{L}$  de TE [1X] (10 mM TrisHCl pH 8 y 0,5 M EDTA pH 8) o agua libre de nucleasas y finalmente se almacenó a  $-20^\circ\text{C}$  en el congelador hasta su uso posterior análisis de integridad y amplificación de ADN.

### 3.3.2. Evaluación cualitativa de ADN

Para la evaluación cualitativa de ADN, se realizó una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1 % según el protocolo descrito por Pazmiño & Vargas (2019); cuando el calor de la mezcla descendió a una temperatura de distribución de  $60^\circ\text{C}$ , se adicionó 0,2  $\mu\text{L}$  de fluorocromo *SafeView™ Classic* y se distribuyó al gel con un ligero movimiento, el gel se debe de colocar con su respectivo soporte en una cámara de electroforesis Enduro *Labnet* y para finalizar la mesa de trabajo se colocó una cama de TBE 1X como tampón de separación de fragmentos de ADN.

Para la estimación del tamaño y concentración de los fragmentos de ADN se manejó la escalera de peso molecular *GeneRuler Express DNA Ladder* 100 a 5000 pb y 40-100 ng/0.5  $\mu\text{g}$  de *Thermo Fisher Scientific* como se lo ve en la Figura 9, para ello se cargó 2  $\mu\text{L}$  de *Ladder* junto con 5  $\mu\text{L}$  de tampón de carga *BlueJuice™ Gel Loading Buffer [2X]*, *Invitrogen*.

En la preparación de muestras se tomó 5  $\mu\text{L}$  de ADN y 2  $\mu\text{L}$  de tampón de carga, se configuró el protocolo de electroforesis bajo los siguientes parámetros: 100 V por 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se reveló el gel en fotodocumentador *Bio-imaging systems®* y se digitalizó la imagen para ser visualizado por computadora mediante el programa *Gel Capture* (Fuertes *et al.*, 2018).

Figura 9 Marcador de peso molecular – DNA Ladder



**Figura 9:** Escalera de peso molecular *GeneRuler Express DNA Ladder ready-to-use* 100 a 5000 pb y 40-100 ng/0.5 µg

**Nota:** El inserto incluido en la caja indica el tamaño y peso de cada banda (pb), el voltaje (V/cm) y el tiempo (min) de corrida en gel de electroforesis.

**Fuente:** (Thermo Fisher Scientific, 2018)

### 3.3.3. Amplificación de ADN

La amplificación de ADN se probó por el protocolo propuesto por Mogrovejo & Proaño (2020), mediante la técnica de PCR Convencional, la reacción de polimerización del ADN se llevó a cabo en un termociclador *ProFlex PCR System, Applied Biosystems-USA*. Adicionalmente se manejó el Kit *Platinum Direct PCR Universal Master Mix, Invitrogen* para la amplificación de las regiones del ADN cloroplástico: *matk*, *rpoc1* y *ycf1*, considerando que cada región posee un número de bases diferentes se colocara diferente proporción de la master mix, usando la siguiente concentración observada en la **Tabla 2** y completando el volumen final de 25 mL.

**Tabla 2 Composición de la Master Mix por genes**

Componentes	<i>matK/ rpoC1</i>	<i>ycf1</i>
	Vol (μL) para 1 muestra	Vol (μL) para 1 muestra
<b>Buffer</b>	12,5	12,5
<b>Primer Forward</b>	1	1
<b>Primer Reverse</b>	1	1
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	-	0,5
<b>Agua</b>	4,5	4
<b>ADN</b>	6	6
<b>Volumen total</b>	25	25

Fuente: Mogrovejo & Proaño, (2020)

Es importante, destacar que las condiciones de amplificación tomadas como referencia, fueron modificadas por los autores, en función del propósito de la investigación para cada uno de los genes a estudio y tomando el inserto de la taq *Platinum™ SuperFi™ PCR Master Mix* para la realización de los protocolos de PCR, tomando en cuenta las temperaturas para cada fase como se lo detalla en **Tabla 3**.

**Tabla 3 Temperaturas para amplificación de, *matK*, *rpoC1* *ycf1***

Componentes	<i>matK</i>			<i>rpoC1</i>			<i>ycf1</i>		
	T (°C)	Tiempo	Ciclos	T (°C)	Tiempo	Ciclos	T (°C)	Tiempo	Ciclos
<b>Desnaturalización</b>	96	2 min	1	96	5 min.	1	95	5 min.	1
<b>Alineamiento</b>	94	15 seg.		95	30 seg.		95	30 seg	
	53.5	15 seg.	40	55,5	30 seg.	35	57,4	30 seg	38
				72	1 min.		72	40 seg	
<b>Elongación</b>	68	20 seg.	1	72	5 min.	1	72	10 min	1
<b>Mantenimiento</b>	4	∞	∞	4	∞	∞	4	∞	∞

Fuente: (Londoño & Villanueva, 2021; Mogrovejo & Proaño, 2020)

La evaluación del producto de PCR se realizó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%, procedimiento descrito anteriormente en sección 3.3.1.2; después de esto se cargó 2 μL de producto de PCR y 2 μL de tampón de carga. Para el primer pocillo del gel, se

inserta 2 µL del marcador molecular *O' GeneRuler Express DNA Ladder ready-to-use* [0,1 µg/ µL] de 100- 5000 bp, como referencia para la estimación del tamaño de las bandas (*Thermo Fisher Scientific*, 2018), los cebadores que fueron utilizados poseen una sección de ADN ya estipulada, la cual esta detallada en la **Tabla 4**.

**Tabla 4 Cebadores de las regiones cloroplásticas *matK*, *rpoCl*, *ycf1***

Región	Cebadores	Secuencia	Producto de PCR	Referencia Bibliográfica
<b>Gen <i>matK</i></b>	<i>matK</i> 2.1 Fwd	5' – ATCCATCTGGAAATCTTAGTTC – 3' (22 nt)	750 pb	(Mogrovejo & Proaño, 2020
	<i>matK</i> 2.1 Rvs	5' – GTTCTAGCACAAGAAAGTCG – 3' (20 nt)		Montalvo & Vargas, 2019).
<b>Gen <i>rpoCl</i></b>	<i>rpoCl</i> Fwd	5' – GTGGATACACTTCTTGATAATGG – 3' (23 nt)	500 pb	(Mogrovejo & Proaño, 2020
	<i>rpoCl</i> Rvs	5' – CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG – 3' (25 nt)		Montalvo & Vargas, 2019).
<b>Gen <i>ycf1</i></b>	<i>ycf1</i> Fwd	5' – TGAACGAATGGAAAACTGGTT – 3' (22 nt)	1500 pb	(Londoño & Villanueva, 2021; Dong et al., 2018).
	<i>ycf1</i> Rvs	5' – GCTGTGTCGTGCAATGGWTT – 3' (20 nt)		

**Elaborado por:** (Los Autores, 2023)

### 3.3.4. Secuenciación

Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados por el método *Sanger* en el equipo *SeqStudio Genetic Analyzer de Thermo Fisher Scientific*. Se designó dos muestras de amplicon

con un volumen total de 2  $\mu\text{L}$  por cada región cloroplástica: *matk*, *rpoC1* y *ycf1* respectivamente (Thermo Fisher Scientific, 2018).

### 3.3.4.1. Purificación de los productos de PCR con ExoSAP-IT

Previo a la reacción de secuenciación de ADN, se debe realizar una purificación de los productos de PCR con el reactivo enzimático ExoSAP-IT que se encarga de hidrolizar el excedente de cebadores y nucleótidos en un solo paso (Thermo Fisher Scientific, 2023).

Para ello, en un nuevo microtubo de 0,2 mL se adiciono 2  $\mu\text{L}$  de ExoSAP-IT por cada 5  $\mu\text{L}$  de reacción de PCR. Posterior, se incubo las muestras en un termociclador *ProFlex PCR System*, *Applied Biosystems-USA* a las siguientes condiciones: 37 ° C por 15 min para activar la enzima y degradar los productos residuales y luego a 80 ° C por 15 min para inactivar los componentes de ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific, 2023).

### 3.3.4.2. Reacción de Secuenciación

La incubación enzimática, se preparó según el inserto proporcionado, tomando en cuenta las cantidades de cada uno como se lo ve en la **Tabla 5**.

**Tabla 5 Componentes de la reacción de secuenciación**

Componentes	<i>matK/ rpoC1</i>	<i>ycf1</i>
	Vol ( $\mu\text{L}$ ) para 1 muestra	Vol ( $\mu\text{L}$ ) para 1 muestra
<b>Big Dye Terminator 5x Sequencing</b>	4	4
<b>Big Dye Terminator Cycle Sequencing</b>	4	4
<b>Primer Forward</b>	1	2
<b>ADN Templado</b>	2	7
<b>Agua Libre de nucleasas</b>	9	3
<b>Volumen total</b>	20	20

Fuente: (Thermo Fisher Scientific, 2023)

Una vez preparada la mezcla y colocada en cada microtubo, se estableció las condiciones de secuenciación en el termociclador *ProFlex PCR System, Applied Biosystems-USA*, las cuales se detallan en **Tabla 6**.

**Tabla 6 Preparación de los componentes de la reacción de secuenciación**

Paso	Temperatura	Tiempo	N° de Ciclos
<b>Desnaturalización Inicial</b>	96°C	1 min	1x
<b>Desnaturalización</b>	96°C	10 seg	25x
<b>Alineación</b>	50°C	5 seg	
<b>Extensión</b>	60°C	4 min	
<b>Mantenimiento</b>	4°C	∞	1x

Fuente: (*Thermo Fisher Scientific, 2023*)

### 3.3.4.3.Preparación de los componentes de purificación

Se realizó una mezcla de purificación, la cual ayuda a que las muestras sean analizadas idóneamente en la reacción de secuenciación, los componentes utilizados son los que se detallan en **Tabla 7**.

**Tabla 7 Componentes de purificación**

Componente	Control pGEM (µL)	Volumen para 1 muestra (µL)	Volumen para 6 muestras (µL)
<b>Solución SAM</b>	45 µL	45 µL	270 µL
<b>Solución BDx</b>	10 µL	10 µL	60 µL
<b>Producto de Secuenciación</b>	10 µL	10 µL	60 µL
Volumen Total	65 µL	65 µL	390 µL

Fuente: (*Thermo Fisher Scientific, 2023*)

Una vez alicuotada la mezcla de purificación, se procedió a cerrar la placa y se colocó en agitación por vortex a alta velocidad durante 30 min, después se centrifugo a 1000g por 2 min (*Thermo Fisher Scientific, 2018*).

Con todas las muestras homogenizadas, se procedió a instalar el cartucho de lectura del equipo Secuenciador y se introdujo la placa con las muestras a analizar, a continuación, se eligió los parámetros de inyección, voltaje y se dio inicio al proceso de Secuenciación por método Sanger (Rivas & Salazar, 2017).

Una vez culminada el proceso, se verifico la hoja de control de calidad de la reacción de secuenciación, verificando que el control positivo (pGEM) y las muestras hayan sido identificadas y en base a cada secuencia génica se genere su respectivo cromatograma en formato ab1 (*Thermo Fisher Scientific*, 2018).

### **3.4. Filogenia molecular**

Para la realización de la filogenia molecular se manejó los siguientes procedimientos *a priori* con el fin de procesar los datos biológicos y convertirlos en datos bioinformáticos.

#### **3.4.1. Control de calidad**

Se evaluó la calidad de los cromatogramas generados previamente por el secuenciador en formato “ab1”. Las secuencias de las regiones cloroplásticas *matK*, *rpoC1* y *ycf1* fueron evaluadas mediante el programa *FinchTV* versión 1.4.0, basado en el estudio Mogrovejo & Proaño, (2020). Se seleccionaron aquellas secuencias que presentaron un porcentaje de calidad  $\geq 80\%$ , los que no cumplieron este parámetro fueron descartados del análisis bioinformático.

Para el análisis y edición de las secuencias génicas seleccionadas, se manejó el programa MEGA X en la cual se editó el nombre y se realizó la limpieza del ruido de fondo; una vez obtenidas las secuencias depuradas se realizó un alineamiento múltiple con el algoritmo MUSCLE y se procedió a la construcción de los árboles filogenéticos (Kumar *et al.*, 2021).

### **3.4.2. Alineamiento múltiple**

Para el alineamiento múltiple se ocupó las secuencias de las especies ecuatorianas del género *Gongora* provenientes del Trabajo de Titulación de las ingenieras Mogrovejo y Proaño (2020), también se emplearon secuencias obtenidas de *GenBank* de especies extranjeras del género, con el fin de proporcionar mayor resolución/robustez a los árboles finales y visualizar de mejor manera la formación de grupos (Kumar *et al.*, 2021).

Para el alineamiento múltiple de secuencias se manejó la herramienta bioinformática *GBlocks* 0.91b que permitió la selección de bloques conservados de secuencias, eliminación de posiciones mal alineadas y regiones divergentes de ADN o proteínas con el fin de que los datos obtenidos sean idóneos para el análisis filogenético (Endara & Ocaña, 2022).

### **3.4.3. Elección de método evolutivo**

Para la elección del método evolutivo para cada región cloroplástica, se empleó el modelo de estimación de Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood*) mediante el programa MEGA X (*Molecular Evolutionary Genetics Analyzer*) (Kumar *et al.*, 2021).

### **3.4.4. Elaboración de árbol filogenético**

Para la elaboración del árbol filogenético, se parametrizo los datos obtenidos de NCBI en base a dos modelos evolutivos: Tamura-Nei y Tamura 3-parameter, para cada uno se empleó Bootstraps con 1000 réplicas (Peña, 2011; Montalvo y Vargas, 2019; Albán y Toapanta, 2019). Los árboles obtenidos fueron enraizados bajo el criterio del grupo externo, estas secuencias fueron obtenidas del GenBank, se escogió a *Stanhopea saccata* y *Coeliopsis hyacinthosma* como grupos externos tanto para el árbol de *matK*, *rpocl* y *ycf1* también se colocó el mismo grupo externo debido a que las dos especies pertenecen a la tribu Cymbidieae que constituye

un taxón externo se lo coloco de la forma como esta detallada en la **Tabla 8** (Mogrovejo & Proaño, 2020; Batista *et al.*, 2014).

**Tabla 8 Grupos externos para el análisis filogenético**

<b>N°</b>	<b>Gen</b>	<b>Grupo externo</b>
	<i>matK</i>	<i>Stanhopea saccata</i> <i>Stanhopea trigrina</i> <i>Coeliopsis hyacinthosma</i>
	<i>rpoCl</i>	<i>Stanhopea saccata</i> <i>Coeliopsis hyacinthosma</i>
	<i>ycf1</i>	<i>Stanhopea trigrina</i> <i>Coeliopsis hyacinthosma</i>

**Elaborado por:** (Los Autores, 2023)

#### 4. Resultados y discusión

##### 4.1. Recolección, preparación de muestras y estudio molecular

La colección de muestras foliares del género *Gongora* de las especies registradas en el Ecuador se obtuvieron 12 muestras las cuales se detallan en la tabla **Tabla 9**.

