



UNIVERSIDAD DEL AZUAY
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y GESTIÓN

Germinación de *Axinaea meriania* (DC.) Triana y *Miconia aspergillaris* (Bonpl.) Naudin, enfocada a la propagación y restauración de ecosistemas.

Trabajo de Graduación previo a la obtención del título de:

BIÓLOGA CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN

Autora:

MARCELA XIMENA SÁNCHEZ BUENO

Director:

ANTONIO CRESPO AMPUDIA, PHD

CUENCA, ECUADOR

2017

DEDICATORIA

*A mis hermanas Patricia, Tania y Karina
Por su constante apoyo y amor incondicional*

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Antonio Crespo director de esta tesis, por sus valiosos conocimientos, apoyo incondicional y constante para hacer que este trabajo de grado salga de la mejor manera, gracias por permitirme formar parte del laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas, especialmente por su consideración y gran afecto. A la Dra. Raffaella Ansaloni, Blgo. Danilo Minga y Blgo. Juan Manuel Aguilar por toda la información e ideas compartidas así como por su aporte crítico en la redacción de esta investigación.

A mis queridos padres Jorge y María por siempre hacerme sentir cuidada, apoyada y querida y enseñarme que no importa lo difícil que sea conseguir lo que uno quiere en la vida lo importante es trabajar para lograrlo, siempre serán mi fuente de motivación, este logro es por ustedes. A mis amadas hermanas Patricia, Tania y Karina son mis aliadas incondicionales, nada hubiera sido lo mismo sin ustedes gracias por todo su apoyo, cariño, comprensión y confiar en mí hasta el final.

A Dianita Inga y Karlita Pintando que aportaron una ayuda especial para el desarrollo de esta investigación, son excelentes compañeras de campo y laboratorio gracias por trasmitirme siempre su buena energía y buen humor, por todo el cariño y la confianza que me brindaron a lo largo de estos meses y darme ánimos en los momentos de desesperación. A Francisco Neira y Gabriela Mogrovejo como también a todos los pasantes del laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas por su importante e invaluable ayuda y compañía en el campo y laboratorio.

A mis queridos amigos Regina Déleg, Gabriela Urgiles y Paul Porras, fueron los mejores amigos y compañeros durante estos años de estudio en las aulas y en el campo a la hora del almuerzo y en la espera de la siguiente jornada de clases, gracias por las risas interminables, el cariño, paciencia y complicidad en las locuras, siempre los llevare en el corazón.

Finalmente a Dios por todas las oportunidades y lecciones que me ha puesto en el camino y porque a pesar de todos los buenos y malos momentos siempre conspiro a mi favor.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|-----------|
| DEDICATORIA..... | ii |
| AGRADECIMIENTOS..... | iii |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS..... | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | vi |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | vii |
| RESUMEN..... | ix |
| ABSTRACT..... | x |
| | |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| | |
| CAPÍTULO I: MATERIALES Y MÉTODOS..... | 6 |
| 1.1 Especies en Estudio..... | 6 |
| 1.2 Sitio de Colección..... | 7 |
| 1.3 Colección de Semillas..... | 10 |
| 1.4 Experimentos de Laboratorio..... | 10 |
| 1.4.1 Extracción de Semillas..... | 11 |
| 1.4.2 Descripción Morfológica de la Semilla..... | 11 |
| 1.4.3 Pruebas de Viabilidad con Tetrazolio..... | 11 |
| 1.4.4 Pruebas de Imbibición..... | 12 |
| 1.4.5 Germinación..... | 12 |
| 1.4.6 Tratamientos Pre-germinativos..... | 13 |
| 1.4.6.1 Control..... | 13 |
| 1.4.6.2 Temperatura..... | 13 |
| 1.4.6.3 Desinfección..... | 14 |
| 1.4.6.4 Infusión de Manzanilla..... | 16 |
| 1.4.6.5 Época de Colección..... | 16 |
| 1.4.6.6 Estadio del Fruto..... | 16 |
| 1.4.6.7 Absorción..... | 16 |
| 1.4.6.8 Absorción e Infusión de Manzanilla..... | 18 |
| 1.4.6.9 Absorción y Desinfección..... | 18 |
| 1.5 Análisis de Datos..... | 19 |
| | |
| CAPÍTULO II: RESULTADOS..... | 20 |
| 2.1 <i>Miconia aspergillaris</i> | 20 |
| 2.1.1 Descripción Morfológica de las Semillas..... | 20 |
| 2.1.2 Prueba de Viabilidad con Tetrazolio..... | 20 |
| 2.1.3 Imbibición..... | 20 |
| 2.1.4 Tratamientos Pre-germinativos..... | 21 |
| 2.1.4.1 Temperatura..... | 21 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.4.2 Desinfección..... | 23 |
| 2.1.4.3 Infusión de Manzanilla..... | 25 |
| 2.2 <i>Axinaea merianiaae</i> | 26 |
| 2.2.1 Descripción Morfológica de las Semillas..... | 26 |
| 2.2.2 Prueba de Viabilidad con Tetrazolio..... | 26 |
| 2.2.3 Imbibición..... | 26 |
| 2.2.4 Tratamientos Pre-germinativos..... | 27 |
| 2.2.4.1 Temperatura..... | 27 |
| 2.2.4.2 Desinfección..... | 29 |
| 2.2.4.3 Época de Colección..... | 31 |
| 2.2.4.4 Estadio del Fruto..... | 33 |
| 2.2.4.5 Prueba de Absorción..... | 35 |
| 2.2.4.5.1 Absorción Capsula Cerradas (24 horas)..... | 35 |
| 2.2.4.5.2 Absorción Capsula Dehiscente (24 horas)..... | 37 |
| 2.2.4.5.3 Absorción Capsula Cerradas (48 horas)..... | 39 |
| 2.2.4.5.4 Absorción Capsula Dehiscente (48 horas)..... | 41 |
| 2.2.4.6 Absorción 48 horas e Infusión de Manzanilla Cápsulas Dehiscentes..... | 43 |
| 2.2.4.7 Absorción 48 horas y desinfección Cápsulas dehiscentes..... | 44 |
| CAPÍTULO III: DISCUSIONES..... | 46 |
| 3.1 <i>Miconia aspergillaris</i> | 47 |
| 3.1.1 Patrones de Imbibición en <i>M. aspergillaris</i> | 47 |
| 3.1.2 Tratamientos pre-germinativos..... | 47 |
| 3.1.2.1 Temperatura..... | 47 |
| 3.1.2.2 Desinfección..... | 48 |
| 3.1.2.3 Infusión de manzanilla..... | 48 |
| 3.2 <i>Axinaea merianiaae</i> | 49 |
| 3.2.1 Patrones de Imbibición en <i>M. aspergillaris</i> | 49 |
| 3.2.2 Tratamientos pre-germinativos <i>A. merianiaae</i> | 49 |
| 3.2.2.1 Temperatura y Desinfección..... | 50 |
| 3.2.2.2 Época de colección y estadio del fruto..... | 52 |
| 3.2.2.3 Separación de Semillas Mediante Prueba de absorción (24 - 48 horas) y Desinfección..... | 53 |
| 3.3 Generalidades..... | 53 |
| RECOMENDACIONES..... | 55 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 56 |
| ANEXOS..... | 67 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1.1. Mapa de ubicación de la estación científica “El Gullán”..... | 6 |
| Figura 1.2. Mapa de ubicación de la comunidad “Pamarchacrin”..... | 7 |
| Figura 1.3. Estado de colección de frutos en el campo | 10 |
| Figura 1.4. Siembra de semillas en caja Petri..... | 10 |
| Figura 1.5. Estado de recolección de los frutos de <i>A. merianiae</i> | 11 |
| Figura 2.1. Prueba de viabilidad con Tetrazolio <i>M. aspergillaris</i> | 12 |
| Figura 2.2. Prueba de imbibición en semilla de <i>M. aspergillaris</i> | 13 |
| Figura 2.3. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>M. aspergillaris</i> no germinen bajo tratamiento de Temperatura Alta (90°)..... | 22 |
| Figura 2.4. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>M. aspergillaris</i> no germinen bajo tratamientos de desinfección..... | 23 |
| Figura 2.5. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>M. aspergillaris</i> no germinen bajo el tratamiento de infusión de manzanilla..... | 25 |
| Figura 2.6. Prueba de viabilidad con Tetrazolio <i>A. merianiae</i> | 25 |
| Figura 2.7. Prueba de imbibición en semilla de <i>Axinaea merianiae</i> | 26 |
| Figura 2.8. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> no germinen bajo diferentes pruebas de temperatura | 28 |
| Figura 2.9. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> no germinen bajo diferentes pruebas de desinfección n..... | 30 |
| Figura 2.10. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> no germinen de acuerdo a las diferentes épocas de colección de frutos..... | 32 |
| Figura 2.11. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> no germinen de acuerdo a diferentes estadios del fruto | 34 |
| Figura 2.12. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas cerradas) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 24 horas..... | 36 |
| Figura 2.13. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas dehiscentes) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 24 horas | 38 |
| Figura 2.14. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas cerradas) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas..... | 40 |
| Figura 2.15. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas dehiscentes) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas | 42 |
| Figura 2.16. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas dehiscentes) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas e infusión de manzanilla | 44 |
| Figura 2.17. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de <i>A. merianiae</i> (capsulas dehiscentes) no germinen bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas y desinfección..... | 45 |

INDICE DE TABLAS

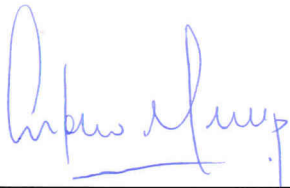
| | |
|---|----|
| Tabla 1.1. Tratamientos de temperatura en semillas de <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiaae</i> | 13 |
| Tabla 1.2. Tratamientos de desinfección en semillas de <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiaae</i> ... | 14 |
| Tabla 1.3. Tratamiento de infusión de manzanilla en semillas de <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiaae</i> | 14 |
| Tabla 1.4. Absorción en semillas de <i>A. merianiaae</i> | 16 |
| Tabla 1.5. Absorción e infusión de manzanilla en semillas de <i>A. merianiaae</i> | 17 |
| Tabla 1.6. Absorción y desinfección en semillas de <i>A. merianiaae</i> | 17 |
| Tabla 2.1. Respuestas de germinación en semillas de <i>M. aspergillaris</i> a la aplicación de Temperatura Alta (90°C)..... | 21 |
| Tabla 2.2. Respuestas de germinación en semillas de <i>M. aspergillaris</i> bajo la aplicación de diferentes tratamientos pre-germinativos de desinfección..... | 22 |
| Tabla 2.3. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>M. aspergillaris</i> . Diferencias significativas entre tratamientos de desinfección..... | 23 |
| Tabla 2.4. Respuestas de germinación en semillas de <i>M. aspergillaris</i> bajo la aplicación de tratamiento pre-germinativos con infusión de manzanilla..... | 24 |
| Tabla 2.5. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiaae</i> , bajo distintos tratamientos pre-germinativos de Temperatura..... | 27 |
| Tabla 2.6. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianaae</i> . De acuerdo a diferentes tratamientos de temperatura..... | 27 |
| Tabla 2.7. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiaae</i> , bajo distintos tratamientos pre-germinativos de desinfección..... | 29 |
| Tabla 2.8. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianaae</i> . Diferencias significativas entre tratamientos de desinfección... | 30 |
| Tabla 2.9. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiaae</i> en condiciones de laboratorio con respecto a diferentes épocas de colección de frutos..... | 31 |
| Tabla 2.10. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianaae</i> . Diferencias significativas de acuerdo a la época de cosecha de frutos..... | 32 |
| Tabla 2.11. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiaae</i> , de acuerdo al estadio del fruto..... | 33 |
| Tabla 2.12. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianaae</i> . Diferencias significativas entre estadios de las cápsulas (frutos)..... | 34 |
| Tabla 2.13. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiaae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (24 horas) en condiciones de laboratorio..... | 35 |
| Tabla 2.14. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianiaae</i> (Capsulas cerradas).Diferencias significativas entre semillas sumergidas y semillas flotantes de la pruebas de absorción (24 horas) | 36 |

| | |
|---|----|
| Tabla 2.15. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (24 horas)..... | 37 |
| Tabla 2.16. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianiae</i> (Capsulas dehiscentes). Diferencias significativas entre semillas sumergidas y semillas flotantes de la pruebas de absorción (24 horas)..... | 38 |
| Tabla 2.17. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (48 horas)..... | 39 |
| Tabla 2.18. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianiae</i> (Capsulas cerradas). Diferencias significativas entre semillas sumergidas y semillas flotantes de la pruebas de absorción (48 horas)..... | 40 |
| Tabla 2.19. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (48 horas) y desinfección..... | 41 |
| Tabla 2.20. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de <i>A. merianiae</i> (Capsulas dehiscentes). Diferencias significativas entre semillas sumergidas y semillas flotantes de la pruebas de absorción (48 horas)..... | 42 |
| Tabla 2.21. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (48 horas) e infusión de manzanilla..... | 43 |
| Tabla 2.22. Respuestas de germinación en semillas de <i>A. merianiae</i> , bajo la aplicación de tratamientos pre-germinativos con pruebas de absorción (48 horas) e infusión de manzanilla..... | 45 |