**Tabla 9** Especies del género *Gongora* recolectadas

N° de Muestra	Nombre Científico	Código de Colección	Lugar de recolección
1	<i>Gongora sp.</i>	4511	Pichincha -Pedro
2	<i>Gongora (Logroño)</i>	4514	Vicente Maldonado
3	<i>Gongora ilense</i>	4623	Zamora Chinchipe
4	<i>Gongora pardina</i>	4624	Invernaderos de
5	<i>Gongora pleiochroma</i>	4625	Ecuagenera.
6	<i>Gongora odoratissima</i>	4626	
7	<i>Gongora sp.</i>	4689	Pichincha -Quito
8	<i>Gongora sp.</i>	4690	Invernadero de
9	<i>Gongora sp.</i>	4691	colección privada.
10	<i>Gongora sp.</i>	4692	
11	<i>Gongora sp.</i>	4695	
12	<i>Gongora sp.</i>	4698	

Elaborado por: (Los Autores, 2023)

Figura 10 Recolección de muestras



Figura 6: Extracción de la muestra 4511 en Loja

**Fuente:** Torres, (2022)

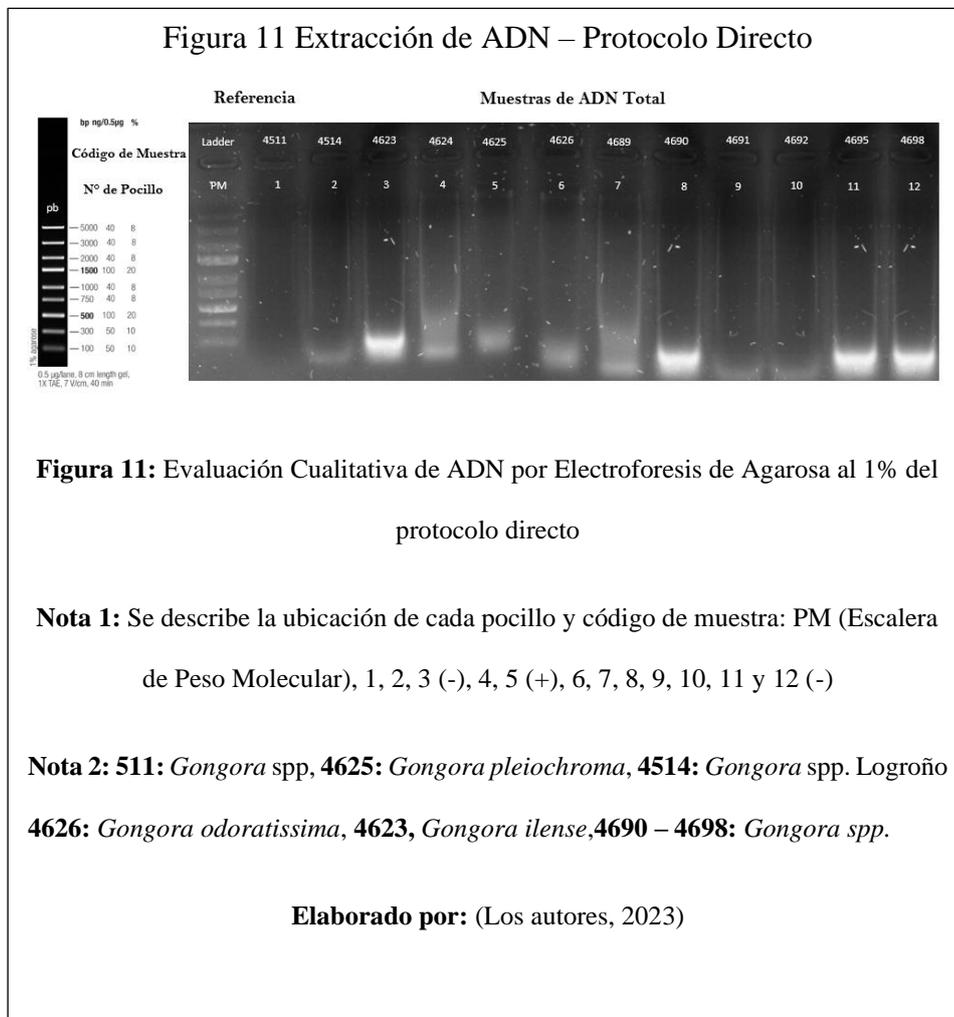
## 4.2. Estudio molecular

### 4.2.1. Extracción y evaluación de ADN

Para la extracción y evaluación cualitativa de ADN, se empleó dos métodos; el protocolo directo por kit comercial y el protocolo modificado de Doyle & Doyle basado en la investigación de (Mogrovejo & Proaño, 2020).

Al realizar el protocolo directo, se obtuvo de una presencia baja a nula de ADN total en la mayor cantidad de muestras vegetales, esto se debe a que el kit universal empleado para la extracción del material genético puede funcionar para una variedad de muestras como: ADN bacteriano, fúngico, animal y vegetal, sin embargo se menciona en el estudio de Rios Sánchez *et al.*, (2016) “Los kits de casas comerciales que han desarrollado estos protocolos de extracción rápida de ADN; a pesar de que los resultados son reproducibles y se obtiene material de alta

pureza y peso molecular, la principal limitante del uso de estos métodos es el costo y la poca cantidad de material genético recuperada durante el proceso”.



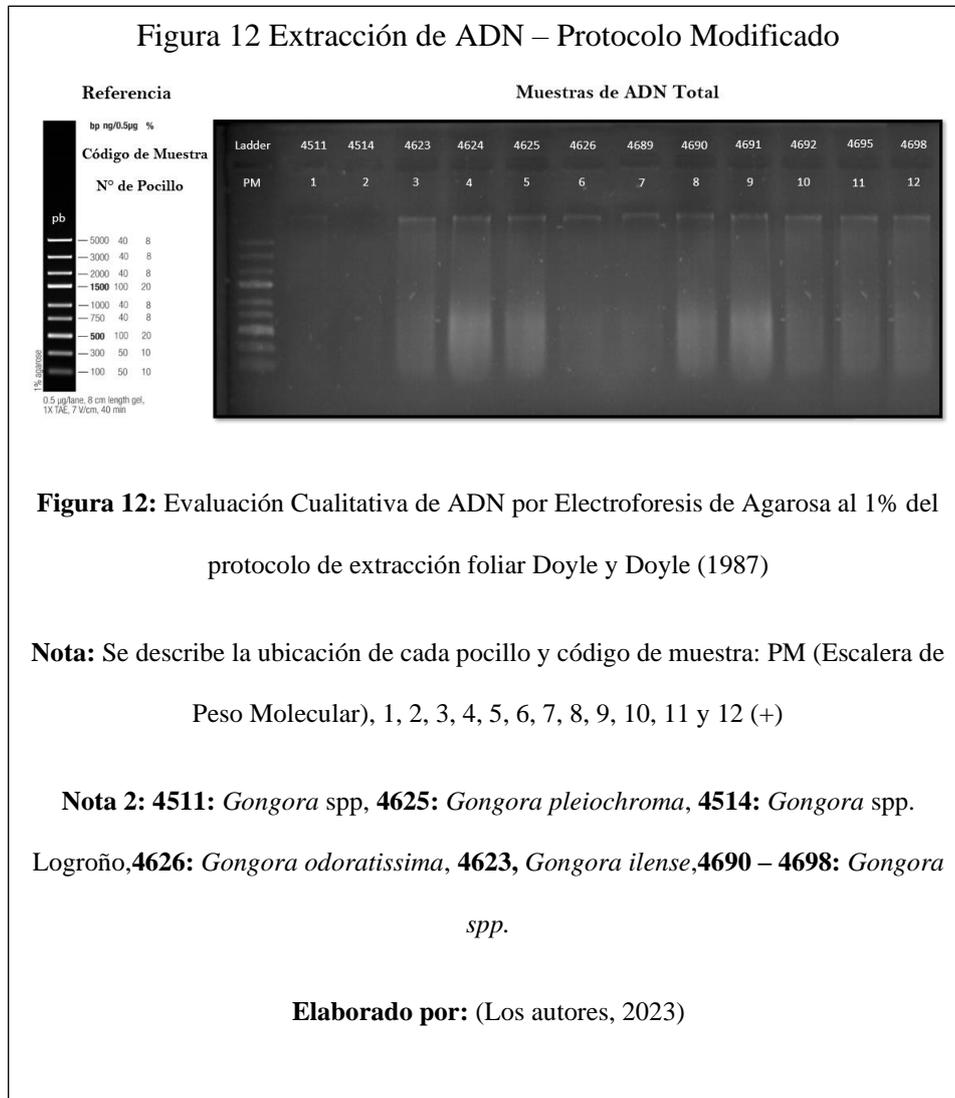
Al realizar el protocolo modificado de Doyle & Doyle, (1987), se obtuvo ADN para la totalidad de las muestras vegetales como se visualiza en la **Tabla 10**, correspondiente al tamaño esperado >5000 pb, cabe destacar que el empleo de material fresco vegetal es de suma importancia para el éxito en la extracción de ADN debido a que la liberación del material genético endógeno estará mediada por la acción de soluciones tampón y la lisis mecánica generada durante la maceración de las muestras vegetales. (Endara & Ocaña, 2022; Iza, 2018).

También hay que tomar en cuenta que los tejidos jóvenes contienen más cantidad de ADN en contraste a los tejidos viejos, el método de extracción del material genético para tejidos con presencia de metabolitos secundarios (p.e: compuestos fenólicos, polisacáridos) es diferente a los protocolos clásicos de extracción de ADN vegetal y no pueden ser generalizados para todas las especies vegetales, depende de factores intrínsecos como: el tipo de tejido (hoja, raíz, flor, fruto) que se va a emplear como fuente de material genético de estudio, la frescura y sanidad de la muestra (Suazo Ubieta *et al.*, 2020).

**Tabla 10 Resultados de integridad de ADN de Protocolo Directo y Modificado**

N° de Muestra	Nombre Científico	Código de Colección	Extracción de ADN	
			P. Directo	P. Modificado
1	<i>Gongora sp.</i>	4511	-	+
2	<i>Gongora (Logroño)</i>	4514	-	+
3	<i>Gongora ilense</i>	4623	-	+
4	<i>Gongora pardina</i>	4624	+	+
5	<i>Gongora pleiochroma</i>	4625	+	+
6	<i>Gongora odoratissima</i>	4626	-	+
7	<i>Gongora sp.</i>	4689	-	+
8	<i>Gongora sp.</i>	4690	-	+
9	<i>Gongora sp.</i>	4691	-	+
10	<i>Gongora sp.</i>	4692	-	+
11	<i>Gongora sp.</i>	4695	-	+
12	<i>Gongora sp.</i>	4698	-	+

Figura 12 Extracción de ADN – Protocolo Modificado



**Figura 12:** Evaluación Cualitativa de ADN por Electroforesis de Agarosa al 1% del protocolo de extracción foliar Doyle y Doyle (1987)

**Nota:** Se describe la ubicación de cada pocillo y código de muestra: PM (Escalera de Peso Molecular), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 (+)

**Nota 2:** **4511:** *Gongora* spp, **4625:** *Gongora pleiochroma*, **4514:** *Gongora* spp. Logroño, **4626:** *Gongora odoratissima*, **4623,** *Gongora ilense*, **4690 – 4698:** *Gongora* spp.

**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

#### 4.2.2. Amplificación de ADN

Para la amplificación se manejó el gen *ycf1*, *matK*, *rpoC1* que se diferencian las bandas de concentración en cada una, obteniendo los resultados detallados en la **Tabla 11**.

**Tabla 11 Resultados de amplificación del gen *matK*; *rpoC1*; *ycf1***

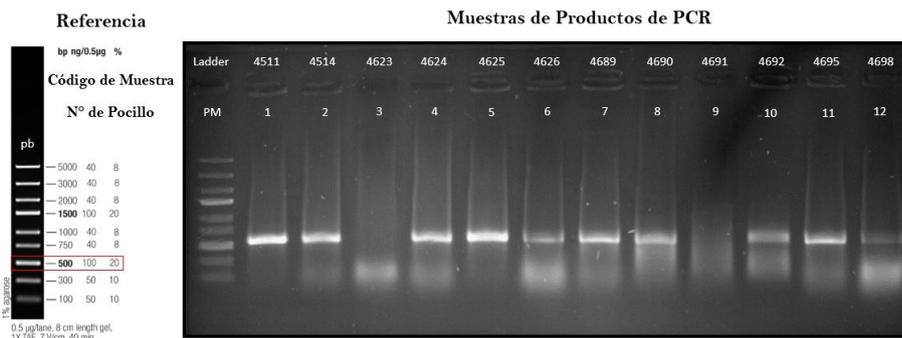
N° de Muestra	Nombre Científico	Código de Colección	Amplificación de ADN		
			<i>matK</i>	<i>rpoC1</i>	<i>ycf1</i>
1	<i>Gongora sp.</i>	4511	+	+	+
2	<i>Gongora</i> (Logroño)	4514	+	+	+
3	<i>Gongora ilense</i>	4623	-	-	+
4	<i>Gongora pardina</i>	4624	+	+	+
5	<i>Gongora pleiochroma</i>	4625	+	+	-
6	<i>Gongora odoratissima</i>	4626	+	+	-
7	<i>Gongora sp.</i>	4689	+	+	-
8	<i>Gongora sp.</i>	4690	-	+	-
9	<i>Gongora sp.</i>	4691	-	-	-
10	<i>Gongora sp.</i>	4692	+	+	-
11	<i>Gongora sp.</i>	4695	+	+	-
12	<i>Gongora sp.</i>	4698	+	+	-

Elaborado por: Los autores, (2022)

#### 4.2.2.1. Gen *rpoC1*

En el estudio, la región cloroplástica *rpoC1* se amplificó mediante la técnica PCR convencional con un total de 10 productos de PCR de las 12 muestras colectadas, dando un resultado positivo por presencia de fragmentos de ADN con mayor intensidad en el rango de los marcadores de peso molecular *GeneRuler DNA Ladder* como se lo ve en la **Figura 13** (*Thermo Fisher Scientific*, 2017) El tamaño del amplicon se visualizó en una longitud promedio de 500 pb como se ve en la *Figura 13* y posee una concentración entre 20 – 100 ng/μl., estos resultados se asemejan a los resultados de Endara & Ocaña (2022) que se evidenciaron la presencia de cadenas de ADN de más de 500 pb y una concentración de 40-100 ng/μL aproximadamente

Figura 13 Amplificación de ADN – Gen *rpoc1*



**Figura 13:** Visualización de productos de PCR del gen *rpoc1* por Electroforesis de Agarosa al 1% mediante el Kit *Platinum Direct PCR Universal Master Mix*

**Nota:** Se describe la ubicación de cada pocillo y código de muestra: PM (Escalera de Peso Molecular), 1, 2 (+), 3 (-), 4, 5, 6, 7, 8 (+), 9 (-), 10, 11 y 12(+)

**Nota 2:** **4511:** *Gongora* spp, **4625:** *Gongora pleiochroma*, **4514:** *Gongora* spp. Logroño, **4626:** *Gongora odoratissima*, **4623,** *Gongora ilense*, **4690 – 4698:** *Gongora* spp.

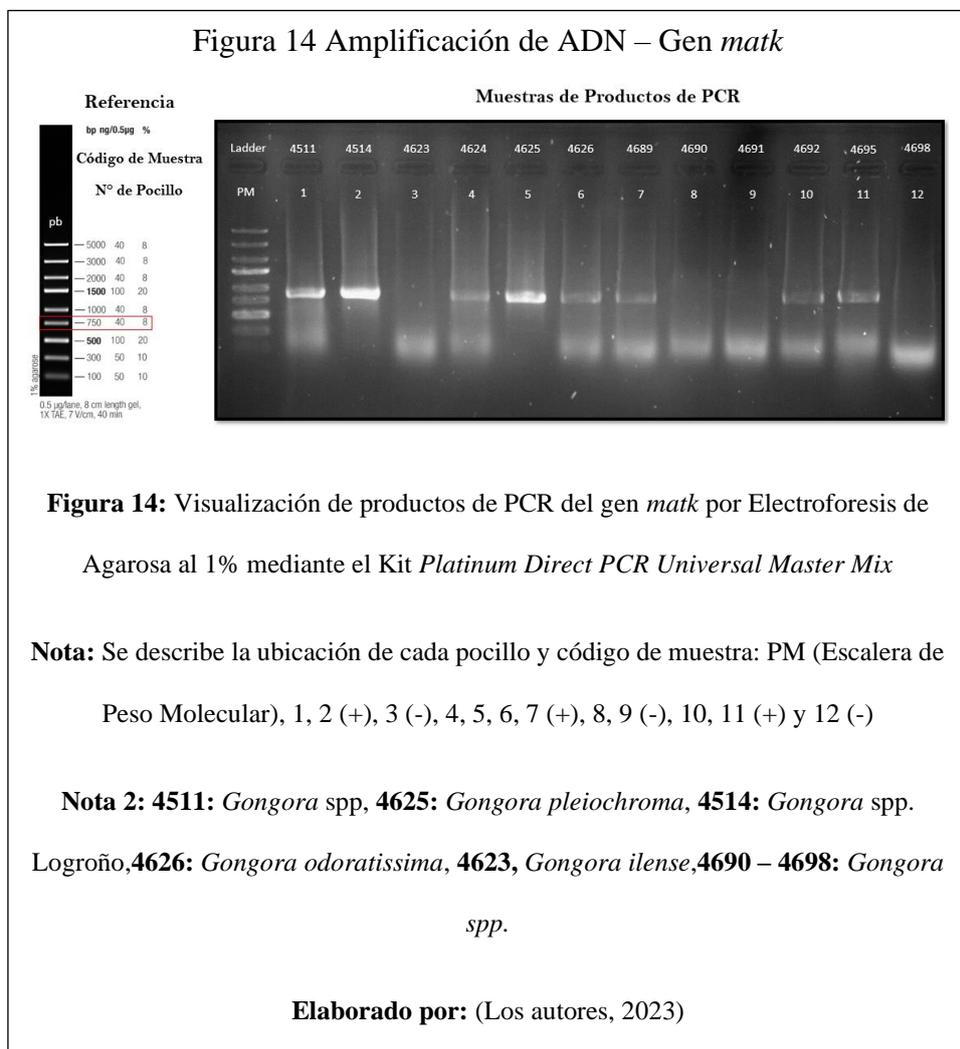
**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

#### 4.2.2.2. Gen *matK*

En el estudio, la región cloroplástica *matk* se amplificó mediante la técnica PCR convencional con un total 8 productos de PCR de las 12 muestras colectadas, dando un resultado positivo por la presencia de fragmentos de ADN con mayor intensidad en el rango de los marcadores de

peso molecular *GeneRuler DNA Ladder* como se ve en la **Figura 14** (*Thermo Fisher Scientific*, 2017).

El tamaño del amplicon se visualizó en una longitud promedio de 750 pb como se ve en la *Figura 14* y está una concentración entre 20 -100 ng/μl., estos resultados se asemejan a Endara & Ocaña (2022) las cuales demuestran cadenas son entre 500 – 750 pb y una concentración de 50 a 100 ng/μL.



#### 4.2.2.3. Gen *ycf1*

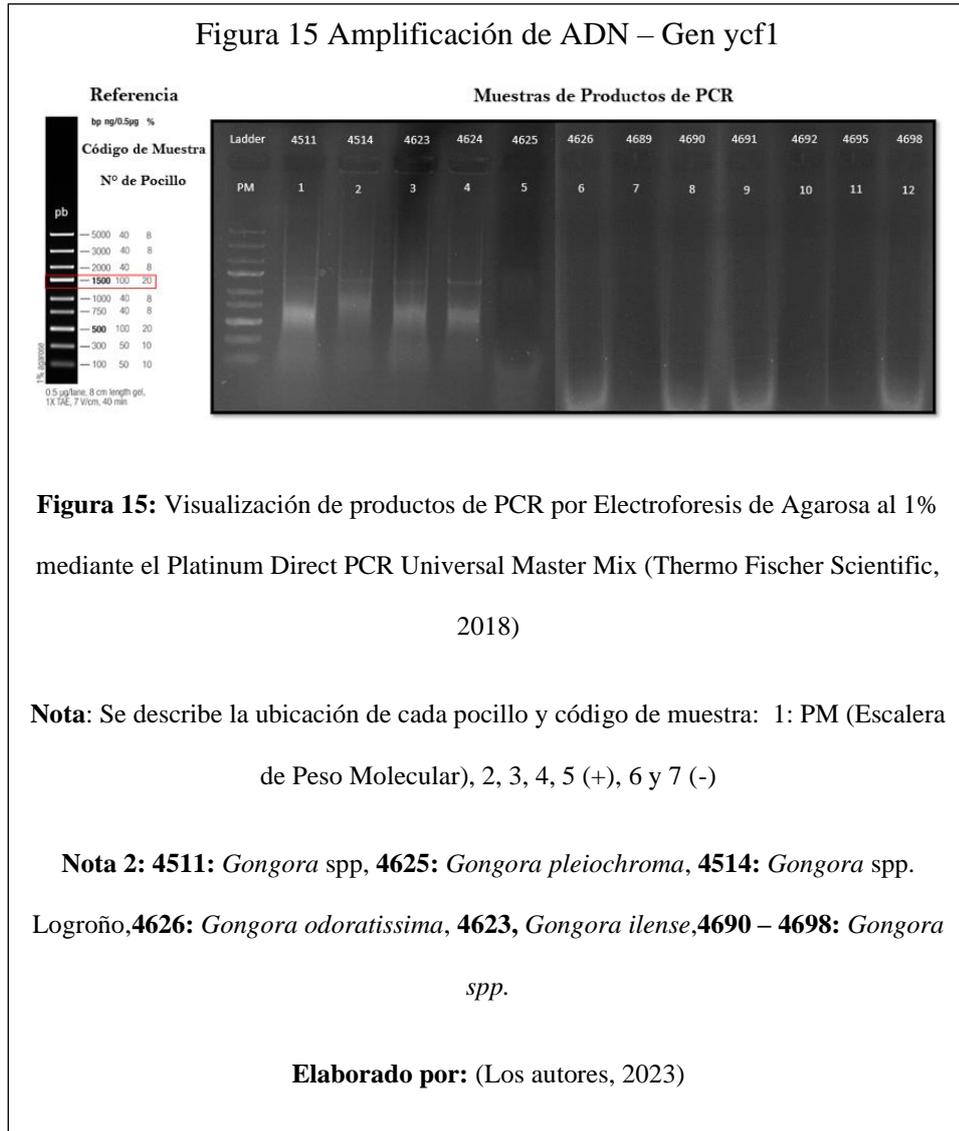
En el estudio, la región cloroplástica *ycf1* se amplificó mediante la técnica PCR convencional con un total de 4 productos de PCR de las 12 muestras colectadas, obteniendo un resultado positivo por la presencia de fragmentos de ADN con mayor intensidad en el rango de los marcadores de peso molecular *GeneRuler DNA Ladder* como se ve en la **Figura 15** (*Thermo Fisher Scientific*, 2017).

El tamaño del amplicon se visualizó en una longitud promedio de 1500 pb como se ve en la *Figura 15* y está en una concentración entre 20 – 100 ng/μl., estos resultados se asemejan a las investigaciones de Calderón & Prexl (2019), amplificando las regiones de ADN cloroplástico de un tamaño aproximado de 1376-1696 pb.

La no amplificación de las muestras con los cebadores de *ycf1* pudo deberse a la alta variabilidad que presenta este marcador, aún más cuando existen caracteres muy conservados en ciertas especies de los diferentes géneros de orquídeas, los cuales podrían evolucionar de forma independiente causando mutaciones de la secuencia nucleotídica y por ende resultaría en la amplificación nula o parcial de la secuencia de interés (Dong *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2010).

Además, este resultado parcial pudo deberse a que algunos taxones presentan mutaciones críticas en los extremos 3', lo cual genera una falencia al momento de amplificar la región *ycf1*. Por esta razón, se considera factible el uso de múltiples combinaciones de cebadores de la región *ycf1* con el fin de que estos segmentos puedan amplificar para un número variable de nucleótidos de la porción 3' del gen cloroplástico (Calderón & Prexl, 2019; Neubig & Abbott, 2010).

Figura 15 Amplificación de ADN – Gen ycf1



**Figura 15:** Visualización de productos de PCR por Electroforesis de Agarosa al 1% mediante el Platinum Direct PCR Universal Master Mix (Thermo Fischer Scientific, 2018)

**Nota:** Se describe la ubicación de cada pocillo y código de muestra: 1: PM (Escalera de Peso Molecular), 2, 3, 4, 5 (+), 6 y 7 (-)

**Nota 2:** **4511:** *Gongora* spp, **4625:** *Gongora pleiochroma*, **4514:** *Gongora* spp. Logroño, **4626:** *Gongora odoratissima*, **4623,** *Gongora ilense*, **4690 – 4698:** *Gongora* spp.

**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

#### 4.2.3. Secuenciación de ADN

Se tomó como base dos muestras de producto de PCR con presencia de banda significativa tomando tres muestras de cada una para cada gen como se ve en la

**Tabla 12,** considerando que son las muestras que poseían mejor banda.

**Tabla 12 Muestras para secuenciación**

N° de Muestra	Nombre Científico	Código de Colección	Muestras utilizadas para secuenciación		
			<i>matK</i>	<i>rpoc1</i>	<i>ycf1</i>
1	<i>Gongora sp.</i>	4511	1	1	1
2	<i>Gongora pardina</i>	4624	1	1	1

**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

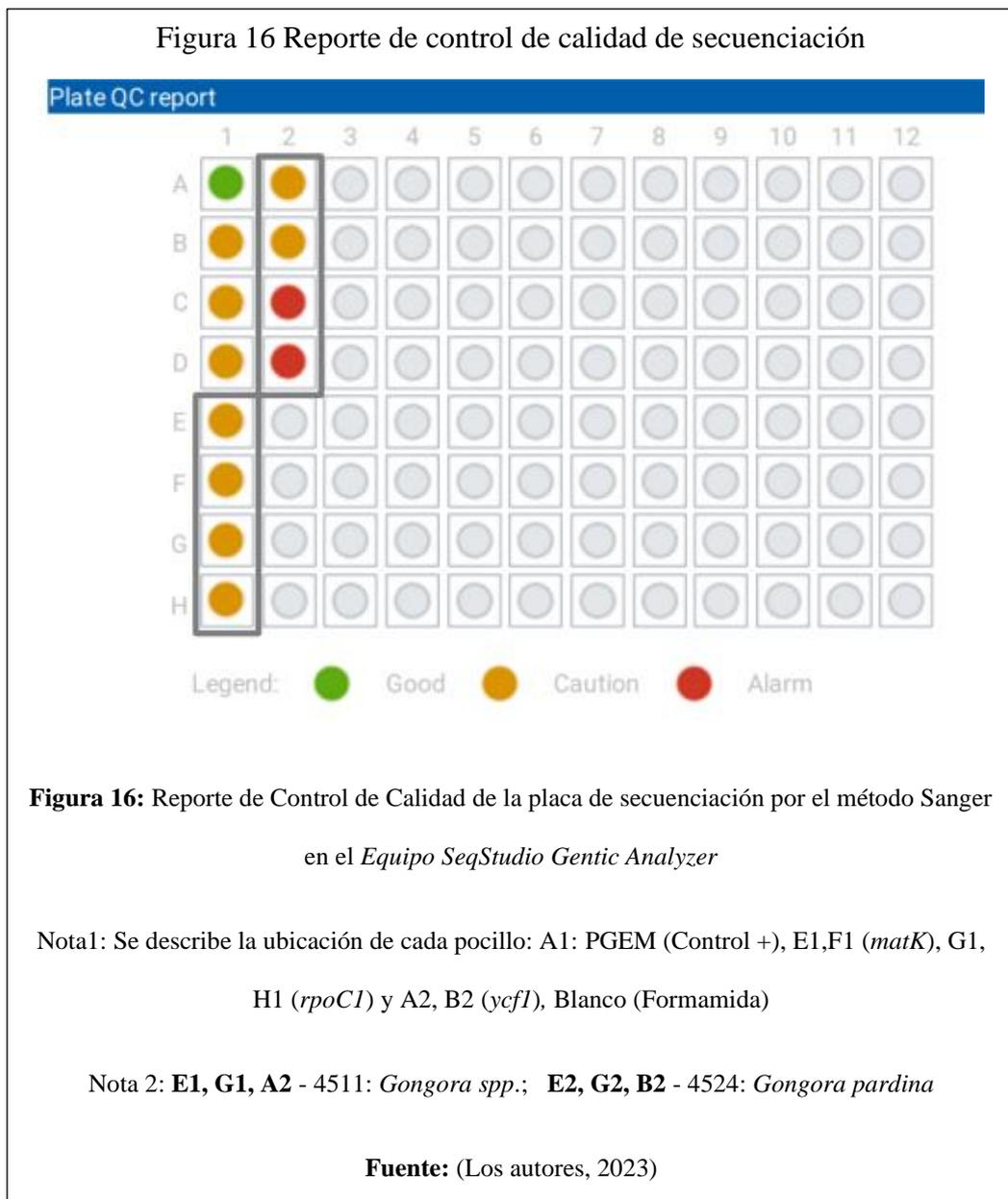
Una vez culminado el proceso de secuenciación, se obtuvo el reporte de control de calidad del equipo *SeqStudio Genetic Analyzer*, como se lo indica en la *Tabla 13*, el cual indica que cada muestra analizada en los pocillos de la placa son de calidad media según la escala de colores, considerando que el color verde corresponde a calidad óptima, el color amarillo calidad media y el color rojo calidad baja según el inserto proporcionado por *Thermo Fisher Scientific*, (2022) y como se lo puede ver en la *Tabla 13*.

**Tabla 13 Resultados de Control de calidad de secuenciación**

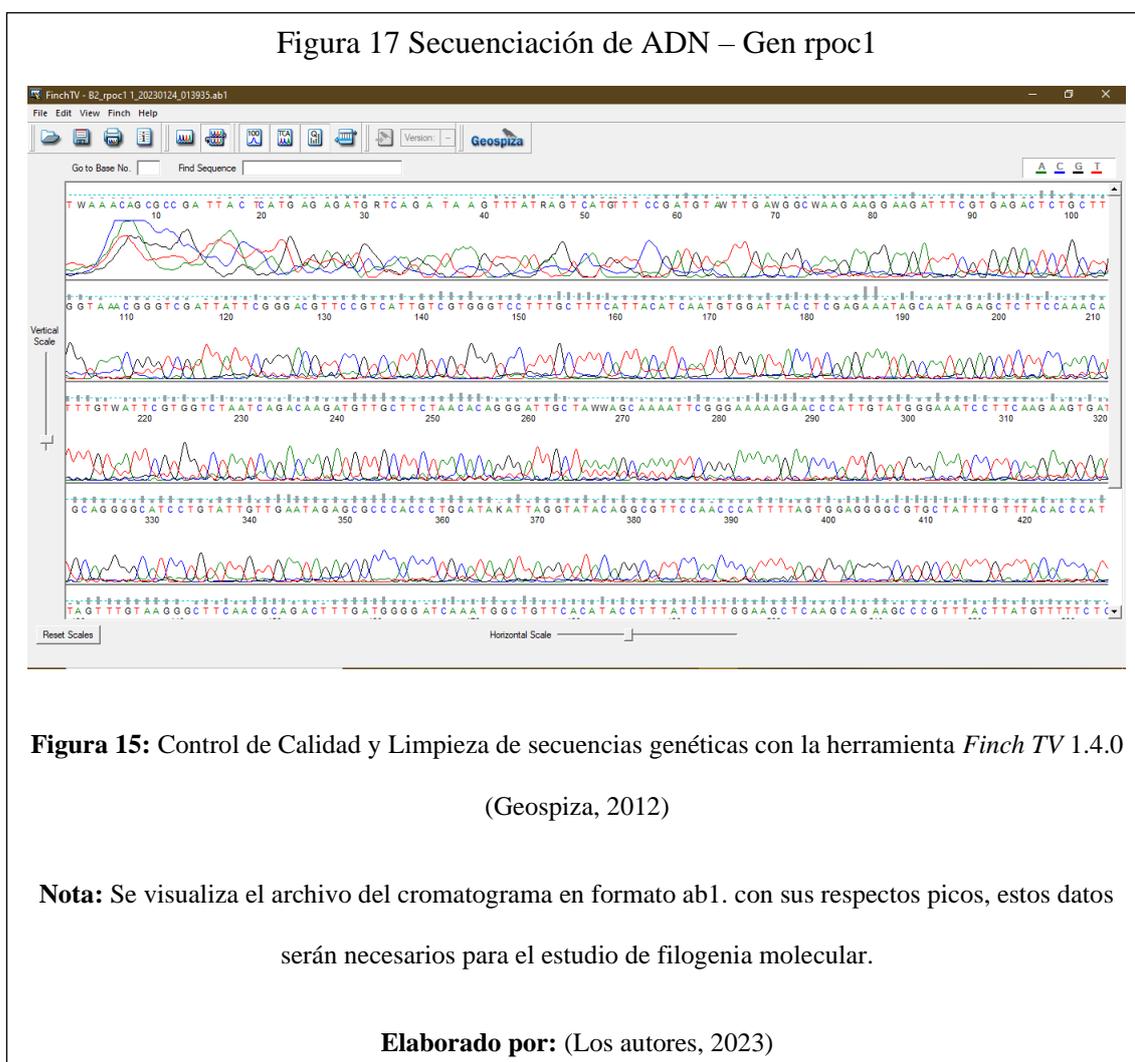
N°	Pocillo	Color	Control	Gen	Cód.	Muestra
1	A1	Verde	Buena	pGEM	-----	Control positivo
2	B1, C1, D1	Amarillo	Media	Muestra externa	Muestra externa	Muestra externa