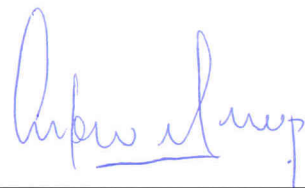
GERMINACIÓN DE *Axinaea meriania* (DC.) Triana. Y *Miconia aspergillaris* (Bonpl.) Naudin., ENFOCADA A LA PROPAGACIÓN Y RESTAURACIÓN DE ECOSISTEMAS.

El estudio analizó la germinación de *Miconia aspergillaris* y *Axinaea meriania* y discutió su potencialidad de su uso en la restauración. Se compararon respuestas de imbibición y germinación entre distintos tratamientos con pruebas ANOVA (pesos) y análisis de supervivencia (germinación). En *M. aspergillaris* se obtuvo un 89,33% de germinación con una infusión de manzanilla, y en *A. meriania* un 64% con un tratamiento de absorción y desinfección. Los resultados sugieren que en *M. aspergillaris* la desinfección mejora las tasas de germinación, mientras que en *A. meriania* la época de colección y el estadio del fruto condicionan la germinación. Se recomienda la siembra directa con bombas de semillas en vez de la propagación de plántulas en vivero.

Palabras Clave: Especies nativas, imbibición, germinación, tratamientos pre-germinativos



Antonio Manuel Crespo Ampudia
Director de Tesis



Antonio Manuel Crespo Ampudia
Coordinador de Escuela



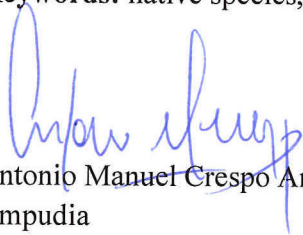
Marcela Ximena Sánchez Bueno
Autora

GERMINATION OF *Axinaea meriania* (DC.) Triana, and *Miconia aspergillaris* (Bonpl.) Naudin., FOCUSED ON THE PROPAGATION AND RESTORATION OF ECOSYSTEMS.

ABSTRACT

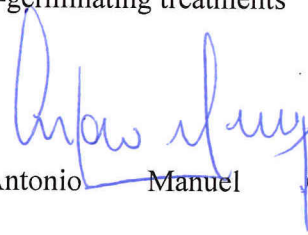
The study analyzed the germination of *Miconia aspergillaris* and *Axinaea meriania*, and discussed their potential use in restoration. Imbibition and germination responses were compared between different treatments through ANOVA test (weight) and survival analysis (germination). In *M. aspergillaris* 89.33% of germination was obtained with a chamomile infusion, and in *A. meriania* 64% was obtained with an absorption and disinfection treatment. The results suggested that in *M. aspergillaris*, germination rates were improved by the disinfection; whereas in *A. meriania*, germination was conditioned by the collection period and the stage of the fruit. Direct sowing with seed pumps was recommended instead of propagation of seedlings in nursery.

Keywords: native species, imbibition, germination, pre-germinating treatments



Antonio Manuel Crespo Ampudia
Ampudia

Thesis Director



Antonio Manuel Crespo

School Coordinator



Marcela Ximena Sánchez Bueno

Author



Translated by,

Lic. Lourdes Crespo

Marcela Ximena Sánchez Bueno

Trabajo de Graduación

Crespo Ampudia Antonio, PhD

Julio, 2017

GERMINACIÓN DE *Axinaea meriania* (DC.) Triana Y *Miconia aspergillaris* (Bonpl.) Naudin, ENFOCADA A LA PROPAGACIÓN Y RESTAURACIÓN DE ECOSISTEMAS.

INTRODUCCIÓN

En América Latina la conversión de los ecosistemas naturales a sistemas de producción agrícola, ganadera, industrial y de explotación no sostenibles continúa incrementando (Viña et al. 2013). En la región Andina del Ecuador la degradación de los ecosistemas no solo amenaza a la biodiversidad nativa y a los servicios que proveen los ecosistemas, sino que también pone en riesgo el sustento y salud de las poblaciones humanas (Sarmiento 2000; White et al. 1991).

Se estima que unos 350 millones de hectáreas han sido deforestadas, y otros 500 millones de hectáreas de bosques tropicales secundarios y primarios han sido degradados (ITTO 2005). Siendo el Ecuador en el 2011 el país con la tasa de deforestación más alta de los Andes y América Latina con 200.000 hectáreas deforestadas (FAO 2011; Kiss et al. 2008).

Las consecuencias perjudiciales de esto a nivel global incluyen el incremento de la radiación solar y alteración en el balance del agua atmosférica, acelerando el cambio climático (Houghton 1992; Lugo 1992; Whitmore 1993, 1997). Mientras que a nivel regional incluyen la pérdida o reducción de servicios ecológicos como la capacidad de controlar la erosión del suelo, regular el flujo de agua y mantener los ciclos de nutrientes (Vanacker et al. 2003; Buytaert et al. 2002) causando la pérdida de fertilidad del suelo, que disminuye la provisión de bienes y productos forestales utilizados como sustento por habitantes locales (Meli 2003; Aronson et al. 2007).

Pero una de sus más importantes consecuencias a nivel ecológico, es la fragmentación de los ecosistemas naturales y la pérdida asociada en riqueza de flora y fauna que mantienen los servicios ecológicos, como la polinización y dispersión de semillas importantes para el funcionamiento de todos los ecosistemas (Meffe et al. 1994; Murcia 1995; Giffin 1993).

Como respuesta a la degradación, surge la ciencia y práctica de la restauración ecológica; actividad intencional que inicia o acelera la recuperación de un ecosistema degradado, dañado o destruido (Clewel 2004); con el propósito de recuperar su trayectoria histórica y mejorar su capacidad de proveer servicios, para el bienestar del ser humano y de la biodiversidad (Lamb et al. 2005; Ciccarese et al. 2012; Holl 2012). Sin embargo, en muchos casos la recuperación de ecosistemas degradados tomando en cuenta estos valores de restauración ecológica es considerada una utopía (Palang 2000).

En las zonas tropicales, la siembra de plántulas de especies maderables ha sido la estrategia más utilizada para recuperar o revegetar ecosistemas degradados. En el Ecuador, por ejemplo, la implementación de esta estrategia ha favorecido a la proliferación de plantaciones de maderas exóticas, en su mayoría árboles del género *Eucalyptus*, *Pinus* y *Acacia* (Lamb et al. 2005; Chazdon 2008; Sautu et al. 2006). No obstante estas plantaciones pueden tener impacto negativo en el balance hídrico, materia orgánica del suelo y biodiversidad nativa, especialmente en los páramos que históricamente no albergaban árboles (Bosch et al. 1982; Carse 2006; Hofstede et al. 2002; Buytaert 2002).

En contraste, la eficiencia y efectos positivos del uso de plantas nativas (hierbas, arbustos, árboles y otros) para recuperar atributos estructurales y funcionales de un ecosistema degradado ha sido reportada ampliamente en la literatura (Meli 2003; Vázquez et al. 2009; Benítez et al. 2004). Las plantas nativas, por ejemplo, establecen complejas redes de interacción con animales y estas sostienen el funcionamiento de los ecosistemas con procesos como la polinización, dispersión de semillas y control de plagas (Jordano 1987; Futuyma 1983), también mantienen la estabilidad en la fertilidad, conservación del suelo y el ciclo hidrológico (Vázquez et al. 2009).

Lamentablemente, el uso de especies nativas para revegetar ecosistemas degradados es todavía limitado en el Ecuador. Los viveros producen casi exclusivamente árboles que tienen valor comercial o agrícola y para el que se conocen las técnicas de propagación (Sautu et al. 2006). Esto se debe en gran parte a la poca información y conocimiento sobre la propagación y manejo *in situ* de la mayoría de especies vegetales nativas de los trópicos (Schmidt 2000).

Adicionalmente, la producción masiva de muchas especies resulta complicada y costosa debido a ciertas características fisiológicas como largos períodos de dormancia en las semillas o crecimiento lento de las plántulas. (Blakesley et al. 2002; Vázquez et al. 1993; Daws et al. 2005; Vazquez et al. 1990). Resulta imperante entonces, desarrollar y documentar métodos de propagación para una mayor riqueza de especies nativas de tal forma que puedan ser utilizadas en programas de restauración. Para este fin es necesario investigar la morfología de frutos y semillas, el comportamiento de imbibición y germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas en distintas condiciones (Crespo 2014; Silveira et al. 2013).

En este contexto *Miconia aspergillaris* y *Axianaea meriania* pertenecientes a la familia MELASTOMATACEAE son especies nativas con potencial para la restauración ecológica. Según Silveira et al (2013), las especies de esta familia son capaces de colonizar áreas degradadas; incluso en suelos contaminados o con baja cantidad de nutrientes, y crear condiciones adecuadas para el establecimiento de especies de sucesiones media y tardía. La estructura vegetal arbustiva con ramas y ramillas muy densas de las dos especies, son características similares a las de especies determinadas como planta nodrizas; que de acuerdo con Cueva et al (2013) pueden atenuar el estrés ambiental o reducir la intensidad de las perturbaciones en el hábitat. Además de proporcionar sombra y sustrato a plántulas de su especie o de otras especies que crecen bajo su dosel, permitiendo la formación de machones de vegetación de diferentes tamaños y composición.

A esto se suma su importancia ecológica como especies claves en las redes de interacción con aves nectarívoras y frugívoras relacionadas con la polinización y dispersión de semillas. El estudio realizado por Tinoco et al. (2015), identifica; a *Miconia aspergillaris* como una especie importante en la red de interacciones con 3

especies de aves frugívoras: *Anisognathus igniventris*, *Dubusia taeniata*, *Atlapetes latinuchus*. De acuerdo al comportamiento natural de las especies las semillas se dispersan por medio de aves que limpian y transportan las semillas lejos de la planta madre (Silveira et al. 2013). El estudio realizado por Tinoco et al. (2015) también encuentra a *Axinaea merianae* como una especie importante para la red de interacciones con 3 especies de aves nectarívoras *Diglossopsis cyanea*, *Atlapetes latinuchus*, *Anisognathus igniventris*, que son atraídos por sus estambres bulbosos como mecanismo de polinización (Dellinger et al. 2014).

Sin embargo, existen pocos estudios sobre la propagación sexual de las especies de esta familia que justifiquen el desarrollo de una tecnología eficiente para facilitar su manejo en programas de restauración ecológica, especialmente en la superación de la latencia de germinación (Godoi 2007). Estudios realizados con *Miconia* reportan que existen pocos inhibidores de la germinación (Silveira et al., 2013). El fruto podría ser un inhibidor, debido a que las semillas de este género no germinan en frutos intactos, sino hasta que las semillas son limpiadas por aves y hormigas (Silveira et al. 2013; Silveira et al. 2012). Otro inhibidor podría ser la ausencia de luz y temperatura; para que las semillas que se encuentran en el suelo germinen, requieren luz con alta fluencia y temperatura alta o temperatura alterna (Kageyama et al. 1990; Bazzaz 1984).

La mayoría de especies de MELASTOMATACEAE a menudo no presentan latencia fisiológica en las semillas, son permeables al agua y envuelven un embrión bien desarrollado y diferenciado. (Baskin 2005; Silveira Et al., 2013). En algunos casos las semillas de estas especies podrían presentar latencia morfológica que ocurre cuando las semillas que se desprenden de la planta madre no tienen un embrión completamente desarrollado, es decir semillas de baja calidad y poca viabilidad (Arteca 1996, Schmidt 2000). Sin embargo, de acuerdo a lo reportado por Silveira et al (2012), las semillas de esta familia se dispersan en la transición de estación lluviosa y seca, cuando el agua del suelo es suficiente para provocar la germinación pero insuficiente para permitir el establecimiento de las plántulas. En estas condiciones, la probabilidad de mortalidad de las plántulas es alta por lo que estas especies parecen haber evolucionado en respuesta a la alta mortalidad de las plántulas (Chávez et al. 2011)

Para las semillas del género *Miconia*, existe información publicada sobre su morfología, potencial de almacenamiento y contenido de proteína y lípidos (RBGK, 2017); sin embargo, para las semillas de la especie *M. aspergillaris* no existen información sobre sus características morfo-fisiológicas, su ecología o manejo. Lo mismo ocurre con el género *Axineae* y todas las especies del mismo. Por lo tanto, se desconoce si son semillas tolerantes o no tolerantes a la desecación; se desconoce también las condiciones óptimas de pH, luz, temperatura, sustrato u otros requerimientos para lograr una germinación rápida y sincronizada.

El objetivo de este trabajo fue contar con una descripción y análisis del comportamiento de imbibición y germinación de semillas de *M. aspergillaris* y *A. meriana* en condiciones controladas de laboratorio y discutir las implicaciones de este comportamiento para distintas aplicaciones de restauración ecológica.

CAPÍTULO I MATERIALES Y MÉTODOS.

1.1 Especies en estudio

Miconia aspergillaris y *Axinaea merianiaae* pertenecen al orden MYRTALES, familia MELASTOMATACEAE (Anexo 1). Son especies nativas de Matorral Montano Bajo y Páramo Arbustivo distribuidas en el centro y sur de América, entre los 1200 a 3800 m.s.n.m, desde Costa Rica hasta Bolivia (Sierra 1999; Cotton et al. 2004). En el Ecuador, se encuentran distribuidas en la cordillera occidental, principalmente en el Bosque Nublado Montano y Matorral Montano Bajo desde los 1800 a 3000 m.s.n.m (Balslev et al. 2008).

M. aspergillaris conocido comúnmente como “Cérrag o Sírac”, es un arbusto nativo del Ecuador, ampliamente distribuido en la provincia del Azuay. Los individuos adultos pueden medir 3 o 4 m de alto y presentar una copa irregular y un tallo retorcido. Posee hojas simples opuestas con margen dentado, lámina oblongo elípticas entre 2 - 1,5 mm de largo y 1 – 0,5 mm de ancho y con base redondeada levemente con 5 nervaduras conspicuas desde la base, peciolo entre 0,4 – 0,3 mm de largo. Las flores se presentan en panículas entre 7 – 2 cm de largo, fruto bacado en racimos, con numerosas semillas ovoides de 1 mm de largo (Wardack 1980; Ulloa 1995). Tradicionalmente esta especie tiene propiedades medicinales, sus hojas y flores se usan en los baños después del parto y en dietas; adicionalmente su madera se aprovecha para leña, carbón, construcciones pequeñas y elaboración de estacas; sus frutos son comestibles (Minga 2016).

A. merianiaae conocida comúnmente como “Sarcillo”, es un arbusto o árbol nativo del Ecuador que mide de 1 a 4 m de alto con copa irregular, tallos retorcidos y una corteza externa exfoliable. Posee hojas simples opuestas con margen dentado desde la mitad hacia el ápice, lamina oblongada o levemente ovada entre 4 – 3 cm de largo y 2 – 1 cm de ancho, base redondeada y ápice agudo con tres nervaduras conspicuas desde la base, peciolo de 1- 0,7 mm de largo. Las inflorescencia se disponen en cortos racimos de 5 a 4 flores; tecas 9 – 8 mm de largo con un apéndice dorso-basal, sacciforme,

bulboso; pedicelo de 1 – 0,8 mm de largo; y una capsula loculicida que mide entre 1 cm – 0,7 mm de largo con numerosas semillas oblongo-piramidales de 2 mm de largo (Wardack 1980; Ulloa 1995). Su potencial de uso es la madera, para construcciones o para fabricar carbón (De la Torre 2008).

1.2 Sitio de colección

Los frutos de *M. aspergillaris* y *A. merianiae* fueron recolectados en la Estación Científica “El Gullán” propiedad de la Universidad del Azuay, ubicada en el Sector Virgen de La Paz, perteneciente a la parroquia Las Nieves del cantón Nabón, provincia del Azuay (latitud 3°20.3'S, longitud 79°10.3'Oeste) con una altitud que varía entre los 2900 - 3100 m.s.n.m. (Figura 1.1);

Adicional a este sitio, los frutos de *M. aspergillaris* también se recolectaron en la comunidad de Pamarchacrín ubicada en el cantón Sigsig, parroquia de San Bartolomé (latitud 3°2.5'S, longitud 78°50'Oeste), en una zona comprendida entre 2700 - 2800 m.s.n.m. (Figura 1.2).

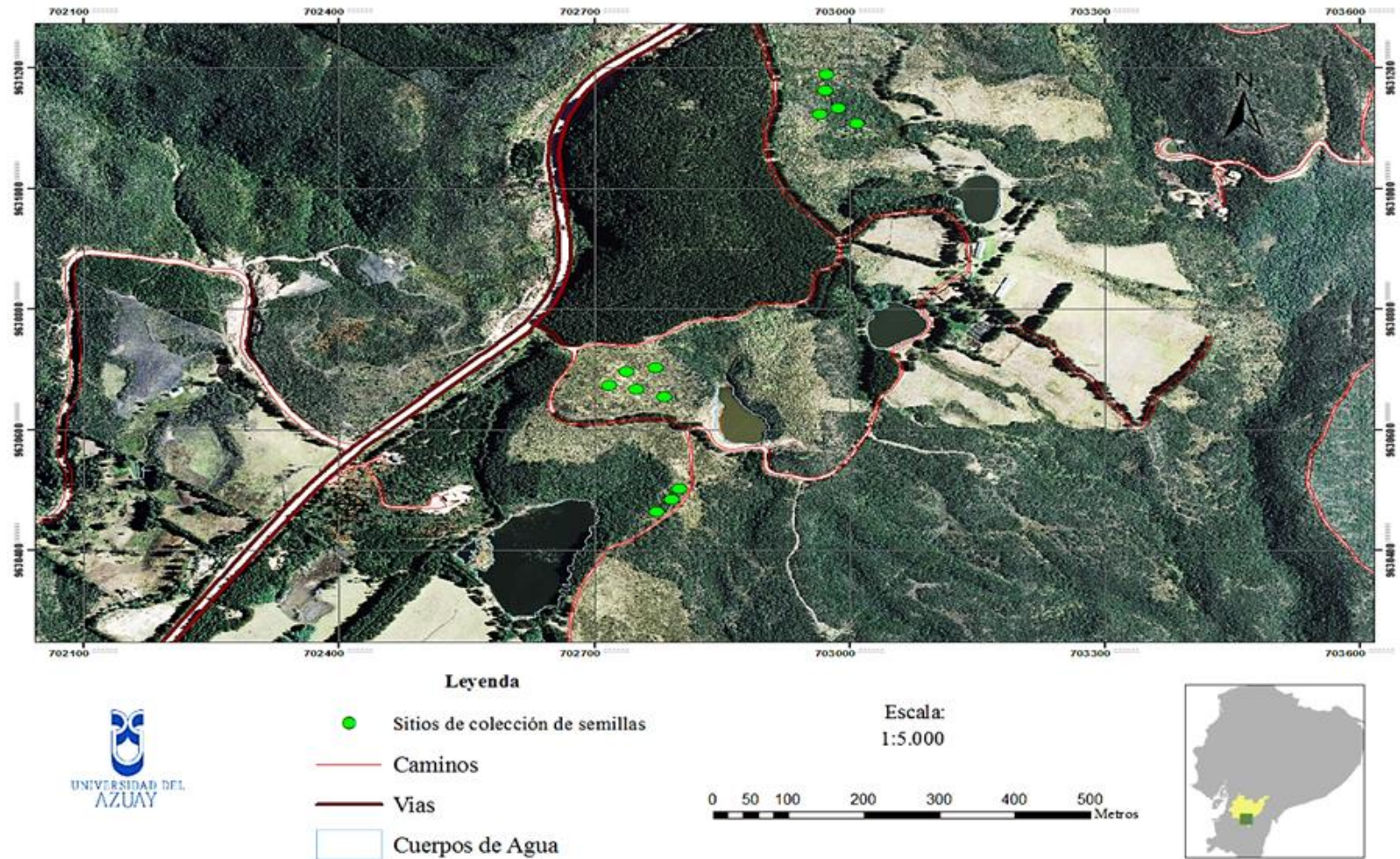


Figura 1.1. Mapa de ubicación de la estación científica “El Gullán”. Sitios de colección de frutos.