<b>3</b>	E1	Amarillo	Media	<i>matK</i>	4511	<i>Gongora sp.</i>
<b>4</b>	F1	Amarillo	Media	<i>matK</i>	4624	<i>Gongora pardina</i>
<b>5</b>	G1	Amarillo	Media	<i>rpoC1</i>	4511	<i>Gongora sp.</i>
<b>6</b>	H1	Amarillo	Media	<i>rpoC1</i>	4624	<i>Gongora pardina</i>
<b>7</b>	A2	Amarillo	Media	<i>ycf1</i>	4511	<i>Gongora sp.</i>
<b>8</b>	B2	Amarillo	Media	<i>ycf1</i>	4624	<i>Gongora pardina</i>
<b>9</b>	C2	Rojo	Baja	-----	-----	<i>Formamida</i>
<b>10</b>	D2	Rojo	Baja	-----	-----	<i>Formamida</i>

Elaborado por: (Los autores, 2023)



Para el análisis siguiente se obtuvo como resultado un cromatograma de fluorescencia que indica la amplitud de cada pico correspondiente a la fuerza o certeza de la llamada nucleotídica y la cual el archivo final fue obtenido en formato *ab1* como se lo ve en la **Figura 17** con el gen *rpoC1*.



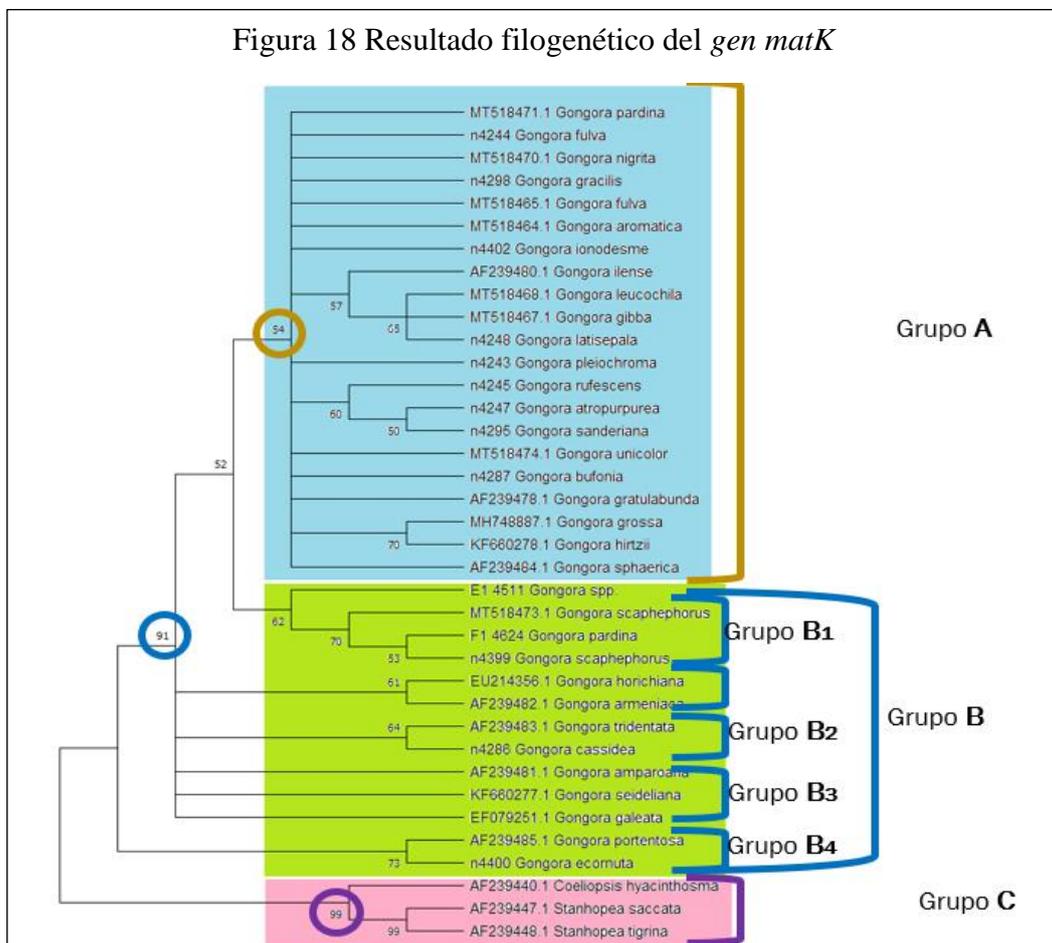
### 4.3. Filogenia molecular

Para complementar el análisis filogenético del género *Gongora* se adicionó los datos de secuencias nucleotídicas provenientes del Trabajo de Titulación de las autoras Mogrovejo &

Proaño (2020) y referencias genéticas certificadas en formato fasta de la base de datos NCBI para cada región cloroplástica de estudio.

#### 4.3.1. Análisis filogenético del gen *matK*

Con respecto al gen *matK* se evidenciaron 3 grupos; Grupo A, Grupo B y Grupo C. En el primer grupo se visualizó la presencia de una politomía muy marcada, en la cual se puede mencionar que en estas especies se están manejando especies idénticas o con diferente autor y también se unen las muestras: **E1** *Gongora* sp. y **F1** *Gongora pardina* que se colocaron como resultado de secuenciación. En el Grupo B se puede visualizar una diferenciación significativa entre las especies actuales y el ancestro común, finalmente en el Grupo C; se los grupos externos correspondientes a las especies vegetales de *Coeliopsis hyacynthosma* y *Stanhopea saccata*.



**Figura 17:** Visualización de resultado del análisis filogenético del gen *matK*

**Nota:** Las especies externas presente son *Stanhopea tigrina*, y *Coeliopsis hyacynthosma*.

### 4.3.2. Análisis filogenético del gen *rpoC1*

Figura 19 Resultado filogenético del *gen rpoC1*

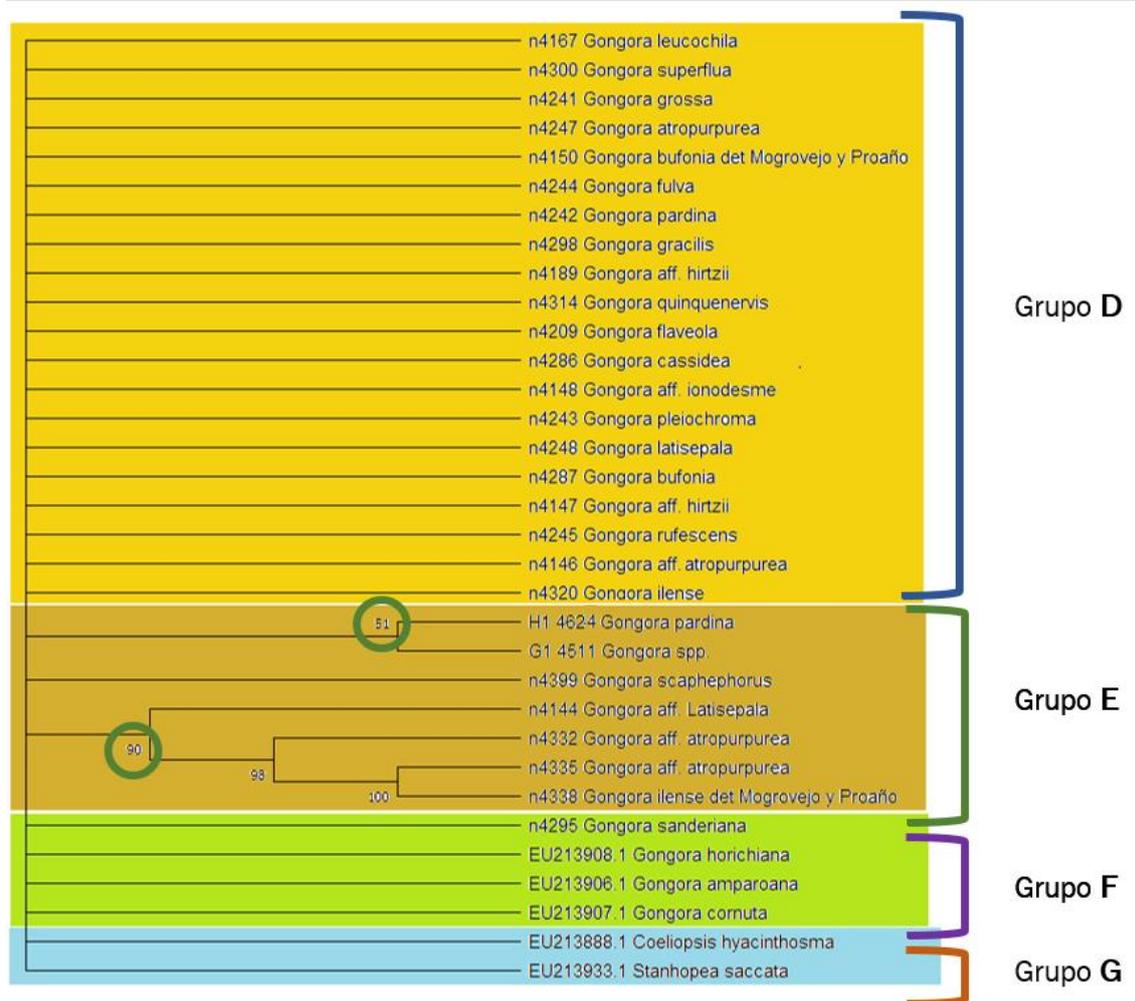


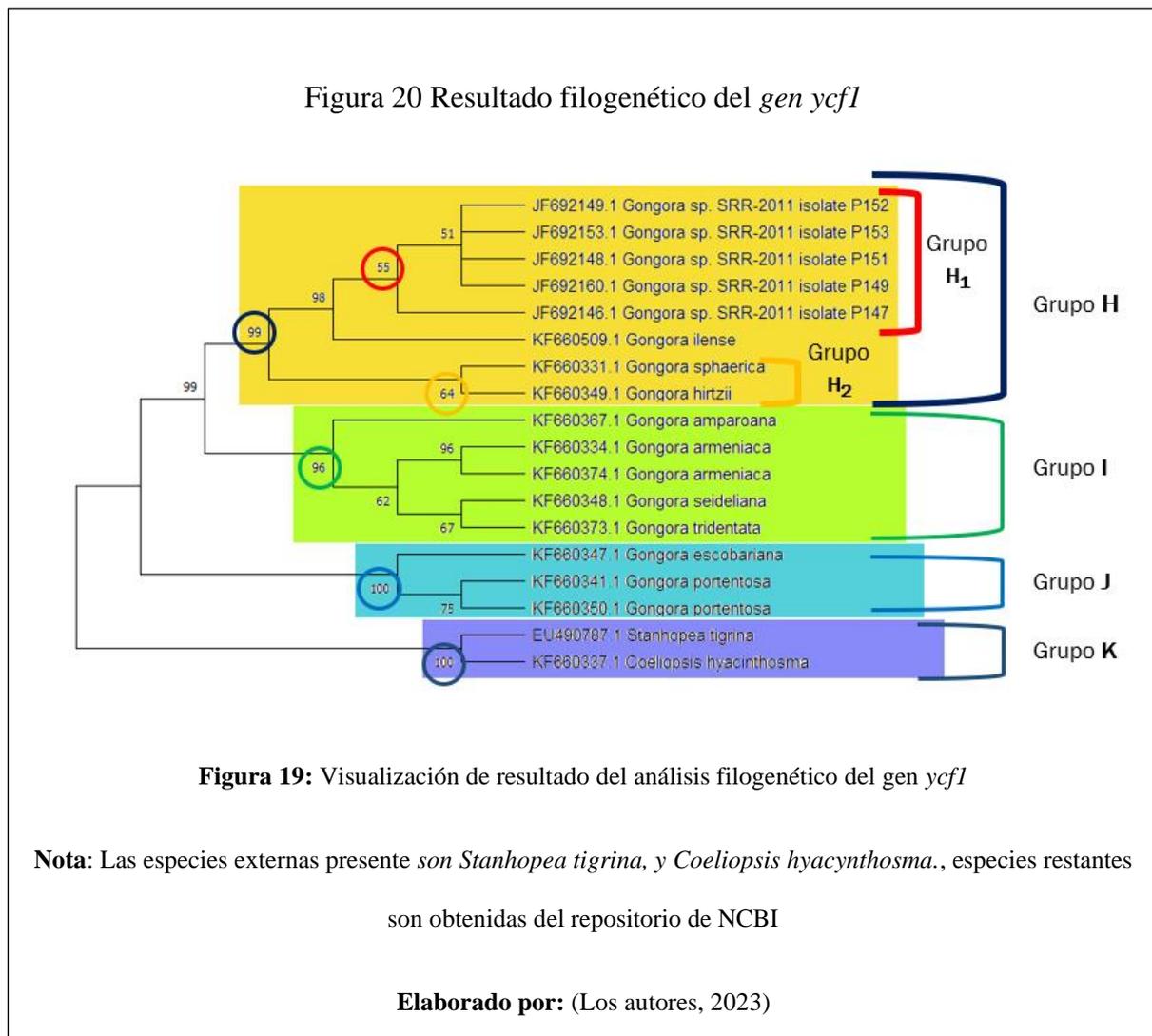
Figura 18: Visualización de resultado del análisis filogenético del gen *rpoC1*

**Nota:** Las especies externas presente son *Stanhopea saccata* y *tigrina*, - *Coeliopsis hyacinthosma*.

**Elaborado por:** (Los autores, 2023)

Para el gen *rpoC1* se visualiza una politomía en general en el Grupo D, Grupo E, Grupo F y Grupo G, considerando que en sí sus nodos de la filogenia en el que existen linajes descendientes provienen de un único linaje ancestral por lo tanto no se va diferenciar entre ellas (Torres, 2014). En el caso del Grupo E, se puede ver dos nodos en los cuales el que posee 90 de porcentaje de punto de ramificación entre las especies *Gongora latisepala*, *Gongora ilense* y *Gongora atropurpurea*, dando a entender que entre estas especies existe una similitud.

### 4.3.3. Análisis filogenético del gen *ycf1*



En relación al gen *ycf1* se puede mencionar que con este análisis filogenético se diferenciaron cuatro grupos; Grupo H, Grupo I, Grupo J y Grupo K, donde la diferenciación de especies se pudo dar de una mejor forma. En el Grupo H, se produjo ramificaciones pequeñas donde está el Grupo H1 y Grupo H2, encontrándose las mismas especies, a partir de esta ramificación se encuentra una divergencia dando los Grupo I, Grupo J y Grupo K, encontrándose las especies ; *Gongora amparoana*, *G. ameniaca*, *G. seideliana*, *G. tridentata*, *G. ponderosa* y *G. escobariana*, y para finalizar en El Grupo K se encuentra una divergencia marcada entre todos los grupos ya que son especies externas *Stanhopea tigrina*, y *Coeliopsis hyacinthosma* (Torres, 2014).