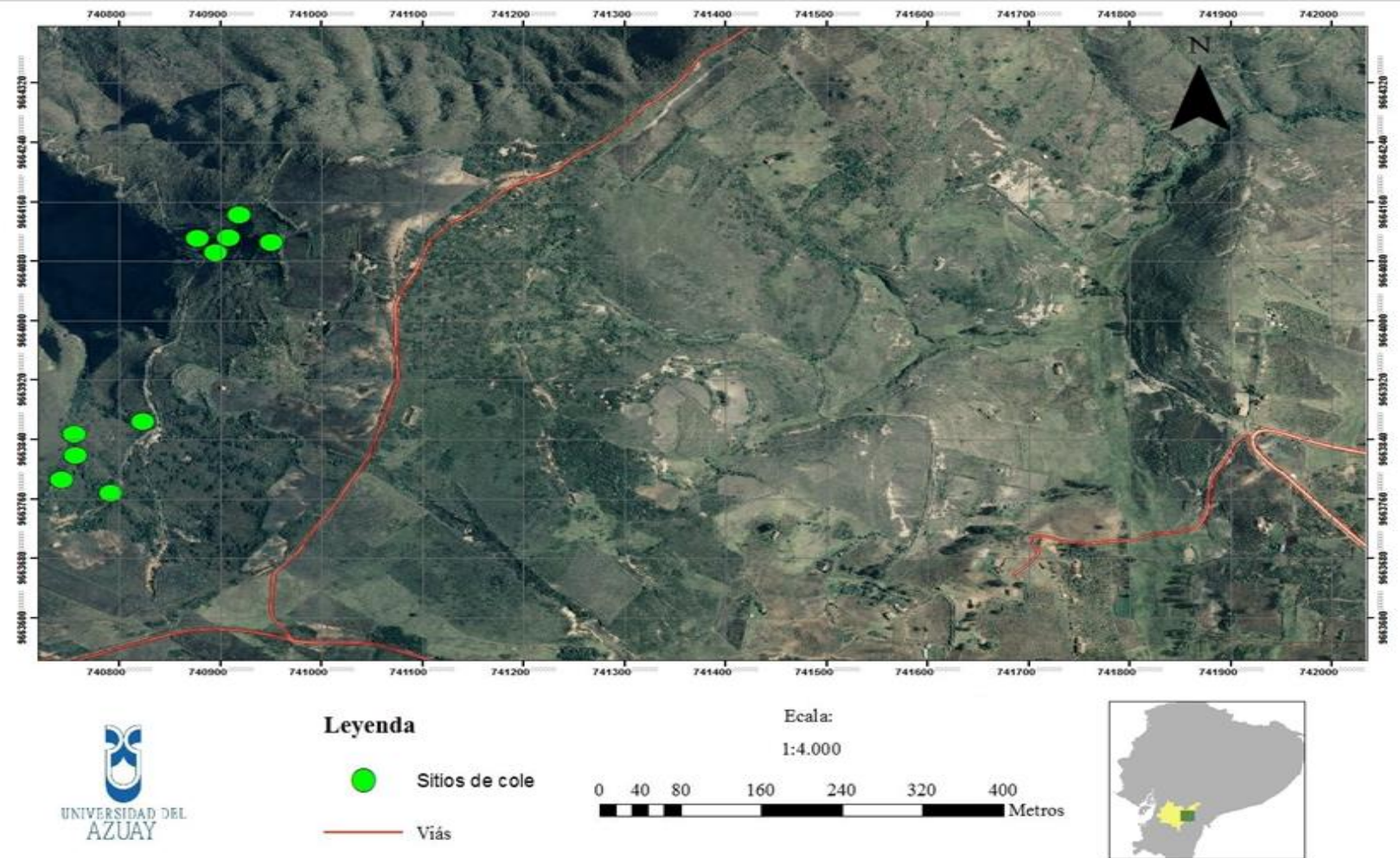


Figura 1.2. Mapa de ubicación de la comunidad “Pamarchacrín”. Sitios de colección de frutos.

1.3 Colección de semillas

Los frutos se colectaron entre los meses de julio de 2016 y febrero de 2017. Para cada especie se colectaron frutos de un mínimo de 10 individuos adultos a una distancia de 100 y 2000 m entre cada individuo. Se colectaron frutos a diferentes alturas de la copa de cada individuo maduro. En el caso de *M. aspergillaris* las semillas se encuentran en vayas maduras que presentan una coloración violeta-verde oscura y cuyas semillas son visibles a través del exocarpo (Figura 1.3 a). Mientras que en *A. meriania* las semillas maduras se encuentran en frutos sincárpicos identificados como cápsulas loculicidas que forman parte de la flor (Figura 1.3 b). Los frutos fueron transportados en fundas plásticas al Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas para la aplicación de los siguientes experimentos.



Figura 1.3. Estado de colección de frutos en el campo. a) *M. aspergillaris*. Vayas maduras que presentan una coloración violeta-verde oscura .b) *A. Meriania*. Frutos sincárpicos identificados como cápsulas loculicidas que forman parte de la flor.

1.4 Experimentos de laboratorio

Estos se realizaron en el Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas de la Universidad del Azuay, donde se realizaron pruebas de imbibición y germinación por separado. Las semillas estuvieron expuestas a un rango de temperaturas entre 16° y 21°C y a 12 horas diarias de luz fluorescente blanca fría diaria (80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

1.4.1 Extracción de semillas

Para extraer las semillas en *M. aspergillaris* se comprimieron las drupas separando la pulpa que contiene las semillas del exocarpo (cascara). Posteriormente se colocó la pulpa en un cernidor y se lavó en agua corriente aislando las semillas de la pulpa, finalmente se las dejó secar en papel filtro para facilitar su separación. (Anexo 2). En el caso de *A. merianiae* se presionaron manualmente las cápsulas removiendo las semillas que se desprendían con facilidad (Anexo 3).

1.4.2 Descripción morfológica de las semillas

Esta descripción se basó en la forma, largo (mm) y peso (mg) de las semillas. La forma de las semillas se describe de acuerdo a la literatura. Para determinar el largo se midieron veinte semillas de cada especie con una regla (Anexo 4). Debido al tamaño reducido de las semillas, estas no se pesaron individualmente sino en lotes de 10 semillas de *M. aspergillaris* y 20 semillas de *A. merianiae* en una balanza analítica dicho pesaje se repitió 10 veces para cada especie.

Finalmente se determinó el número de semillas por fruto para ambas especies, debido al tamaño reducido de las semillas y al gran número de semillas por fruto (especialmente en *A. merianiae*), se extrajo las semillas de 5 vayas de *M. aspergillaris* y 5 capsulas de *A. merianiae*, se contabilizaron manualmente el total de semillas contenidas por vayas o capsula.

1.4.3 Pruebas de viabilidad con tetrazolio

La prueba de Tetrazolio (TZ) es la más usada para comprobar la viabilidad de las semillas. Se basa en medir la actividad metabólica de la enzima des-hidrogenasas, enzimas típicas de las células vivas para diferenciarlas de las células muertas. El Tetrazolio presenta un color amarillo en condiciones estables, reacciona ante la presencia de la des-hidrogenasa de células vivas y las tiñe de color rojo, mientras que las muertas permanecen sin colorear. (Schmidt 2000).

Para efectos de la prueba se ocuparon lotes de 100 semillas de cada especie que se sumergieron en 20 ml de (TZ) al 15% por 24 horas en un lugar apartado de la luz, al completar la inmersión se lavaron en agua destilada como sugiere Schmidt (2000). Las

semillas se dejaron secar en papel filtro y luego se comprobó la tinción del embrión con la ayuda de un estereoscopio.

1.4.4 Prueba de imbibición

Para determinar los patrones temporales de imbibición se separaron lotes de 150 semillas para cada especie; se inició pesando en seco tres muestras aleatorias de 10 semillas para *M. aspergillasris* y 20 semillas para *A. merianiaae*, en una balanza analítica de alta precisión. Luego de aplicar los tratamientos pre-germinativos, las semillas fueron inmersas en 10 ml de agua destilada a temperatura ambiente (Cook et al. 2008; Turner et al. 2006). Tras 1 hora de inmersión se sustrajeron las semillas del envase y se retiró suavemente la adherencia de agua con toallas de papel para su pesaje en el intervalo de 1 hora hasta las 8 horas, tras estos pesajes se realizaron otras mediciones a las 12, 24, 48 y 72 horas, con el fin de determinar gravimétricamente en cada punto de tiempo los aumentos en la masa fresca de las semillas en cada hora de la prueba. (Ehiagbonare et al. 2009; Baskin 2004).

Los aumentos en la masa fresca se convirtieron a porcentajes utilizando la fórmula $Wi = [(Wi - Wd) / Wd]$, donde Wi y Wd son masas de semillas asimiladas en imbibición, respectivamente (Anexo 5) (Baskin 1998).

1.4.5 Germinación

Las semillas fueron procesadas en un lapso máximo de 48 horas, luego de la recolección con el fin de evitar los efectos de almacenamiento sobre el comportamiento germinativo. Luego de aplicar los tratamientos pre-germinativos las semillas fueron sembradas en cajas Petri de 10 cm, sobre papel filtro humedecido con 3 ml de agua destilada. Cada tratamiento consto de 15 réplicas con 10 semillas por replica; es decir un total de 150 semilla por tratamiento para cada especie. (Figura 1.4). Los patrones de germinación fueron monitoreados por tratamiento mediante un registro diario no- acumulativo por un lapso de 30 días después de la siembra (Anexo 6 y 7). La germinación se registró como la emergencia de la radícula a una longitud de 1mm (Anexo 8). Las semillas germinadas o germinantes, fueron contabilizados diariamente siguiendo la recomendación de Schmidt (2008). En caso que el papel filtro se encontrara seco se agregó 2 ml de agua destilada. Para cada especie se aplicaron distintos tratamientos pre-germinativos, los mismos que se detallan a continuación.

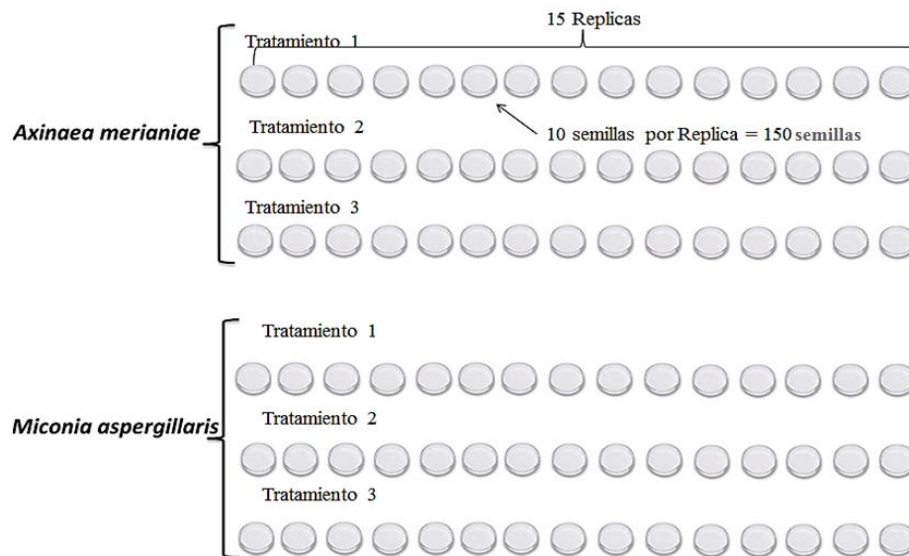


Figura 1.4. Siembra de semillas en caja Petri. Cada tratamiento comprende de 15 réplicas con 10 semillas por réplica con un total de 150 semilla por tratamiento para cada especie.

1.4.6 Tratamientos pre-germinativos.

1.4.6.1 Control

Cada tratamiento pre-germinativo constó de un control, para comparar los efectos producidos por los tratamientos aplicados en distintos lotes de semillas. En el control, no se aplicó desinfección o tratamientos pre-germinativos; solamente se colocaron las semillas en cajas Petri sobre papel filtro humedecido con 3 ml de agua destilada.

1.4.6.2 Temperatura

Las temperaturas altas aumentan la rapidez con que el agua penetra la semilla y favorece la disolución temprana de solutos, lo que acelera los procesos enzimáticos para provocar una germinación más temprana (Bewley et al. 1982; Baskin et al. 1998; Batlla 2003).

En el caso de *M. aspergillaris* se empleó un tratamiento de Temperatura Alta, que consistió en colocar las semillas en 200 ml de agua en ebullición a una temperatura de 90°C por 3 segundos. Las semillas de *A. meriania* fueron sometidas a 3 tratamientos

de Temperatura denominados como Temperatura Alta, Media y Baja. La temperatura Alta se empleó bajo los mismos parámetros de aplicación que en el caso de *M. aspergillaris*. En cambio para la temperatura Media se sembraron las semillas en cajas Petri con 3ml de agua destilada y se procedió a dejar en reposo sobre una alfombrilla térmica (Jump Start Seedling Heat Mat), cuya temperatura se mantuvo en rangos de 24 - 35°C por un lapso de 2 días, en rangos de 8 horas cada día. Finalmente la temperatura Baja consistió en refrigerar a 3°C durante 8 días, las semillas que fueron sembradas previamente en cajas Petri con 3 ml de agua destilada (Tabla 1.1).