#### 4.4. Georreferenciación

Una vez presentada las secuencias obtenidas es indispensable revisar la ubicación de las especies analizadas, por lo cual, se toma el árbol filogenético del gen *ycf1*, ya que los otros genes presentan politomias muy marcadas, considerando la base de datos de *Trópicos* se obtuvo la siguiente **Tabla 14** con su respectiva georreferenciación.

**Tabla 14 Datos de georreferenciación de las especies de *Gongora***

N°	Especie	Lugar de Ubicación	Latitud	Longitud
1	 <i>Gongora ilense</i>	•Bolivia- Cochabamba , Chapare	17°04'00.0"S	65°27'00.0"W
		•Ecuador- Los Ríos	0°35'00.0"S	79°22'00.0"W
			0°21'00.0"N	79°44'00.0"W

		• Ecuador- Esmeraldas, Quinindé	0°30'00.0"S	79°30'00.0"W
		• Ecuador- Pichincha		
2		<i>Gongora hirtzii</i>	• Ecuador Carchi	1°06'00.0"N 78°16'00.0"W
3		<i>Gongora amparoana</i>	• Costa Rica- Alajuela	10°09'00.0"N 84°30'00.0"W
4		<i>Gongora armeniaca</i>	• Costa Rica- San José	9°42'00.0"N 84°24'00.0"W
5		<i>Gongora tridentata</i>	• Guatemala- Chisec	15°46'00.0"N 90°13'00.0"W
6		<i>Gongora escobariana</i>	• Colombia- Antioquia	5°46'00.0"N 74°20'00.0"W
7		<i>Gongora portentosa</i>	• Perú- Junín • Perú- San Martin, Tarapoto	11°07'42.5"S 76°00'16.5"W 6°27'58.3"S 76°20'55.7"W

**Nota:** La Columna 2 detalla el color de ubicación que se utilizó en la elaboración del mapa en la plataforma ArcGIS

**Fuente:** (Trópicos, 2023)

Figura 21 Georreferenciación de las especies analizadas por filogenia

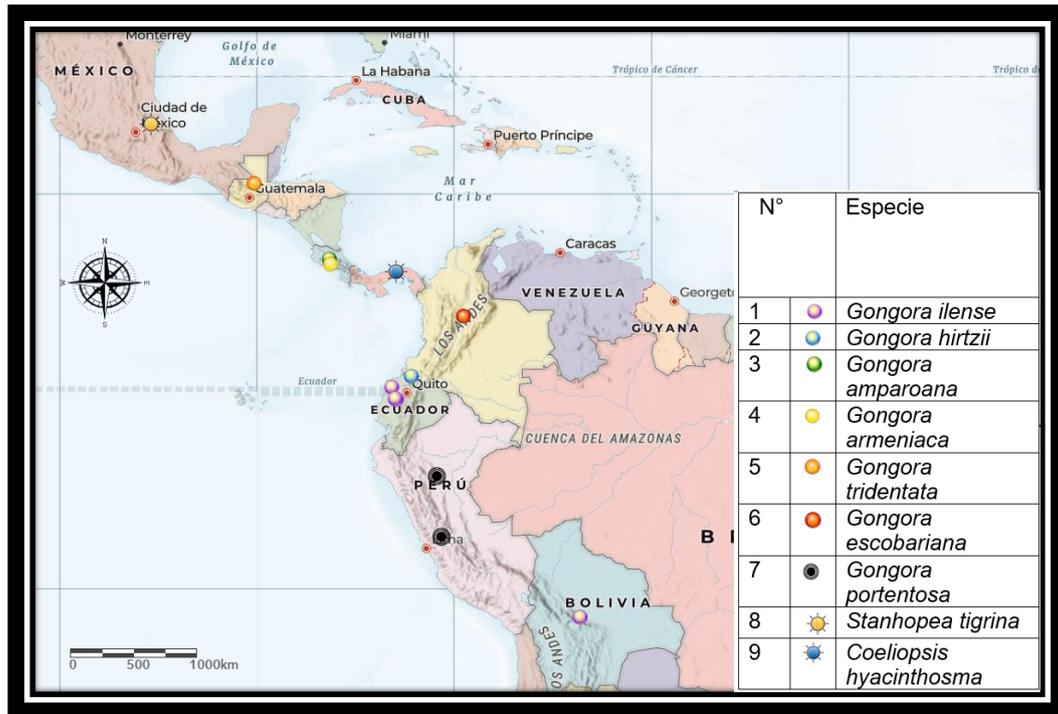


Figura 14: Detalle de georreferenciación en base al árbol filogenético del gen *ycf1*

**Nota:** Existe distribución de especies del género *Gongora* en Ecuador

Con relación a la investigación de Sua et al (2004) la imagen de georreferenciación, se puede deducir que las especies externas no se relacionan con el género *Gongora*, tal vez con una pequeña semejanza con la especie *Coeliopsis hyacinthosma*, en el caso de la *Gongora ilense*, *Gongora hirtzii*, *Gongora escobariana* hay una cercanía por cómo se encuentran ubicadas en el mapa, pero en el caso de *Gongora tridentata* y *Gongora armeniaca*, poseen una cercanía no tan marcada como las otras especies.

Adicional para poder complementar la información de cada una de las especies se adiciono la información de su morfología y fotos para una mejor apreciación, las cuales podemos observar con mejor precisión en el **Anexo 1** .

## Conclusiones

- Del total de las muestras de tejido vegetal se tomaron solo 12 de las provincias; de Zamora Chinchipe (Ecuagenera), colección privada de Pichincha – Pedro Vicente Maldonado (Dario Guisal) y Quito, pertenecientes a 4 especies del género *Gongora* registradas en el Ecuador y 8 muestras identificadas a nivel de género, las cuales corresponden a un total de 30% de especies de este género registradas en The Plant List (2022).
- Las secuencias obtenidas del género *Gongora* de NCBI y muestras recolectadas de Mogrovejo y Proaño (2020) fueron las especies; *Gongora seideliana*, *Gongora armeniaca*, *Gongora sp.*, *Gongora ilense*, *Gongora sphaerica*, *Gongora amparoana*, *Gongora tridentata*, *Gongora escobariana*, *Gongora portentosa*, *Gongora leucochila*, *Gongora superflua*, *Gongora grossa*, *Gongora atropurpurea*, *Gongora fluvia*, *Gongora pardina*, *Gongora hirtzii*, *Gongora flavoela*, *Gongora cassidea*, *Gongora rufescens*, *Gongora horichiana*, *Gongora amparoana*, *Gongora sanderiana* , *Gongora cornuta* , las cuales solo 6 de estas se logró tener el resultado de secuenciación debido a que cada muestra analizada en los pocillos de la placa son de calidad media según la escala de colores, por lo tanto, solo las secuencias de *Gongora sp.* y *Gongora pardina* de los genes *matK*, *rpoC1* y *ycf1* se encuentran en *Genbank* - NCBI.
- Se amplificó las regiones cloroplásticas *matK*, *rpoC1*, para la mayor parte de las muestras con un rango de 10 – 12 productos de PCR, mientras que la región *ycf1* fue posible amplificarla con un rango de 4 productos de PCR, teniendo como referencia la visualización de bandas en el gel de electroforesis y el marcador de peso molecular.
- Según los árboles filogenéticos obtenidos, únicamente la región *ycf1* permitió obtener una clasificación a nivel interespecífico para *Gongora*, en base a los datos

biogeográficos de georreferenciación de las especies, considerando que las especies con menor variabilidad genética por su punto de georreferenciación son las especies de *Gongora ilense*, *Gongora hirtzii* y *Gongora escobariana*.

## **Recomendaciones**

- Evaluar la calidad y concentración de ADN mediante técnicas de fluorimetría y/o espectrofotometría con el propósito de garantizar que el material genético será idóneo para amplificación por *PCR* y secuenciación.
- Utilizar protocolos de lavado antes de la extracción de ADN para plantas que contengan alto contenido de polifenoles y polisacáridos en sus hojas.
- Analizar regiones de ADN cloroplástico y nuclear que permitan esclarecer la identificación interespecífica del género *Gongora*.
- Realizar verificación *in silico* de las secuencias genéticas de los cebadores mediante *BLAST* con el fin de corroborar la especificidad y sensibilidad de su diseño y aplicación en estudios de filogenia molecular.
- Diseñar primers degenerados para poder tener una mayor especificidad con respecto a los puntos de unión con la región diana.
- Investigar el genoma completo de una especie emblemática del género *Gongora* con el fin de conocer el flujo de información genética, la identificación de individuos a niveles interespecíficos y los centros de distribución filogeográficos.
- Desarrollar programas de conservación *in situ* y *ex situ* para especies vegetales del género *Gongora* por su estado de vulnerabilidad y escasez de ejemplares.

## Bibliografía

- ABO. (2022). *Gongora similis* Rchb.f. 1881.  
<http://asoabo.com/index.php/enciclopedia/item/1324-gongora-similis#.Y9I0BnbMK3A>
- Agrocalidad. (2018). *Toma de muestras para el laboratorio de Biología Molecular - Diagnostico Vegetal*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/tra4.pdf>
- Alcántara, M. (2013). *Breve revisión de los marcadores moleculares*.
- Alvarado, L., Flores, D., Chacón, R., Schmidt, A., & Alvarado, C. (2015). CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE DOS ACCESIONES DE *Cydonia oblonga* 1 COMUNICACIÓN CORTA. *Agron. Mesoam*, 26(2), 351–354.  
<https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19329>
- Al-Yassiry, Z., & Al-Alwani, B. (2022). Estimation of Botanical Diversity by Molecular Marker Methods. *Uniwersytet Śląski*, 7(1), 343–354.  
<https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
- ArcGIS. (2023). *ArcGIS* - *Mi mapa*.  
<https://www.arcgis.com/home/webmap/viewer.html?useExisting=1>
- Benavides, M., & Yanéz, P. (2016). El código de barras de adn (barcoding): una herramienta para la investigación y conservación de la diversidad biológica en Ecuador. *La Granja*, 23(1). <https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.01>
- Cadena, J. (2017). *Importancia y aprovechamiento sustentable de productos forestales no maderables en bosques de niebla: estudio de caso en Orquídeas*. [www.colpos.mx](http://www.colpos.mx).

- Calderón, C., & Prexl, J. (2019). *Filogenia molecular de las orquídeas del género Dracula (Orchidaceae) usando el marcador molecular ycf1*.  
<https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/11526/1/UDLA-EC-TIB-2019-32.pdf>
- Cardoso, J., Zanello, C., & Chen, J. (2020). An overview of orchid protocorm-like bodies: Mass propagation, biotechnology, molecular aspects, and breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 1–32. <https://doi.org/10.3390/ijms21030985>
- Cascante, A. (2008). Guía para la recolecta y preparación de muestras botánicas (Primera Ed). Museo Nacional de Costa Rica. <http://www.museocostarica.go.cr/herbario/pdf/Guia-para-recolectar.pdf>
- Cerna, M., Mencias, F., Salazar, T., & Gutiérrez, S. (2018). Estudio fitoquímico, actividad antioxidante de especies de orquídeas de los géneros Epidendrum, Oncidium y Caucaea. *Bionatura*, 1(1), 1–17.
- Cerna, M., & Miño, J. (2018). *Identificación molecular del género Passiflora (Passifloraceae), en la región norte del Ecuador mediante el método DNA Barcoding*. 5–8.  
<https://doi.org/10.21931/RB/CS/2018.01.01.11>
- Chaparro, O. (2018). *Estructura de la comunidad de Orquídeas Orchidaceae en tres coberturas vegetales en un ecosistema Altoandino, Boyacá, Colombia*.  
<https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., & Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE*, 5(1), 1–8.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>

- Cid, J., Grivet, D., Olsson, S., & Fernandes, M. V. (2019). Evaluación de las regiones del cloroplasto matK e ycf1 como marcadores de diagnóstico para el género *Pinus*. *Cuadernos de La Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 45(2), 215–236. <https://doi.org/10.31167/csecfv5i45.19873>
- Coronado, E. (2020). *Diseño de una guía turística para la incorporación de las orquídeas nativas como un elemento atractivo en sitios de interés turístico en el cantón de Pastaza*.
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J., & Zhou, S. (2015). ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific Reports*, 5, 8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>
- Downie, S. (1996). *Location of the rpoC1 gene and its intron in the tobacco* | Download *Scientific Diagram*. [https://www.researchgate.net/figure/Location-of-the-rpoC1-gene-and-its-intron-in-the-tobacco\\_fig3\\_14393381](https://www.researchgate.net/figure/Location-of-the-rpoC1-gene-and-its-intron-in-the-tobacco_fig3_14393381)
- Ecuagenera. (2022a). *Gongora fulva*. <https://www.ecuagenera.com/Gongora-fulva/es>
- Ecuagenera. (2022b). *Gongora rufescens*. <https://www.ecuagenera.com/Gongora-rufescens/es>
- Ecuagenera. (2022c). *Gongora scaphephorus* - *Ecuagenera*. <https://www.ecuagenera.com/Gongora-scaphephorus/es>
- Endara, A., & Ocaña, M. (2022). *Análisis molecular de las especies del ecuador del género Restrepia (Orchidaceae) y análisis filogenético de secuencias obtenidas de genbank*. [Universidad Politécnica Salesiana]. In *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/23077/1/TTQ837.pdf>

- Engels, M. E., Rocha, L. C. F., Koch, A. K., & Gerlach, G. (2020). El género *Gongora* (Orchidaceae, Stanhopeinae) en el estado de Mato Grosso, Brasil. *Rodriguesia*, 7. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071068>
- Flickrriver. (2023). *Gongora portentosa* - a photo on Flickrriver. <https://www.flickrriver.com/photos/81918877@N00/42726316072/>
- Falceri, L., & Freire, F. (2022). Las colecciones del Departamento de Biología de la Escuela Politécnica Nacional (Quito, Ecuador): conservación y divulgación. *Kalpana - Revista de Investigación*, 1–20. <https://publicaciones.udet.edu.ec/index.php/kalpana/article/view/121/253>
- Fernández- Fernández, D., Garzón-Santomaro, C., Yáñez-Muñoz, M., Mena-Jaén, J., & González-Romero, D. (2018). *Orquídeas y Bromelias de la Provincia de El Oro: Una guía de identificación para los principales géneros y especies del páramo al manglar*. (I. M. Moreno (ed.)). INABIO. [http://inabio.biodiversidad.gob.ec/wp-content/uploads/2019/02/Orquideas\\_y\\_bromelias\\_de\\_el\\_Oro.pdf](http://inabio.biodiversidad.gob.ec/wp-content/uploads/2019/02/Orquideas_y_bromelias_de_el_Oro.pdf)
- Fuertes, B., Mallitasig, D., Cerna, M., & Gutiérrez, S. (2018). Identificación morfológica y molecular de hongos micorrízicos de especies del género *Dracula* y *Epidendrum* (orchidaceae). *Bionatura*, 01 (Bionatura Conference Serie). <https://doi.org/10.21931/rb/cs/2018.01.01.4>
- Gallardo, M., Trujillo, G., Jaramillo, R., & Rodríguez, J. (2021). Ecuador genera propuesta para el fortalecimiento de la cadena de valor de orquídeas en la región amazónica (Napo, Morona Santiago y Zamora Chinchipe). *Serie Artículos Técnicos OTCA*, 7, 1–12. [http://otca.org/wp-content/uploads/2021/02/ARTICULO\\_TECNICO\\_Ecuador-genera-propuesta-para-la-cadena-de-valor-de-orquideas\\_EC.pdf](http://otca.org/wp-content/uploads/2021/02/ARTICULO_TECNICO_Ecuador-genera-propuesta-para-la-cadena-de-valor-de-orquideas_EC.pdf)

- García, R., & Jiménez, R. (2015). *Redescubrimiento de Gongora seideliana Rchbf. (Orchidaceae), una orquídea rara*. <http://www.tropicos.org>
- Guerrero, J., Campuzano, L., Rojas, S., & García, J. (2011). Caracterización Morfológica y Agronómica de la Colección Nacional de Germoplasma de *Jatropha curcas* L.\*. *Artículo Original /Original Article Orinoquia*, 15(2), 131–147.
- Hernández, A. (2022). Biología reproductiva de *Gongora galeata* (Orchidaceae) en el centro de Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana*, 129(129). <https://doi.org/10.21829/ABM129.2022.2065>
- Hinsley, A., De Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S. W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., Kumar, P., Masters, S., Metusala, D., Roberts, D. L., Veldman, S., Wong, S., & Phelps, J. (2018). A review of the trade in orchids and its implications for conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186(4), 435–455. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box083>
- Ho-Lee, K., Ki-Rok- Kwon, Won-Mo, K., Eun-Mi, J., & Jun-Hyeog, J. (2012). *Identification and Analysis of the Chloroplast rpoC1 Gene Differentially Expressed in Wild Ginseng*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4331935/pdf/2093-6966-v15-n02-020.pdf>
- Iza, M. (2018). Identificación molecular de especies de orquídeas del género *Dracula*, mediante el sistema BARCODE. In *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana* (Vol. 1). Universidad Politécnica Salesiana.
- Jaramillo, S. (2020). *Evaluar un proceso de adaptación alternativo en dos especies de orquídeas *Cattleya iricolor* y *Gongora* sp. germinadas in vitro* .