Tabla 2.1. Tratamiento de temperatura en semillas de *M. aspergillaris* y *A. merianiae*.

| Tratamiento | Descripción | Especie tratada |
|------------------------------|---|---|
| Control | Semillas colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. | <i>M.aspergillaris</i> y <i>A. Merianiae</i> |
| Temperatura Alta (90°C) | Semillas colocadas en 200 ml de agua en ebullición por 3s y luego colocadas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>M.aspergillaris</i> y <i>A. Merianiae</i> |
| Temperatura Media (24- 35°C) | Semillas colocadas en una alfombrilla térmica durante 8h por día, por 2 días y luego colocadas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada, | <i>A. Merianiae</i> |
| Temperatura Baja (3°C) | Semillas en refrigeración por 8 días (3°C) y luego colocadas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>A. Merianiae</i> |

1.4.6.3 Desinfección

Como agente desinfectante se utilizaron combinaciones de agua oxigenada y jabón líquido a distintas concentraciones y tiempos de exposición como se muestra en la Tabla 1.2. El agua oxigenada contiene peróxido de hidrogeno que actúa como un disolvente corrosivo en la testa de la semilla de esta forma permite el ingreso de agua hasta el embrión estimulando la germinación (Schmidt, 2008).

La prueba consistió en sumergir las semillas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido. Se agito la mezcla por 5 minutos para luego extraer las semillas y sumergirlas en agua oxigenada. De esta forma se aplicaron 4 tratamientos de desinfección en semillas de *M. aspergillaris* y 3 tratamientos en las semillas de *A.*

merianiae. Cada tratamiento de desinfección siguió el mismo procedimiento, pero cada periodo de inmersión en el agua oxigenada corresponde a un tratamiento distinto. Teniendo así tratamientos de inmersión por 30 segundo; y 1, 3 y 5 minutos (Tabla 1.3).

Tabla 1.4. Tratamientos de desinfección en semillas de *M. aspergillaris* y *A. merianiae*

| Tratamiento | Descripción | Especie tratada |
|--------------------|--|--|
| Control | Semillas colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. | <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiae</i> |
| Desinfección 30s | Semillas colocadas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido se agito la muestra por 5 min, se extrajo las semillas para sumergirlas en agua oxigenada por 30 s y luego se las coloco en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiae</i> |
| Desinfección 1min | Semillas colocadas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido se agito la muestra por 5 min, se extrajo las semillas para sumergirlas en agua oxigenada por 1 m y luego se las coloco en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiae</i> |
| Desinfección 3min | Semillas colocadas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido se agito la muestra por 5 min, se extrajo las semillas para sumergirlas en agua oxigenada por 3 m y luego se las coloco en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>M. aspergillaris</i> y <i>A. merianiae</i> |
| Desinfección 5 min | Semillas colocadas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido se agito la muestra por 5 min, se extrajo las semillas para sumergirlas en agua oxigenada por 5 min y luego se las coloco en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. | <i>M.aspergillaris</i> |

1.4.6.4 Infusión de manzanilla

Dentro de los principales componentes químicos de la manzanilla (*Chamomile spp*) incluye el alfa-bisabolol que posee propiedades antisépticas con la capacidad de eliminar hongos o bacterias, también es un emoliente natural que permite la absorción de moléculas de agua (Frobish 2010).

Este tratamiento se aplicó únicamente en las semillas de *M. aspergillaris* (Tabla 1.3) y consistió en dejar inmersas las semillas en 10 ml de infusión de manzanilla por 24 horas

Tabla 1.5. Tratamiento de infusión de manzanilla en semillas de *M. aspergillaris*.

| Tratamiento | Descripción |
|-------------|-------------|
|-------------|-------------|

| | |
|------------|--|
| Control | Semillas colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. |
| Manzanilla | Semillas colocadas en 10 ml infusión de manzanilla por 24 horas y luego colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada |

1.4.6.5. Época de colección.

Este tratamiento fue aplicado solamente en *A. merianiae* y consistió en comparar las respuestas de imbibición y germinación de semillas colectadas en distintas épocas del año. De esta forma, se colectaron semillas en los meses de julio, agosto y septiembre de 2016, y en enero y febrero de 2017. Estas no fueron sometidas a ningún tratamiento de desinfección o pre-germinativo y fueron sembradas en cajas Petri sobre papel filtro humedecido con 3 ml de agua destilada.

1.4.6.6. Estadio del fruto.

Nuevamente, este tratamiento fue aplicado solo en *A. merianiae* con el fin de comparar semillas colectadas de frutos en distintos estadios de madurez: Cápsulas dehiscentes de coloración gris a blanca (CDB) (Figura 1.5a), Cápsulas cerradas de coloración café oscuro (CCC) (Figura 1.5b), y Cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c). Se combinaron las semillas de varias cápsulas de un mismo estadio en recipientes separados (Anexo). Posteriormente se separaron lotes de 150 semilla de cada estadio, no se aplicaron tratamientos pre-germinativos y fueron sembradas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada 15 réplicas con 10 semillas cada replica para cada uno de los estadios del fruto (Tabla 1.4).



Figura 1.5. Estado de recolección de los frutos de *A. Merianiae*. a) Capsulas dehiscentes de coloración gris a blanca (CDB). b) Capsulas cerradas de coloración café oscuro (CCC). c) capsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC)

1.4.6.7 Absorción

Según Schmidt (2000), inicialmente todas las semillas sumergidas en agua flotan; sin embargo las semillas maduras y viables debido a su capacidad de absorción de agua e incremento en la masa se sumergirán después de un periodo de tiempo apropiado, por su parte las semillas vacías, dañadas o inmaduras permanecerán flotantes. Esta prueba se realizó solamente con *A. merianiae* y consistió en separar las semillas que flotan (Semillas Flotantes) de las semillas que no flotan (Semillas Sumergidas) (Anexo 9). Se colocaron por separado las semillas de cápsulas cerradas y cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro en 50 ml de agua destilada por periodos de 24 y 48 horas, estos correspondieron a dos tratamientos distintos para cada estadio. Una vez separadas las semillas, tanto flotantes como sumergidas fueron sembradas apartadamente en cajas Petri con 3 ml de agua destilada (Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Absorción en semillas de *A. merianiae*.

| Tratamiento | Descripción |
|--|---|
| Control | Semillas de (CCC) y (CDC) colocadas por separado en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. |
| Absorción 24h en semillas de (CCC) y (CDC) | Semillas colocadas en 50 ml de agua destilada por 24 horas. Se colocan por separado en caja Petri con 3 ml de agua destilada las semillas que flotan (Semillas Flotantes) y las que no flotan (Semillas Sumergidas) |
| Absorción 48h en semillas de (CCC) y (CDC) | Semillas colocadas en 50 ml de agua destilada por 48 horas. Se colocan por separado en caja Petri con 3 ml de agua destilada las semillas que flotan (Semillas Flotantes) y las que no flotan (Semillas Sumergidas) |

1.4.6.8 Absorción e infusión de manzanilla

Este tratamiento se aplicó en semillas de *A. merianiae* de cápsulas dehiscentes color café oscuro (CDC), puesto que con este estadio de fruto se obtuvieron mejores tasas de germinación. Tras una prueba de absorción por 48 horas se sustrajo las semillas que no flotan (Semillas Sumergidas) y se aplicó el tratamiento pre-germinativo de infusión de manzanillas que consistió en dejar inmersas las semillas en 10 ml de infusión de manzanilla por 24 horas, luego fueron sembradas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. (Tabla 1.5).

Tabla 1.5. Absorción e infusión de manzanilla en semillas de *A. meriania*.

| Tratamiento | Descripción |
|---|---|
| Control | Semillas de (CDC) colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. |
| Absorción por 48h e infusión de manzanilla en semillas de (CDC) | Semillas colocadas en 50 ml de agua destilada por 48 horas, se extrajeron las semillas que no flotan (Semillas Sumergidas) para sumergirlas en 10 ml de infusión de manzanilla por 24 horas y luego colocadas en caja Petri con 3 ml de agua destilada. |

1.4.6.9 Absorción y desinfección

Del mismo modo este tratamiento se aplicó solamente en semillas de *A. meriania* de cápsulas dehiscentes de color café oscuro (CDC). Se aplicó la prueba de Absorción por 48 horas y posteriormente se separaron las semillas que no flotaron (Semillas Sumergidas). Estas semillas fueron desinfectadas en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido y agitadas por 5 minutos; luego se sustrajeron las semillas para sumergirlas en agua oxigenada por 5 minutos. Finalmente las semillas se sembraron en cajas Petri con 3 ml de agua destilada (Tabla 1.6)

Tabla 1.6. Absorción y desinfección en semillas de *A. meriania*.

| Tratamiento | Descripción |
|--|--|
| Control | Semillas de (CDC) colocadas por separado en caja Petri con 3 ml de agua destilada sin tratamiento pre-germinativo. |
| Absorción por 48 más desinfección en semillas de (CDC) | Semillas colocadas en 50 ml de agua destilada por 48 horas. Se extrajeron las semillas sumergidas y se colocaron en 10 ml de agua destilada con una gota de jabón líquido se agitaron las semillas por 5 min, finalmente la muestra permaneció sumergida por 5 min en agua oxigenada. Siembra de semillas en cajas Petri con 3 ml de agua destilada. |

1.4. Análisis de datos.

Los patrones temporales de imbibición se analizaron a través de un test ANOVA para conocer si el incremento de peso de las semillas luego de 72 horas de imbibición difirió significativamente entre los tratamientos utilizados para las dos especies. Previo al test ANOVA, se corrió un test Shapiro–Wilk para analizar la normalidad en la distribución de los datos. Ambos análisis se realizaron con el software SigmaPlot (v. 12.0, Systat Software, Inc.)

Los datos de germinación, que corresponden a datos discretos de observaciones repetidas de una misma cohorte de semillas, se evaluaron mediante un análisis de supervivencia con el método Kaplan-Meier utilizando el software SigmaPlot (v. 12.0, Systat Software, Inc.). Este análisis, también llamada de “tiempo hasta el evento” (time-to-event analysis), analiza las transiciones de un estado discreto a otro (McNair et al. 2012); en este caso, la transición entre semilla no germinada a semilla germinada. El método genera valores de probabilidad al final del período de observación, que para este estudio, consistieron en las probabilidades de que las semillas no germinen hasta 30 días después de la siembra (Ausencia de Germinación). Estos valores se representan gráficamente como curvas de probabilidad, las mismas que fueron estratificadas por tratamiento para probar su homogeneidad a través del tiempo en base a una prueba log-rank (χ^2) (McNair et al. 2012; Pérez et al. 2013). De esta forma, se probó si los distintos tratamientos tuvieron o no un efecto sobre la germinación. Cuando los valores resultaron diferentes, se aplicó una prueba de comparaciones múltiples por pares con el método Bonferroni (Day y Quinn 1989); este último procedimiento permite discernir el o los tratamientos que tuvieron un efecto positivo sobre la germinación.

CAPÍTULO II

RESULTADOS.

2.1 *Miconia aspergillaris*

2.1.1 Descripción morfológica de las semillas

Las semillas de *M. aspergillaris* tienen forma ovoide o globosa (Ellison 1993), se obtuvo un promedio de 47 semillas por fruto. La medida promedio del largo de las semillas fue de 1 mm. En cuanto al peso de las semillas, se obtuvieron 5.458.6 semillas por gramo.

2.1.2 Pruebas de viabilidad con tetrazolio.

Se observó tinción del embrión (epicotilo e hipocotilo) en un 45 % de las semillas tratadas y por lo tanto, este sería el valor de viabilidad basado en esta técnica (Figura 2.1).



Figura 2.1. Prueba de viabilidad con Tetrazolio. Semillas de *M. aspergillaris* semilla normal y semilla con tinción.

2.1.3 Imbibición

Para los tratamientos control y desinfección se observó un incremento moderado de peso en las semillas luego de 72 horas, mientras que en el tratamiento de infusión de manzanilla las semillas lograron un 78% de incremento en 24 horas, confirmando que las semillas de esta especie son permeables al agua luego de un tratamiento adecuado (Figura 2.2). Los resultados indican que existe una diferencia significativa de ($P = <0,001$) entre los tratamientos en base a un análisis de varianza (ANOVA).

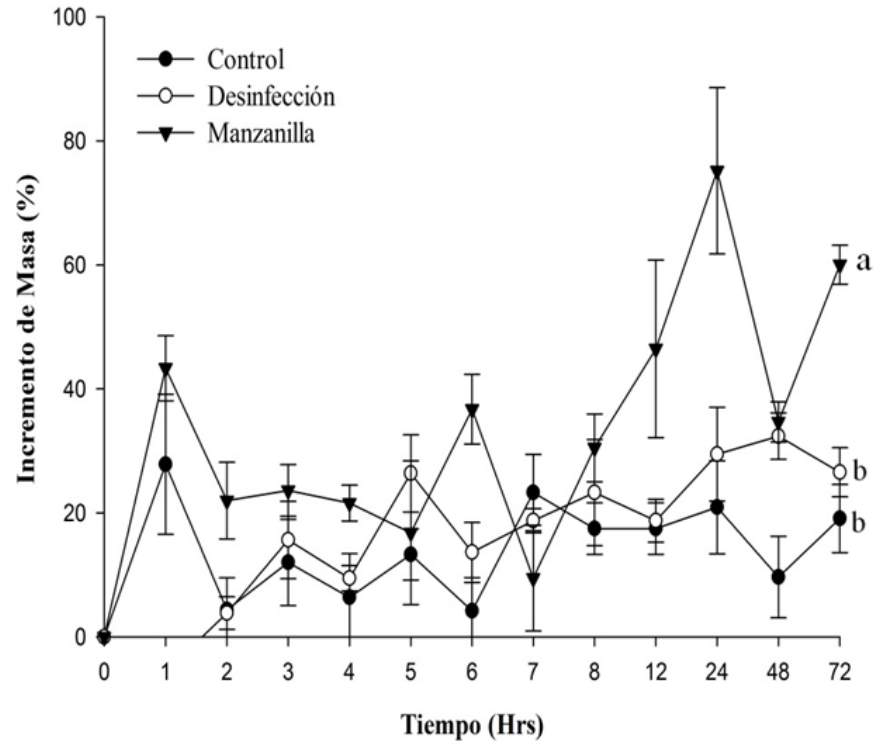


Figura 2.2. Prueba de imbibición en semilla de *M. aspergillaris*. Se muestran aumentos en la masa fresca (\pm SE). El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes.

2.1.4 Tratamientos pre-germinativos

Se empleó un total de 3000 semillas de *M. aspergillaris* divididas en lotes de 150 semillas para la aplicación de 7 tratamientos pre-germinativos con un total de 20 réplicas.

2.1.4.1 Temperatura

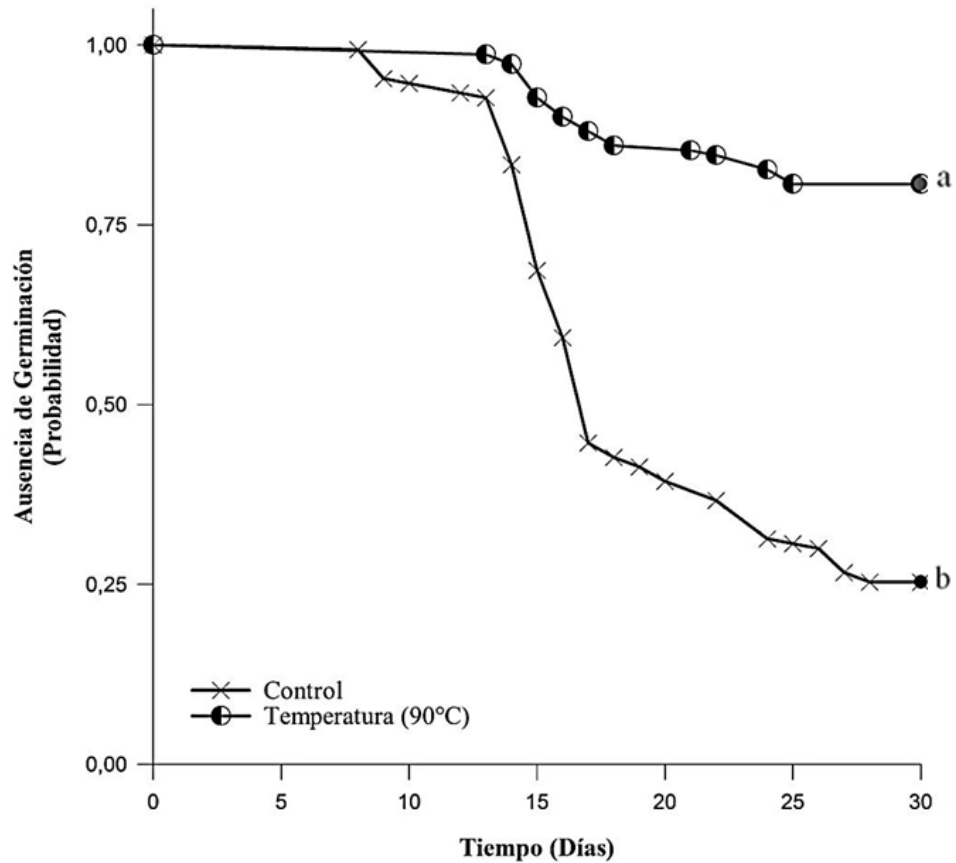
El tratamiento realizado con Temperatura Alta (90°C) registro germinantes desde el día 8 de monitoreo. El test log-rank determinó que el tratamiento de Control tuvo una tasa significativamente mayor de germinantes, 74,66%, comparada con el tratamiento de Temperatura Alta con un 19,33% ($\chi^2=96,578$ $p<0,001$) (Figura 2.3 y Tabla 2.1)

Tabla 2. 1. Respuestas de germinación en semillas de *M. aspergillaris* a la aplicación de Temperatura Alta (90°C)

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-------------------------|-------------|--------------------|-----------------------|
| Control | 8 | 17 (16,46 ; 17,54) | 74,66% |
| Temperatura Alta (90°C) | 13 | ^b | 19,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

Figura 2.3. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *M. aspergillaris* no germinen en un período de 30 días bajo temperatura de (90°) en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.



2.1.4.2 Desinfección

Para los tratamientos de desinfección se registraron germinantes desde el día 8 monitoreo hasta el cierre del experimento. Todos los tratamientos con la aplicación de desinfección a distintos periodos de inmersión en agua oxigenada presentaron una tasa de germinación superior al 70% (Figura 2.4 y Tabla 2.2). Teniendo así que la tasa más alta de germinación correspondió al tratamiento de desinfección a un periodo de 5 minutos con el 85,33% de germinantes. Mientras que la tasa más baja de germinación dentro de los tratamientos de desinfección corresponde a aquel aplicado a un periodo de inmersión de 30s que presentó un 70% de germinantes. Los patrones de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2=14,789$ $p=0,005$). Mediante un análisis Post hoc basado en una comparación múltiple por pares, se determinó que solamente existían diferencias entre el tratamiento de desinfección con un periodo de inmersión de 5 min y el tratamiento de Control (Tabla 2.3)

Tabla 2.2. Respuestas de germinación en semillas de *M. aspergillaris* bajo la aplicación de diferentes tratamientos pre-germinativos de desinfección en condiciones controladas de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|--------------------|-------------|--------------------|-----------------------|
| Control | 8 | 18 (13,58 ; 22,42) | 59,33% |
| Desinfección 30s | 9 | 17 (16 ; 17,99) | 70% |
| Desinfección 1min | 11 | 18 (17,53; 18,48) | 79,33% |
| Desinfección 3min | 12 | 18 (17,8 ; 18,2) | 82% |
| Desinfección 5 min | 9 | 20 (19,32 ; 20,69) | 85,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

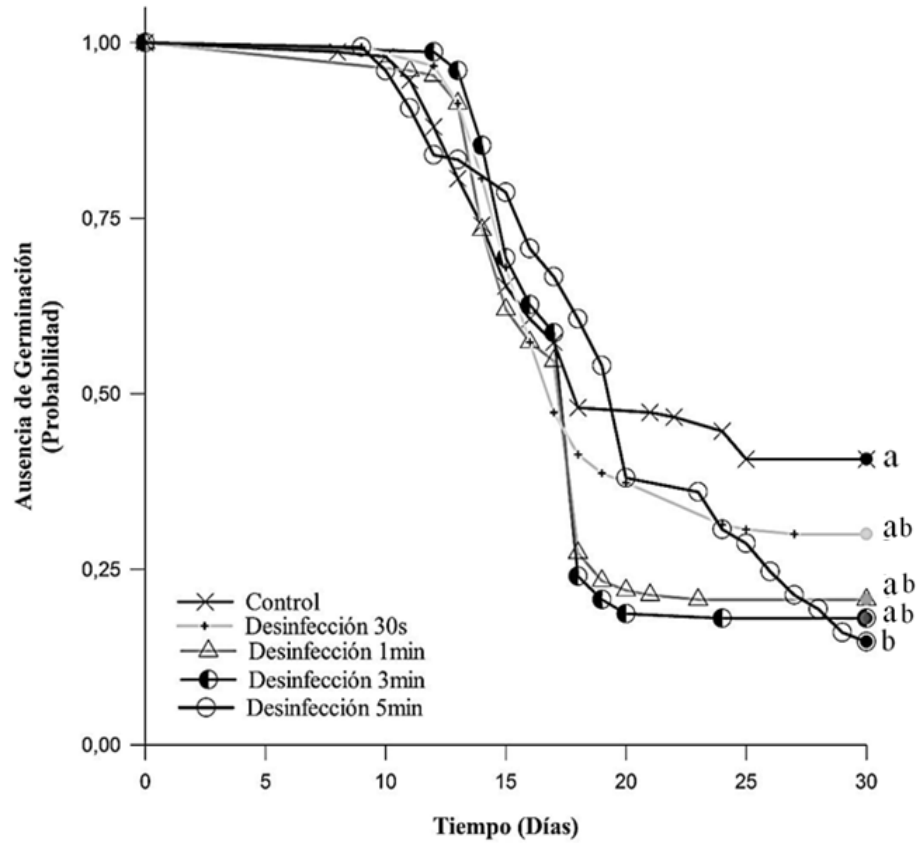


Figura 2.4. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *M. aspergillaris* no germinen en un periodo de 30 días bajo diferentes pruebas de desinfección en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.3. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *M. aspergillaris*. Diferencias significativas entre tratamientos de desinfección en condiciones de laboratorio.