- Jay, P., Susan, T., Kirsch, C., Krogsgaard, E., & Arford, D. (2023). *Enciclopedia fotográfica de especies de orquídeas de Internet*. <http://www.orchidspecies.com/>
- Jelber, H., & Jaramillo Herrera. (2018). *Relaciones ecosistémicas de las orquídeas en la Sabana y el Piedemonte Andino de la Cordillera Oriental, Villavicencio (Meta)* - *hdl:20.500.12010/17846*.  
<https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/17846>
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2021). *MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Lara, J., Jijón, C., Rengifo, A., & Hernández, L. (2015). *Ecuador país de orquídeas*.
- Larrea, E. (2020). Ecuador – País de las Orquídeas, un producto ecoturístico en marcha. Guayaquil, Ecuador; Escafandra Magazine. Obtenido de <https://www.escafandra.news/ecuador-pais-de-las-orquideas-un-producto-ecoturistico-en-marcha/>
- León, S. (2018). *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador*. Quito, Ecuador; PUCE. Obtenido de <https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/home>
- Londoño, P., & Villanueva, D. (2021). *Evaluación de marcadores moleculares de cloroplastos y nucleares, para su uso en identificación molecular de germoplasmas de orquídeas*
- Matthews, A. (2021). Orchid Scents: The Top 18 Most Fragrant Orchids. Orchideria <https://orchideria.com/orchid-scents/>

- Matzumura, P., Gonzáles, L., López, A., & Espino, N. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio. Técnicas Básicas de Biología Molecular*. <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/biomolec.pdf>
- Mendoza-Montesdeoca, I., Rivera-Mateos, M., & Doumet-Chilán, N. Y. (2022). Políticas públicas ambientales y desarrollo turístico sostenible en las áreas protegidas de Ecuador. *Revista de Estudios Andaluces*, 43, 106–124. <https://doi.org/10.12795/rea.2022.i43.06>
- Ministerio de Turismo. (2020). *Ecuador, el primer “País de las Orquídeas” del mundo – Ministerio de Turismo*. <https://www.turismo.gob.ec/ecuador-el-primer-pais-de-las-orquideas-del-mundo/>
- Molina, L. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de cinco especies de orquídeas de los géneros *Maxillaria*, *Catasetum* y *Epidendrum*, presentes en el Ecuador. [Universidad Politécnica Salesiana]. In *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18989/1/UPS-TTQ075.pdf>
- Montalvo, M. Á., & Vargas, L. (2019). Revisión de las especies latinoamericanas de orquídeas del género *Dracula* mediante la técnica molecular barcode. [Universidad Politécnica Salesiana]. In *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16978/1/UPS-QT13818.pdf>
- Mogrovejo, A., & Proaño, Y. (2020). *Filogenia molecular del género *Gongora orchidaceae*, de las especies registradas en el Ecuador*. [Universidad Politécnica Salesiana]. In *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18438/1/UPS-QT14377.pdf>

- Mundiflora. (2022). *Gongora galeata type* / *Mundiflora*.  
<https://www.mundiflora.com/gongora-galeata-type/>
- NaturalistEc. (2008). *Gongora quinquenervis* · *iNaturalist Ecuador*.  
<https://ecuador.inaturalist.org/taxa/276724-Gongora-quinquenervis>
- NaturalistEc. (2023). *Gongora armeniaca* · *iNaturalist Ecuador*.  
<https://ecuador.inaturalist.org/taxa/794069-Gongora-armeniaca>
- Neubig, K. M., & Abbott, J. R. (2010). Primer development for the plastid region YCF1 in  
annonaceae and other magnoliids. *American Journal of Botany*, 97(6), 52–55.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.1000128>
- Oña, C. (2020). *Germinación asimbiótica en condiciones in vitro de Oncidium pentadactylon  
y Elleanthus capitatus: orquídeas nativas del Ecuador*. 10–11.
- OrchidsForum. (2019). *Gongora ionodesme* / *Orchids Forum*.  
<https://www.orchidsforum.com/threads/gongora-ionodesme.21799/>
- Orchids Wiki. (2022). *Gongora pardina* / *Orchids Wiki* / *Fandom*.  
[https://orchids.fandom.com/wiki/Gongora\\_pardina](https://orchids.fandom.com/wiki/Gongora_pardina)
- OTCA. (2021). Manual para Identificación de Orquídeas apoyará a autoridades ecuatorianas en  
el control de las actividades ilícitas en contra la flora silvestre. Brasilia, Brasil;  
*Organización del Tratado de Cooperación Amazónica*. Obtenido de  
<http://otca.org/manual-para-identificacion-de-orquideas-apoyara-a-autoridades-ecuatorianas-en-el-control-de-las-actividades-ilicidas-en-contra-la-flora-silvestre/>

- Pachecho, F., Wei, L., & Pérez, M. (2021). Análisis filogenético de especies de *Quercus* L. utilizando tres códigos de barras de ADN. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2). <https://doi.org/10.19136/ERA.A8N2.2831>
- Parrales, M. (2015). *Diversidad y distribución altitudinal de orquídeas terrestres del cerro Uyuca*. Zamorano, Honduras; Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/fbab762e-3e29-4019-950a-cc686202fc6b/content>
- Pazmiño, M., & Vargas, L. (2019). *Revisión de las especies latinoamericanas de orquídeas del género Dracula mediante la técnica molecular de Barcore*. 20–23.
- Pedraza, M. (2017). La propagación masiva de orquídeas (Orchidaceae); una alternativa de conservación de especies silvestres. *Agroproductividad*, 10(6), 31–36. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1036/885>
- Ramírez, S. (2015). Evolutionary Trends and Specialization in the Euglossine Bee-pollinated Orchid Genus *Gongora*. In *Annals of the Missouri Botanical Garden* (Vol. 100, Issue 4, pp. 271–299). Missouri Botanical Garden. <https://doi.org/10.3417/2014035>
- Ricker, M. (2019). *Manual para realizar las colectas botánicas del Inventario Nacional Forestal y de Suelos de México*. [https://www.conafor.gob.mx/apoyos/docs/externos/2022/DocumentosMetodologicos/2019/Manual\\_para\\_realizar\\_colectas\\_botanicas\\_del\\_inventario\\_forestal\\_de\\_Mexico\\_Oct\\_2019.pdf](https://www.conafor.gob.mx/apoyos/docs/externos/2022/DocumentosMetodologicos/2019/Manual_para_realizar_colectas_botanicas_del_inventario_forestal_de_Mexico_Oct_2019.pdf)
- Rivas, P., & Salazar, P. (2017). *Comparación de variabilidad genética de las regiones de ADN croloplastico y una nuclear en el ishpingo (O. quixos) provenientes de 5 provincias de la*

*Amazonia ecuatoriana*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14196/1/UPS-QT11665.pdf>

Rodríguez, L., Barney, H., & Vázquez, M. (1995). *Notas sobre la polinización por abejas Euglosinas en Gongora Galeata (Lindl) Rchb. F. (Orchidaceae)*. 105–114.

Rojas, C., Cardozo, A., Hernández, L., Lapp, M., Rodríguez, H., Ruiz, T., & Torrecilla, P. (2006). *Botánica Sistemática, Fundamentos para su Estudio*. Maracay, Venezuela; Facultad de Agronomía. Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Botanica/Botanica\\_Sistemática/GUIA\\_DE\\_BOTANICA\\_SISTEMATICA\\_I.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Botanica/Botanica_Sistemática/GUIA_DE_BOTANICA_SISTEMATICA_I.pdf)

Ron, P. (2011, July 25). *Gongora escobariana - Hanging Gardens | Gongora escobariana ... | Flickr*. <https://www.flickr.com/photos/rpflowershots/50316424781/in/photolist-2jEeod8-VQsGuM-2jEhQ6c-nCVrNJ-VQsGxn-PdvFK-X4MpmX-4akYvV-52iSbB-X4MphP-2jEepTc-VQsGqt-4akYxz-6pgxNb-6pcpWD-2jEepde-6pcqa6-nCW34e-nTne7S-oo7k2y-ffYUSH-zz3fbJ-4JMuov>

Ruiz, J. (2020). *Diversidad y uso de las orquídeas*. [https://www.researchgate.net/publication/342727642\\_Diversidad\\_y\\_uso\\_de\\_las\\_orquideas](https://www.researchgate.net/publication/342727642_Diversidad_y_uso_de_las_orquideas)

Sakaguchi, S., Saneyoshi, U., Yoshihiko, T., & Yuji, I. (2017). *The percentage identities in gene identity plots of the genomic regions...* | Download Scientific Diagram. [https://www.researchgate.net/figure/The-percentage-identities-in-gene-identity-plots-of-the-genomic-regions-around-the-ycf1\\_fig2\\_316915110](https://www.researchgate.net/figure/The-percentage-identities-in-gene-identity-plots-of-the-genomic-regions-around-the-ycf1_fig2_316915110)

- Salazar, G. (2018). *Diversidad biológica e inventarios*.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/entra/v15n2/1900-3803-entra-15-02-264.pdf>
- Salvador, E. (2020). *Tipos de orquideas*. Palmira, Colombia, Obtenido de  
<https://orquideamania.com/tipos-de-orquideas/>
- Sequeira, J. (2012, September 24). *Orquídea Gongora horichiana | Project Noah*.  
<https://www.projectnoah.org/spottings/14549146>
- Sosa, V. (2009). *Árbol de la vida*. Veracruz, México; Instituto de Ecología. Obtenido de:  
<https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-academia-mexicana-de-ciencias/articulo/el-arbol-de-la-vida>
- Sua, S., Mateus, R., & Vargas, J. (2004). *Georreferenciación de registros biológicos y gatero digital de localidades*. Bogotá, Colombia; Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Obtenido de  
<http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/34610/978-958-8141-38-4.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Suazo Ubieta, T., Miranda Calero, S., Rivers Carcache, E., Lacayo Romero, M., & Tenorio Juárez, D. (2020). Evaluación de metodologías de extracción de ADN de plantas recalcitrantes. *Revista Torreón Universitario*, 9(24), 45–57.  
<https://doi.org/10.5377/torreon.v9i24.9723>
- Telléz, M., & Tejada, O. (2013). Ornamental characteristics of wild orchids, their propagation with commercial purposes and alternative of *ex situ* exploitation. Coyoacán, México *Orquideas*. Volume 10, Number 6 Obtained from:  
[https://www.researchgate.net/publication/318512320\\_ORNAMENTAL\\_CHARACTERI](https://www.researchgate.net/publication/318512320_ORNAMENTAL_CHARACTERI)

STICS\_OF\_WILD\_ORCHIDS\_THEIR\_PROPAGATION\_WITH\_COMMERCIAL\_PU  
RPOSES\_AND\_ALTERNATIVE\_OF\_ex\_situ\_EXPLOITATION\_CHARACTERISTICA  
S\_ORNAMENTALES\_DE\_ORQUIDEAS\_SILVESTRES\_Y\_SU\_PROPAGACION\_C  
ON\_

Thermo Fisher Scientific. (2017). GeneRuler DNA Ladders - EC. *Journal of Physics: Conference Series*, 884(1). Waltham, U.S.A; <https://doi.org/10.1088/1742-6596/884/1/012113>

Thermo Fisher Scientific. (2018). *DNA electrophoresis products with a track record of success*. Waltham, U.S.A; From: <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-sc>

Thermo Fisher Scientific. (2022). *SeqStudioFlex-SpecSheet*. Waltham, U.S.A; From: <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/sequencing/sanger-sequencing/genetic-analyzers/models/seqstudio-flex.html>

Thermo Fisher Scientific. (2023). *Genetic analysis tools for genome editing workflows*. Waltham, U.S.A; From <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/global/forms/life-science/seqstudio-genome-editing-webinar-registration.html>

Torres, D. (2014). *Estudios filogenéticos moleculares de la familia Aphididae y los Fordini ibéricos*. Valencia, España; Universitat de Valencia - Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biología Evolutiva. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/71029917.pdf>

Trópicos. (2023). *Trópicos V.3.4.1 – Botanical DataBase*. Saint Louis, Missouri. Missouri Botanical Garden. Obtained from: <https://www.tropicos.org/home>

- Turgay, O., & Cinar, I. (2017). Salep: The Name of The Plant, Powder, Hot Beverage, Food Ingredient. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20(3), 68–71. <https://doi.org/10.17780/ksujes.341382>
- Universidad de la República. (2015). *Desarrollo de un trabajo final en base a secuencias de ADN para un curso de pregrado*. Montevideo, Uruguay; Facultad de Ecología y Evolución. Obtenido de <https://aimup.unm.edu/documents/filogenias.pdf>
- Vallejos, G. (2020). Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú. [*Universidad Nacional de San Martín Tarapoto - Perú*]. [https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3731/1/INFORME ENTREGABLE ORQUIDEA IIyD - UNSM-27-07-20 %281%29.pdf](https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3731/1/INFORME_ENTREGABLE_ORQUIDEA%20IIyD%20-%20UNSM-27-07-20%20%281%29.pdf)
- Veldman, S., De Boer, H., Otieno, J., & Gravendeel, B. (2014). Species Assessment in African Orchid Cake. *Diva*, 1, 10–11. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:775683/FULLTEXT01.pdf>
- Vela, B. (2019). *Manual de prácticas de botánica general*. Quintana Roo, México; Instituto Tecnológico de la Zona Maya – Facultad de Ingeniería en Agronomía. Obtenido de: [http://www.itzonamaya.edu.mx/web\\_biblio/archivos/manuales/03\\_botanica\\_general.pdf](http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/manuales/03_botanica_general.pdf)
- Wikimedia Commons. (2010, March). *Gongora latisepala*. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gongora\\_latisepala\\_Orchi\\_060.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gongora_latisepala_Orchi_060.jpg)
- Yeow, L. C., Chew, B. L., & Sreeramanan, S. (2020). Elevation of secondary metabolites production through light-emitting diodes (LEDs) illumination in protocorm-like bodies

(PLBs) of *Dendrobium* hybrid orchid rich in phytochemicals with therapeutic effects.