| Comparaciones | X^2 | P |
|---|--------|--------|
| Control vs. Desinfección 30s | 1,75 | 0,561 |
| Control vs. Desinfección 1 min | 7,458 | 0,0554 |
| Control vs. Desinfección 3 min | 6,904 | 0,0668 |
| Control vs. Desinfección 5 min | 8,497 | 0,035 |
| Desinfección 30s vs. Desinfección 1 min | 2,118 | 0,611 |
| Desinfección 30s vs. Desinfección 3 min | 1,382 | 0,561 |
| Desinfección 30s vs. Desinfección 5 min | 0,921 | 0,561 |
| Desinfección 1 min vs. Desinfección 3 min | 0,0861 | 0,769 |
| Desinfección 1 min vs. Desinfección 5 min | 1,926 | 0,594 |
| Desinfección 3 min vs. Desinfección 5 min | 2,824 | 0,495 |

2.1.4.3 Infusión de manzanilla

El tratamiento realizado con una infusión de manzanilla registro germinantes desde el día 8 de monitoreo hasta el cierre del monitoreo (Figura 2.5 y Tabla 2.4). El test log-rank determinó que este tratamiento tuvo una tasa significativamente mayor de germinantes 89,33% comparada con el tratamiento de control ($\chi^2=96,578$ $p=<0,001$)

Tabla 2.4. Respuestas de germinación en semillas de *M. aspergillaris* bajo la aplicación de tratamiento pre-germinativos con infusión de manzanilla en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-------------|-------------|--------------------|-----------------------|
| Control | 10 | 17(15,62; 18,385) | 64,66% |
| Manzanilla | 8 | 16 (15,06 ; 16,95) | 89,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

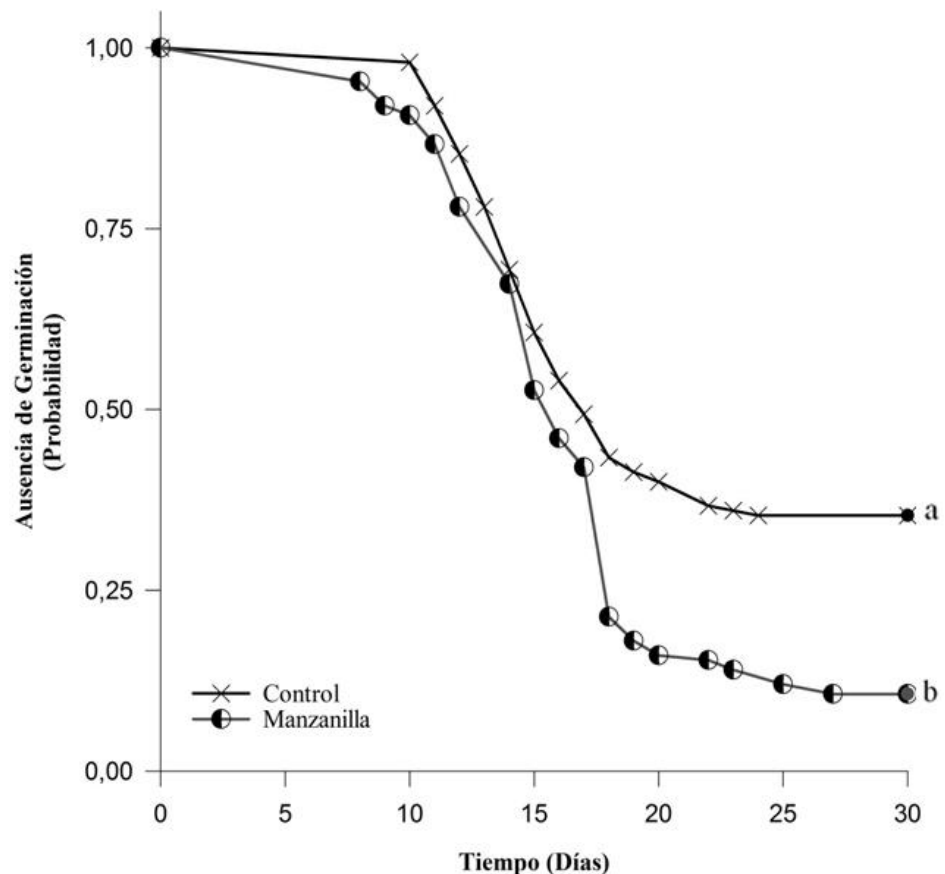


Figura 2.5. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *M. aspergillaris* no germinen en un periodo de 30 días bajo el tratamiento pre-germinativos de infusión de manzanilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

2.2 *Axinaea meriania*

2.2.1 Descripción morfológica de las semillas

Las semillas de *A. merianiae* tienen forma oblongo-piramidal (Ulloa 1995), la medida promedio de las semillas fue de 2 mm de largo. Se obtuvo, un promedio de 19.353 semillas por un gramo y un promedio de 1.450 semillas por fruto.

2.2.2 Pruebas de viabilidad con tetrazolio.

No se pudo identificar la tinción de las semillas por lo que no se calcularon porcentajes de viabilidad para esta especie basado en esta técnica (Figura 2.6).



Figura 2.6. Semillas de *A. merianiae* semilla normal y semilla sometida a la prueba.

2.2.3 Imbibición.

Para los tratamientos control e infusión de manzanilla se observó un incremento del 70% y 80% de peso en las semillas, respectivamente, luego de 72 horas, mientras que en el tratamiento de desinfección las semillas lograron un 90% de incremento en 72 horas, confirmando que las semillas de esta especie son permeables al agua luego de un tratamiento adecuado (Figura 2.2). Los resultados indican que existe una diferencia significativa de ($P = <0,001$) entre los tratamientos en base a un análisis de varianza (ANOVA).

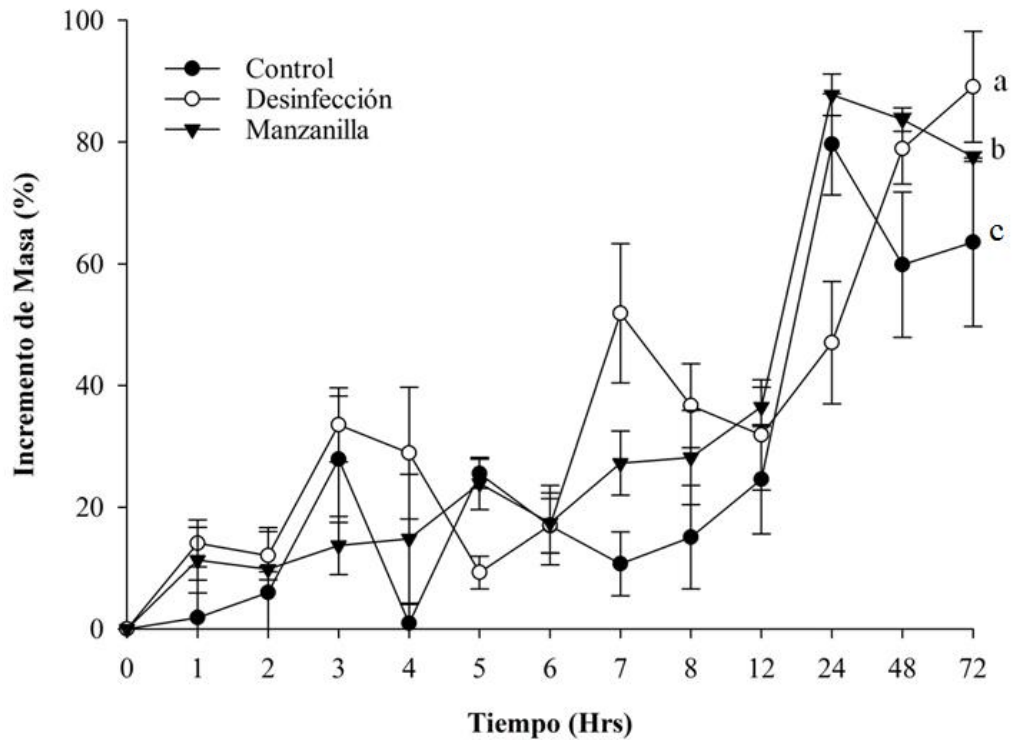


Figura 2.7. Prueba de imbibición en semilla de *A. merianiae*. Se muestran aumentos en la masa fresca (\pm SE). El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes.

2.2.4 Tratamientos pre-germinativos.

Se empleó un total de 11.400 semillas de *A. merianiae* divididas en lotes de 150 para la aplicación de 14 tratamientos pre-germinativos con un total de 76 réplicas.

2.2.4.1. Temperatura

Los tratamientos a distintas temperaturas presentaron tasas de germinación que no superaron el 15% hasta el cierre del experimento (Figura 2.8 y Tabla 2.5). El tratamiento realizado con la Temperatura Alta (90°C) no registro ningún germinante durante el periodo de observación, por su parte, la tasa más alta de germinación se registró para el tratamiento de Temperatura Baja (3°C) con un 14%. Los patrones de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2= 26,399$ $p<0,001$). Sin embargo, un análisis Post hoc basado en una prueba de comparaciones múltiples determino que no existen diferencias significativas de germinantes comparando los tratamientos (Tabla 2.6).

Tabla 2.5. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, bajo distintos tratamientos pre-germinativos de Temperatura en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T ₅₀ (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-----------------------------|-------------|---------------------------|-----------------------|
| Control | 11 | - ^b | 6,66% |
| Temperatura Alta (90°C) | 0 | - ^b | 0% |
| Temperatura Media (24-35°C) | 14 | - ^b | 4% |
| Temperatura Baja (3°C) | 15 | - ^b | 14% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

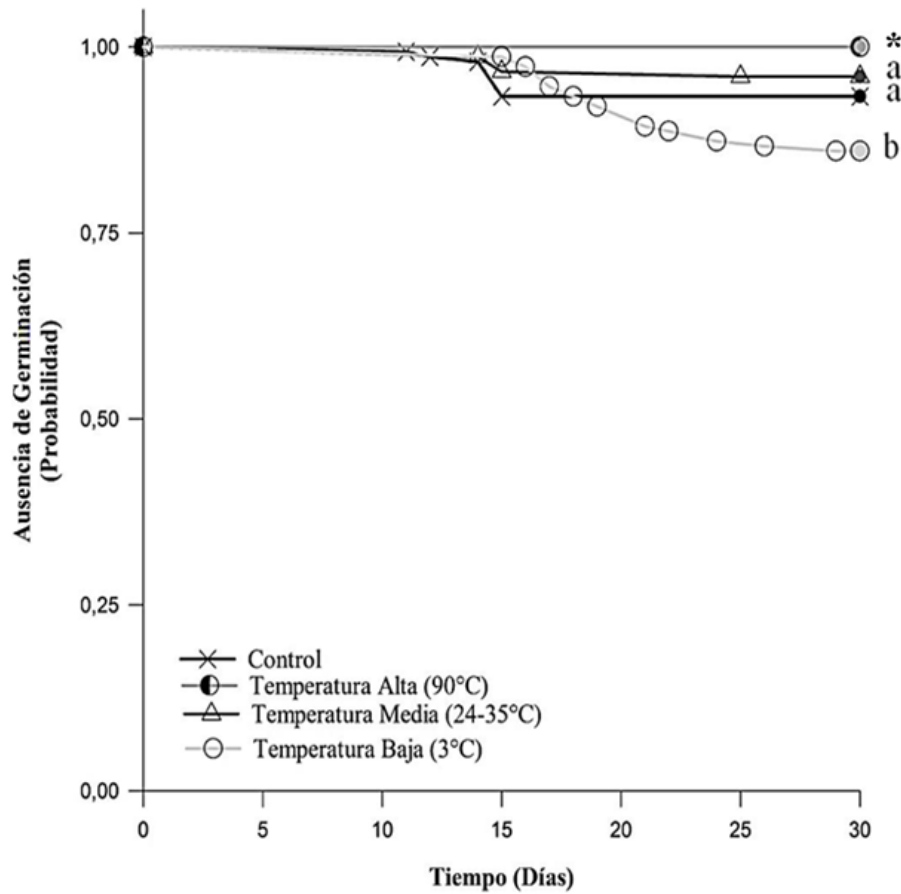


Figura 2.8.) Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* no germinen en un período de 30 días bajo diferentes pruebas de temperatura en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.6. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. merianae*. Diferencias significativas entre tratamientos de Temperatura en condiciones de laboratorio.

| Comparaciones | χ^2 | P |
|--|----------|--------|
| Control vs. Temperatura Media | 1,059 | 0,303 |
| Control vs. Temperatura Baja | 3,891 | 0,0947 |
| Temperatura Media vs. Temperatura Baja | 8,806 | 0,012 |

2.2.4.2 Desinfección

Los tratamientos de desinfección presentaron tasas de germinación que no superaron el 5% en 30 días. Teniendo así que la tasa más alta de germinación correspondió al tratamiento de control con un 24,66% (Figura 2.9 y Tabla 2.7). Dentro de los tratamientos de desinfección, el tratamiento con un periodo de inmersión de 1min presentó el porcentaje relativo de germinación más alto 4,66%. La prueba log-rank determinó una diferencia significativa entre patrones de germinación asociados diferentes entre tratamientos ($\chi^2=67,888$ $p<0,001$). La prueba de comparaciones múltiples por pares determinó que en el tratamiento de control se registraron un número significativamente de germinantes (Tabla 2.8).