*Biotechnology Reports*, 27, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00497>

## Anexos

### Anexo 1 Repositorio de especies e información descriptiva del Genero *Gongora*

Nombre Científico: <i>Gongora escobariana</i> Whitten		Característica			
	<b>Ubicación:</b>	País	Altura (m)	Latitud	Longitud
		Colombia	1500-2000	5°46'00.0"N	74°20'00.0"W
<b>Ubicación de <i>Gongora escobariana</i></b> (ArcGIS, 2023)		Ecosistema	Cordillera Occidental, vertiente occidental de la Cordillera Occidental.  (Trópicos, 2023)		
<b>Morfología:</b>		Planta	Epífita con forma ovoides y seis lados, de color verde oliva, subsésiles a corto peciolados ampliamente lanceolados a elípticos, plicadas. Tienen de siete a once hojas nervadas, agudas, con una pequeña ondulación.		
		Inflorescencia	Basal con terminación colgante, terete, posee un color verde manzana,		



de 24 a 28 pulgadas aproximadamente de 60 a 70 cm de largo.

---

Flores      Poseen pedicelos torcidos y sus ovarios miran hacia afuera.

(Jay *et al.*, 2023)

---

**Foto tomada por:** (Ron, 2011)

---

**Nombre Científico:** *Gongora portentosa* Rchb,f,

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
● Perú – Junin	4090	11°07'42.5"S	76°00'16.5"W
● Perú- San Martin Tarapoto	419	6°27'58.3"S	76°20'55.7"W

(Trópicos, 2023)

Ecosistema	Bosques montanos húmedos
------------	--------------------------

**Ubicación de *Gongora portentosa*** (ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita con un porte mediano a grande, posee pseudobulbos angostos ovoides de 2 a 3, erectos, plegados, elípticos, obtusos, que se estrechan gradualmente. En la parte inferior de las hojas su base es acanaladas y pecioladas.
Inflorescencia	Basal, de hasta 2 pulgadas aproximadamente 60 cm de largo, colgante y densamente
Flores	Más duraderas y con fragancia especiada.

**Foto tomada por:** (Flickriver, 2023)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora cassidea* Rchb,f,

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Costa Rica- Alajuela	850-950	10°18'00.0"N	84°45'00.0"W
• Honduras- Yoro	1300-1500	15°12'00.0"N	87°35'00.0"W
• Nicaragua- Estelí	1100-1300	13°15'00.0"N	86°16'00.0"W
• Nicaragua- Matagalpa	700	12°55'00.0"N	85°55'00.0"W
• Nicaragua- Jinotega	1400	13°16'00.0"N	86°10'00.0"W

(Trópicos, 2023)

Ecosistema Bosques montanos perennifolios, zona norcentral.

**Ubicación de *Gongora cassidea***  
(ArcGIS, 2023)

Morfología:

Planta Pseudobulbos ovoides-cónicos, hasta 7 cm de largo y 3 cm de ancho, angulares, ligeramente comprimidos, apicalmente 1- ó 2-foliados.

Inflorescencia Puede tener hasta 15 flores, pedicelos rectos o levemente curvados apicalmente.



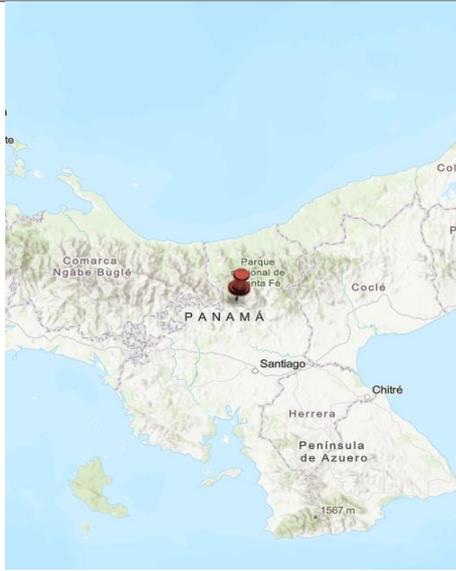
Flores      Cremosas hasta café-amarillentas, los segmentos florales y el hipoquilo de color café; sépalos con las bases conniventes insertadas en la base del pie de la columna, el dorsal cuculado, suborbicular, 15 mm de largo y de ancho, obtuso, los laterales revolutos, orbicular-elípticos, 25 mm de largo y 20 mm de ancho, agudos.

(Jay *et al.*, 2023).

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*,  
2023)

**Nombre Científico:** *Gongora horichiana* Fowlie

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Panamá			
Rio Hato	574	08°29'00.0"N	081°05'00.0" W

(Trópicos, 2023)

Ecosistema Bosques nubosos de altura intermedia.

Planta De tamaño pequeño, de crecimiento cálido, con pseudobulbos ovoides, rugosos, a veces comprimidos lateralmente, envueltos en la base por 2 a 3 vainas imbricadas parecidas al papel y que llevan 2, apicales, erectas, plegada, elíptico-lanceolada, acuminada, estrechándose gradualmente hacia abajo en las hojas de base cortamente pecioladas.

Morfología

Inflorescencia Los sépalos y la columna crema verdusco pálido, los sépalos laterales, poseen de cinco a veinte flores.

**Ubicación de *Gongora horichiana***

(ArcGIS, 2023)



**Foto tomada de:** (Sequeira, 2012)

Flores

Poseen aroma floral dulce flores y la columna y el callo moteados con puntos vino o rojo, el labelo anaranjado-amarillo; sépalos 15 a 18 x 10 a 14 mm, oblongos u obovados, apiculados; pétalos sigmoides, 7 a 8 x 2 mm, lanceolados, acuminados; labelo cortounguiculado, el cuerpo principal 10 a 11 x 4 a 5 mm (sin callo), el callo prominentemente proyectado arriba de los lóbulos laterales por 1.5 a 2 mm, el lóbulo intermedio 8 x 2.5 mm, lanceolado; columna 10 mm.

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora armeniaca* (Lindl, & Paxton)

Rchb

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Costa Rica	800-	9°42'00.0"N	84°24'00.0"
San Jose- Purascal	1305		W
	322	12°49'00.0"N	85°22'00.0"
			W
• Nicaragua- Matagalpa	72	8°26'00.0"N	80°06'00.0"
			W
			(Trópicos, 2023)
• Panamá- Rio Hato			
Ecosistema	Bosques húmedos a muy húmedos.		

**Ubicación de *Gongora armeniaca***  
(ArcGIS, 2023)

Morfología:

Planta	Pseudobulbos ovoides, 2 a 4.5 cm de largo y 1.5 a 2.5 cm de ancho, lateralmente comprimidos, 2-foliados.
Inflorescencia	Inflorescencia péndula de ca 21.5 cm de largo, con varias flores, pedicelos fuertemente curvados



**Foto tomado de:** (NaturalistEc,  
2023)

Flores

Poseen un color amarillo anaranjado con manchas café-purpúreas sobre los sépalos, los pétalos anaranjados y el labelo amarillo; sépalos con las bases conniventes insertadas en la base del pie de la columna.

(NaturalistEc, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora galeata* (Lindl, ex G, Lodd,)

Rchb

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Guatemala	649	15°46'00.0"N	90°13'00.0"W
• México- Chiapas	904	16°49'00.0"N	95°24'00.0"W

(Trópicos, 2023)

Ecosistema Bosques húmedos y nubosos de montaña.

**Ubicación de *Gongora galeata***

(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita de tamaño mediano, rara vez litófito o terrestre. Es una especie siempre verde.
Inflorescencia	Basal, de 6 a 8 pulgadas o de 15 a 20 cm de largo, colgante, muchas flores.
Flores	Flor perfumada con un olor característico a naranja.

**Foto tomado de:** (Mundiflora,

2022)

(Jay et al., 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora scaphephorus* Rchb,f, & Warsz

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Bolívar	510	17°03'00.0"S	65°28'00.0"W
• Cochabamba			
• Chapare			
• Bolivia- La Paz	976	14°34'00.0"S	68°46'00.0"W
• Ecuador- Morona Santiago	900	3°26'00.0"S	78°31'00.0"W
• Perú- Pasco- Oxapampa	1000	10°21'00.0"S	75°17'00.0"W
• Perú- Loreto- Ucayali	1250	7°23'00.0"S	76°12'00.0"W
• Perú- San Martín- Tocache	1431	7°56'00.0"S	76°35'00.0"W
Ecosistema	Bosques montanos húmedos		

**Ubicación de *Gongora scaphephorus*** (ArcGIS, 2023)

Morfología:

**Planta** Es una especie robusta, de tamaño mediano, cespitosa, epífita, de crecimiento cálido a frío. Posee pseudobulbos ovoides-piriformes, longitudinalmente surcados, obtusos y angulados, subtendidos por unos



**Foto tomada de:** (Ecuagenera, 2022c)

---

pocos escalofriantes, vainas y que llevan 2 hojas apicales, plegadas, anchamente oblanceoladas, elípticas u oblongo-elípticas, acuminadas, plegadas, coriáceas y rígidas que se enrolla por debajo en un pecíolo acanalado.

---

**Inflorescencia** Inflorescencia larga, pendulante, de 35 a 45 flores.

---

**Flores** Flores que surge en un pseudobulbo maduro cuando aparece uno nuevo y lleva flores fragantes y duraderas.

(Jay *et al.*, 2023)

---

**Nombre Científico:** *Gongora sanderiana* Kraenzl

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Perú	203	9°15'00.0"S	74°57'00.0"W
(Trópicos, 2023)			
Ecosistema	Bosques montanos cálidos y húmedos		

**Ubicación de *Gongora sanderiana***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Posee pseudobulbos ovoides a ovoide-cónicos, sulcados, de ángulo obtuso, subtendidos por unas pocas vainas escamosas con una sola capa apical, anchamente elíptica, acuminada, plegada, conduplicada por debajo en una hoja pecíolo alargada, terete y acanalada.
Inflorescencia	La inflorescencia surge en un pseudobulbo maduro a medida que surge un nuevo crecimiento.
Flores	Son escaposas, fragante, racemosa de color marrón rojizo que tiene flores cerosas, fragantes con olor a chocolate y vainilla.

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*, 2023)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora rufescens* Jenny

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Bolívar	204	16°23'00.0"S	63°27'00.0"W
• Ecuador	1381	°28'00.0"S	78°09'00.0"W
• Perú- Amazonas- Bongará	1900	5°55'00.0"S	78°00'00.0"W
• Perú- Pasco- Oxapampa	1850	10°34'00.0"S	75°24'00.0"W

(Trópicos, 2023)

Ecosistema Bosques montanos húmedos en sombra profunda

**Ubicación de *Gongora rufescens***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita cespitosa, tiene pseudobulbos ovoides-oblongos subtendidos por unas pocas vainas escariosas imbricadas y que llevan 2 apicales, atenuadas, acuminadas, delgadas, coriáceas, plegadas, 3 acanaladas, con duplicadas por debajo en las hojas de la base pecioladas.
Inflorescencia	Posee de 18 a 30 flores. Inflorescencia racemosa que tiene brácteas escariosas tubulares y lleva fragantes, abriendo simultáneamente flores.

---

	Flores	Flor de 5cm de color tomate y amarilla en la punta con manchas de color tomate.
--	--------	---

---

**Foto tomada de:** (Ecuagenera, 2022)

(Lara *et al.*, 2015)

---

**Nombre Científico:** *Gongora pardina* Jenny

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
● Ecuador- Morona Santiago	827	2°41'00.0"S	78°19'00.0"W
● Ecuador- Napo	1381	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W

**Ubicación de *Gongora pardina***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Ecosistema	Pantanos de manglares a elevaciones del nivel del mar de hasta 1500 metros.		
Planta	Es epífita de crecimiento cálido a frío de tamaño mediano con pseudobulbos piriformes acanalados que llevan 2 apicales, erectos, plegados, lanceolados elípticos.		
Inflorescencia	Inflorescencia nasal, colgante, de hasta 40 cm de largo, con varias flores.		
Flores	Posee hojas agudas, de color amarillo con manchas de color café largas.		

(Jay *et al.*, 2023)

**Foto tomada de:** (Orchids Wiki, 2022)

**Nombre Científico:** *Gongora pleiochroma* Rchb

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
•Ecuador- Napo	1382	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W
•Panamá- Canal área	50	9°09'00.0"N	79°50'00.0"W
•Perú-San Martín	400-800	7°11'00.0"S	76°45'00.0"W
•Perú- Amazonas- Condorcanqui	282	4°28'00.0"S	78°09'00.0"W

(Trópicos, 2023)

**Ecosistema** Bosques húmedos tropicales y montanos a elevaciones de 400 a 1800 metros.

**Planta** Epífitas con pseudobulbos ovoides de hasta 4,5 cm. Hojas 2 ó 3 en el ápice del pseudobulbo, elíptico-lanceoladas, agudas, plegadas, fibrosas, de 25 x 0,5 cm, con pecíolo de 3 cm de largo.

**Ubicación de *Gongora pleiochroma***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

**Inflorescencia** Inflorescencias colgantes en racimos, con brácteas florales insignificantes.

**Flores** Posee un color amarillo pálido con manchas de color marrón rojizo oscuro a púrpura oscuro sin manchas;

---

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*,  
2023)

sépalo dorsal lanceolado, los sépalos laterales oblicuamente triangulares, agudos; pétalos subiguales a la columna, estrechamente linear-lanceolados, atenuados a filiformes en el ápice, curvados; labelo carnos, complejo, el hipoquilo subcuadrado, aplanado abajo, sulcado arriba, el mesóquilo extendido en 2 cuernos largos, filiformes en ángulo recto con el labelo, el epiquilo cónico con ápice reflejo; columna arqueada.

(Jay *et al.*, 2023)

---

**Nombre Científico:** *Gongora grossa* Rchb. f.

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
● Ecuador- Los Rios	86	1°47'00.0"S	79°17'00.0"W
● Ecuador- Esmeraldas	300	0°47'00.0"N	79°39'00.0"W
● Ecuador- Guayas	300	1°50'00.0"S	80°44'00.0"W

Ecosistema Bosque litoral hasta bosque andino bajo.

**Ubicación de *Gongora grossa***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Pseudobulbos hinchados, acanalados longitudinalmente, bifoliales; hojas anchas
Inflorescencia	Péndula desde la base de los pseudobulbos.
Flores	Color crema con pequeños puntos rojos.

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*, 2023)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora hirtzii* Dodson & N.H. Williams

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Ecuador Carchi	633	1°06'00.0"N	78°16'00.0"W
(Trópicos, 2023)			
Ecosistema	Bosques extremadamente húmeos.		

**Ubicación de *Gongora hirtzii***(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita de tamaño pequeño y crecimiento cálido con pseudobulbos pequeños y delicados
Inflorescencia	Inflorescencia colgante
Flores	Hojas plegadas, de color crema beige con manchas café.

**Foto tomada de:** (Jay et al., 2023)

(Jay et al., 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora quinquenervis* Ruiz & Pav

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Belice- Toledo	285	16°16'00.0"N	89°06'00.0"W
• Ecuador- Zamora Chinchipe	1200	4°00'00.0"S	78°30'00.0"W
• México- Chiapas, Ocosingo	400	16°55'00.0"N	91°16'00.0"W
• México- Michoacán	1175	18°43'00.0"N	103°23'00.0"W
• Panamá- Canal Arena	50	9°09'00.0"N	79°50'00.0"W
• Perú- Amazonas, Bagua	320	4°55'00.0"S	78°19'00.0"W
• Perú- Loreto, Maynas	120	3°28'00.0"S	72°48'00.0"W

Ecosistema Bosques húmedos hasta 1400 metros de altura.

Morfología:

Planta Pseudobulbos ovoides-oblongos a cónicos, profundamente acanalados y rugosos que llevan 3, apicales, lanceolados.

**Ubicación de *Gongora quinquenervis*** (ArcGIS, 2023)



**Foto tomada de:** (NaturalistEc, 2008)

---

**Inflorescencia** Hojas obovadas, liguladas o elípticas, agudas, plegadas, subrectas, cortamente pecioladas con márgenes ondulados que florecen a fines de la primavera hasta el otoño en una inflorescencia colgante de 60 cm de largo, generalmente de color rojo oscuro.

---

**Flores** Flores invertidas perfumadas de lirio de los valles, fragantes canela, clavo de olor.

(Jay *et al.*, 2023)

---

**Nombre Científico:** *Gongora fulva* Lindl

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
● Panamá	10-40	8°57'00.0"N	79°25'00.0"W
(Trópicos, 2023)			
Ecosistema	Elevaciones de alrededor de 40 a 90 metros		

**Ubicación de *Gongora fulva***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita de crecimiento cálido a cálido de tamaño mediano con pseudobulbos cónicos que llevan 2 apicales, plegadas, elípticas, que se estrechan gradualmente hacia abajo.
Inflorescencia	Colgantes hasta 30 inflorescencias florecidas.
Flores	La base peciolada que florece a fines de la primavera en un basal, colgante, hasta 20 pulgadas o 50 cm de largo.

**Foto tomada de:** (Ecuagenera, 2022a)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora ionodesme* G, Gerlach

**Característica**



Ubicación:

**Ubicación de *Gongora ionodesme***  
(ArcGIS, 2023)

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Ecuador: Zamora Chinchipe	1649	4°22'00.0"S	78°48'00.0"W  (Mogrovejo & Proaño, 2020a)
Ecosistema	Bosques montanos húmedos con mayor frecuencia cerca de arroyos y ríos a elevaciones de alrededor de 950 a 1100 metros.		
Planta	Epífita de crecimiento cálido a frío, de tamaño mediano, con pseudobulbos de color verde claro, ovados, acanalados, que llevan 2, apicales, erectos, plegados, oscuros verde, estrechamente elíptica, acuminada, estrechándose hacia abajo.		

Morfología:

**Inflorescencia** Inflorescencia con muchas flores y flores fragantes de color variable.



Flores Las hojas de base cortamente pecioladas que florece en el verano en un colgante, de 30 cm de largo.

(Jay *et al.*, 2023)

**Foto tomada de:**  
(OrchidsForum, 2019)

---

**Nombre Científico:** *Gongora gracilis* Jenny

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
•Ecuador- Napo	300	1°04'00.0"S	77°25'00.0"W
•Perú- Cajamarca	1950	4°59'00.0"S	78°54'00.0"W
(Trópicos, 2023)			
Ecosistema	Bosques montanos húmedos a una altitud de 100 a 1950 metros		

**Ubicación de *Gongora gracilis***  
(ArcGIS, 2023)



Morfología:

Planta	Epífita, de crecimiento cálido a frío, de tamaño mediano, posee pseudobulbos ovoides, ovoides, piriformes, ovoides-oblongos, de ángulo agudo parcialmente envuelto, en su base se encuentran vainas acuminadas escariosas, evanescentes con 2 apicales, lanceoladas y elípticas.
Inflorescencia	Poseen forma arqueada a colgante con una mediada aproximada de 20 cm de largo, flores de diez a veinte cinco que florecen simultáneamente, inflorescencia racemosa que surge sobre un pseudobulbo.
Flores	Poseen aroma floral.

**Foto tomado de:** (Jay *et al.*, 2023)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora superflua* Rchb, f,

**Característica**



Ubicación:

**Ubicación de *Gongora superflua***  
(ArcGIS, 2023)

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
Ecuador	300-500	1°28'00.0"S	78°09'00.0"W
Ecosistema	Bosques húmedos tropicales y montanos en elevaciones de 300 a 500 metros		
Planta	Epífita de crecimiento cálido a cálido de tamaño mediano con pseudobulbos acanalados longitudinalmente hinchados subtendidos por unas pocas vainas escamosas y que llevan 2 apicales, anchos, delgadas, plegadas, con duplicadas por debajo en las hojas base pecioladas.		

Morfología:

**Inflorescencia** Inflorescencia racemosa basal, pendular, de varias a muchas flores que surge en un pseudobulbo recién madurado.



Flores

Flores fragantes de un color amarillo con manchas de color rojo ladrillo.

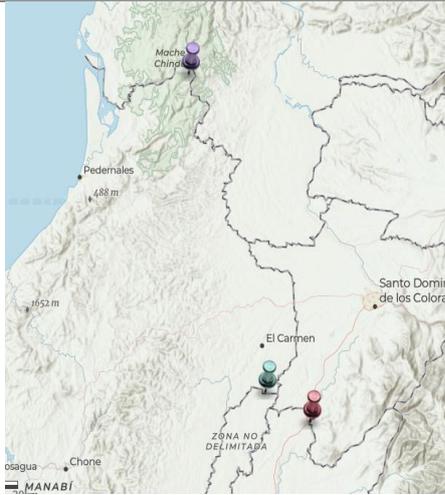
(Jay *et al.*, 2023)

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*, 2023)

---

**Nombre Científico:** *Gongora ilense* Whitten & Jenny

**Característica**



Ubicación:

Morfología:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
• Bolivia- Cochabamba,	510	17°04'00.0	65°27'00.0"W
Chapare	220	"S	79°22'00.0"W
• Ecuador- Los Ríos	400-600	0°35'00.0" S	79°44'00.0"W
• Ecuador- Esmeraldas,	450	0°21'00.0" N	79°30'00.0"W
Quinindé			
• Ecuador- Pichincha		0°30'00.0" S	(Trópicos, 2023)
Ecosistema	Bosques húmedos premontanos a elevaciones de 100 a 800 metros.		
Planta	Epífita de crecimiento cálido a cálido de tamaño mediano con pseudobulbos acanalados longitudinalmente hinchados que llevan 2 hojas plegadas apicales, anchas y delgadas.		
Inflorescencia	Florece a fines de la primavera en el cultivo del hemisferio norte en una inflorescencia basal, colgante, de 6 a 10 flores.		

**Ubicación de *Gongora ilense***  
(ArcGIS, 2023)



Flores

Flores de color crema con manchas de color fucsia desde la base hasta las puntas.

(Jay *et al.*, 2023)

---

**Foto tomada de:** (Jay *et al.*, 2023)

---

**Nombre Científico:** *Gongora latisepala* Rolfe

**Característica**



Ubicación:

País	Altura (m)	Latitud	Longitud
•Perú- Loreto, Ucayali	439	7°20'00.0"S	75°59'00.0"W

(Trópicos,  
2023)

**Ubicación de *Gongora latisepala***  
(ArcGIS, 2023)

Ecosistema Bosques primarios montanos húmedos a elevaciones de 400 a 1400 metros



Morfología:

Planta Epífita cespitosa de tamaño mediano, de crecimiento cálido a frío, con pseudobulbos ovoides a ovoides-piriformes, sulcados, obtusos o de ángulo agudo con 2 apicales, hojas elíptico-lanceoladas, agudas, acostilladas, con un pecíolo acanalado.

Inflorescencia Florece en el verano en un racimo colgante de 14 a 20" [35 a 50 cm] de largo con varios a muchos [18 a 39], abriendo simultáneamente flores que surgen en un pseudobulbo maduro.

Flores Flores de color beige con manchas de color rojo ladrillo hasta la punta.

**Foto tomada de:** (Wikimedia Commons, 2010)

(Jay *et al.*, 2023)

**Nombre Científico:** *Gongora leucochila* Lem

**Característica**



Ubicación:

**Ubicación de *Gongora leucochila***  
(ArcGIS, 2023)

País	Altu ra (m)	Latitud	Longitud
• Belice- Toledo	665 -	16°23'00.0"N	89°04'00.0"W
• Costa Rica- Heredia	70 0	10°25'00.0"N	84°00'00.0"W
• Costa Rica- San José, Turrubares	100 130-	9°46'00.0"N	84°31'00.0"W
• Costa Rica- Alajuela, Upala	175	10°52'00.0"N	85°24'00.0"W
• Costa Rica- Puntarenas, Buenos Aires	550	9°13'00.0"N	83°18'00.0"W
• Costa Rica- Cartago, Paraíso	500	9°52'00.0"N	83°46'00.0"W
• Honduras	900	15°13'00.0"N	86°15'00.0"W
• México- Chiapas, Ocosingo	106	16°59'00.0"N	91°17'00.0"W
• Nicaragua- Atlántico Norte	193-		
• Nicaragua- Jinotega	400	14°01'00.0"N	84°34'00.0"W



• Nicaragua- Chontales	140	13°24'00.0"N	85°42'00.0"W
• Nicaragua- Boaco	700	12°10'00.0"N	85°10'00.0"W
• Nicaragua- Matagalpa	850	12°24'00.0"N	85°33'00.0"W
	900	13°00'00.0"N	85°14'00.0"W
	300- 500	8°26'00.0"N	80°06'00.0"W

**Ecosistema** Selvas tropicales a elevaciones del nivel del mar de hasta 1600 metros.

**Planta** Epífita de tamaño mediano, de crecimiento cálido a frío, con pseudobulbos estrechamente ovoides, gruesos y profundamente acanalados que llevan 2 hojas apicales, plegadas y florece en la primavera.

**Inflorescencia** Posee inflorescencia colgante.

**Planta** flores especiadas a nuez moscada  
(Jay *et al.*, 2023)



---

Foto tomada de: (Jay *et al.*, 2023)

---

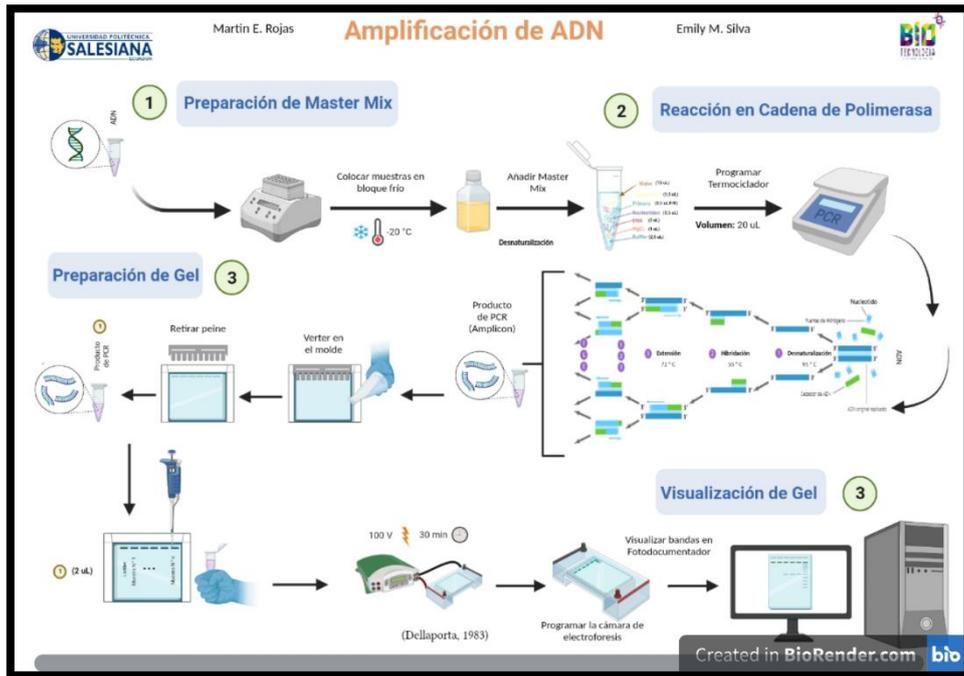
**Ubicación de *Gongora leucochila***

(ArcGIS, 2023)

---

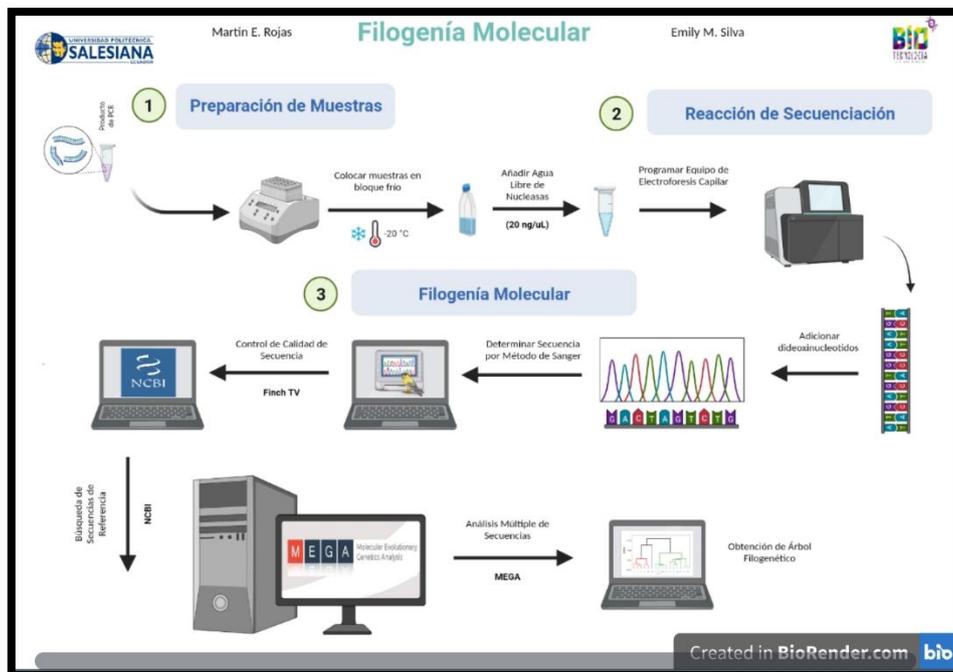


## Anexo 4 Protocolo de Amplificación de ADN



*Fuente:* Los autores, (2022)

## Anexo 5 Protocolo de Análisis Filogenético



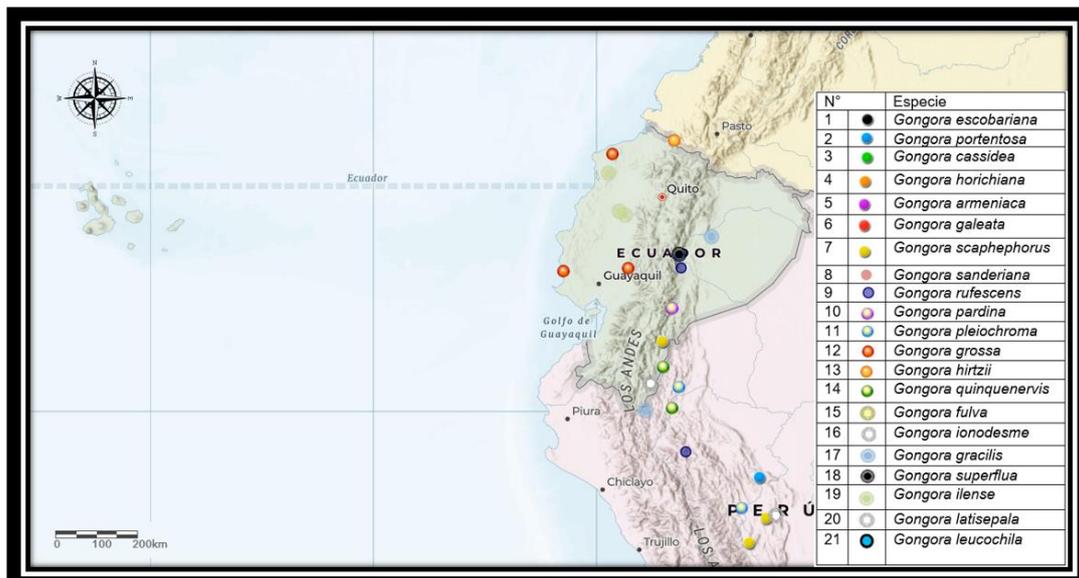
*Fuente:* Los autores, (2022)

## Anexo 6 Distribución Geográfica del género *Gongora*



**Fuente:** Los autores, (2023)

## Anexo 7 Georreferenciación de género *Gongora* en Ecuador



**Fuente:** Los autores, (2023)