Tabla 2.7. Respuestas de germinación en semillas de *A. merianiaae*, bajo distintos tratamientos pre-germinativos de desinfección en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-------------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Control | 11 | ^a | 24,66% |
| Desinfección 30s | 11 | ^a | 3,33% |
| Desinfección 1min | 12 | ^a | 4,66% |
| Desinfección 3min | 13 | ^a | 2% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^a: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

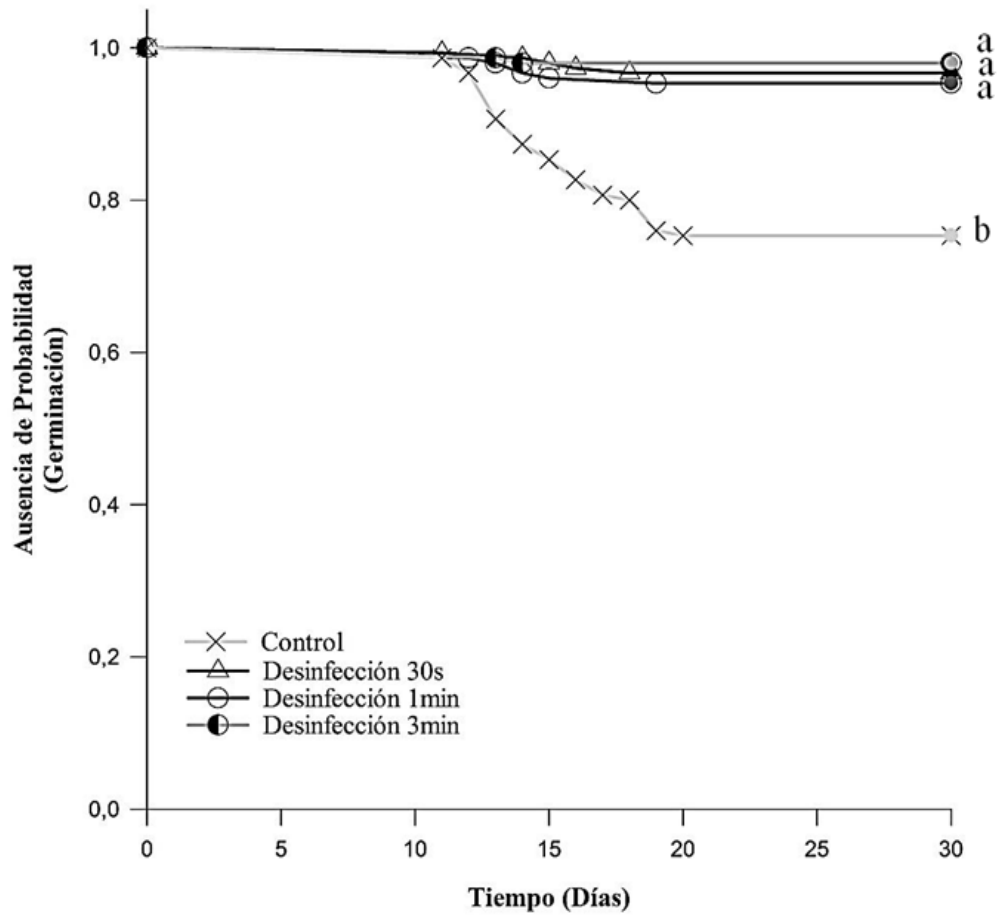


Figura 2.9. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. merianiae* no germinen en un periodo de 30 días bajo diferentes pruebas de desinfección en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.8. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. merianiae*. Diferencias significativas entre tratamientos de desinfección en condiciones de laboratorio.

| Comparaciones | χ^2 | <i>P</i> |
|---|----------|--------------|
| Control vs. Desinfección 30s | 28,25 | 0,000000533 |
| Control vs. Desinfección 1 min | 23,636 | 0,00000466 |
| Control vs. Desinfección 3 min | 33,098 | 0,0000000526 |
| Desinfección 30s vs. Desinfección 1 min | 0,354 | 0,552 |
| Desinfección 30s vs. Desinfección 3 min | 0,501 | 0,729 |
| Desinfección 1 min vs. Desinfección 3 min | 1,646 | 0,487 |

2.2.4.3 Época de colección

En los tratamientos de época de colección las tasas de germinación no superaron el 27% en 30 días. La tasa más alta de germinación correspondió a la colección de febrero de 2017 con un 27% de germinantes y la más baja a Agosto de 2016 con un 4% (Figura 2.10 y Tabla 2.9). La prueba log-rank determinó que los patrones de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2=43,028$ $p<0,001$). La prueba de comparaciones múltiples por pares determinó que la época colección de Julio y Agosto tuvo un número significativamente menor de germinantes (Tabla 2.10).

Tabla 2.9. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania* en condiciones de laboratorio con respecto a diferentes épocas de colección de frutos.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-----------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Julio 2016 | 11 | ^a | 7% |
| Agosto 2016 | 14 | ^a | 4% |
| Septiembre 2016 | 11 | ^a | 13% |
| Enero 2017 | 10 | ^a | 19% |
| Febrero 2017 | 10 | ^a | 27% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^a: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

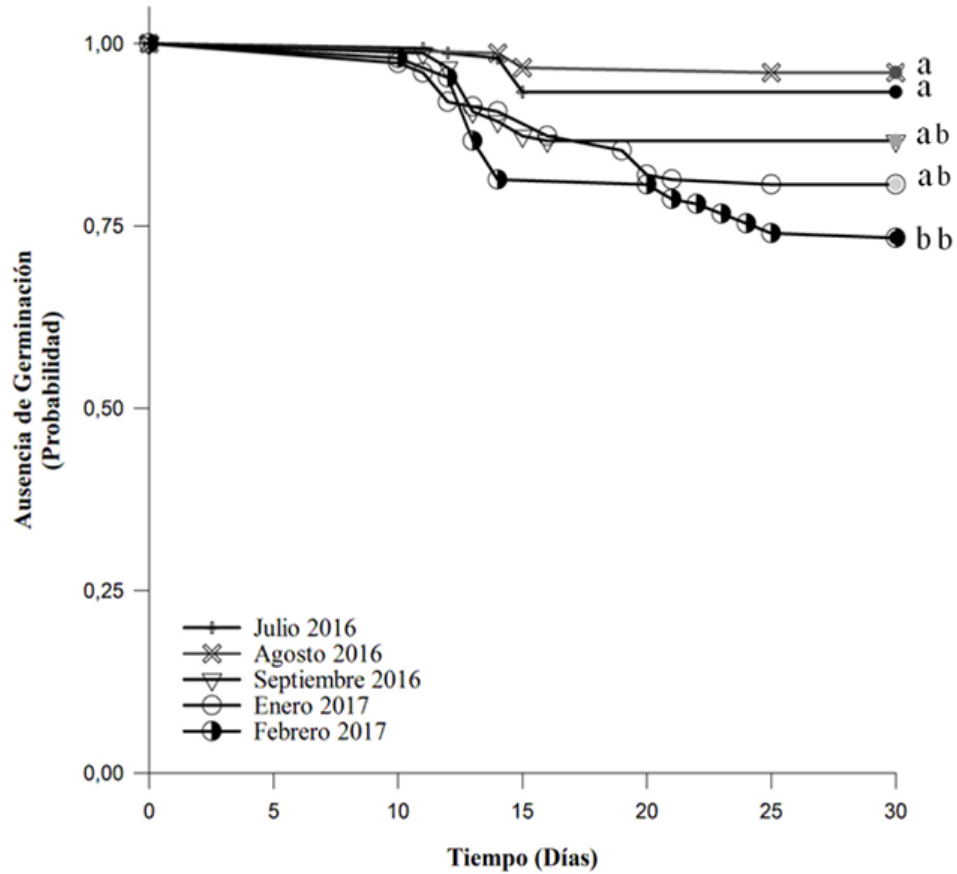


Figura 2.10. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* no germinen en un período de 30 días en condiciones de laboratorio de acuerdo a las diferentes épocas de colección de frutos. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.10. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. meriania*. Diferencias significativas de acuerdo a la época de cosecha de frutos en condiciones de laboratorio.

| Comparaciones | χ^2 | <i>P</i> |
|------------------------|----------|-------------|
| Agosto vs. Febrero | 30,189 | 0,000000392 |
| Julio vs. Febrero | 21,786 | 0,0000274 |
| Agosto vs. Enero | 17,128 | 0,000279 |
| Julio vs. Enero | 10,485 | 0,00839 |
| Agosto vs. Septiembre | 8,541 | 0,0207 |
| Septiembre vs. Febrero | 7,805 | 0,0258 |
| Julio vs. Septiembre | 3,925 | 0,177 |
| Enero vs. Febrero | 2,038 | 0,393 |
| Septiembre vs. Enero | 1,824 | 0,322 |
| Julio vs. Agosto | 1,059 | 0,303 |

2.2.4.4 Estadio del fruto

En cuanto al análisis de los patrones temporales de germinación basado en el tipo de cápsulas o estadio del fruto las semillas germinaron entre los día 8 y el día 25 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 9 (Figura 2.11 y Tabla 2.11); no obstante los conteos de germinación no sobrepasaron el 20% de germinantes. El tratamiento con la tasa de germinación más alta corresponde a las semillas de cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c) con 19,33%. Mientras que las tasas más bajas corresponden a los tratamientos de control y a las semillas de cápsulas dehiscentes de coloración gris a blanca (CDB) (Figura 1.5a) con 1,33% y 0,66% de germinantes, respectivamente. Los patrones temporales de germinación de las semillas fueron significativamente diferentes entre los tratamientos ($\chi^2= 44,695$; $p<0,001$). Los tratamientos con cápsulas cerradas de coloración café oscura (CCC) y con cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) tuvieron un número significativamente mayor de germinantes que los tratamientos Control y cápsulas dehiscentes de coloración gris a blanca CDB ($p<0,001$) (Tabla 2.12)

Tabla 2.11. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, de acuerdo al estadio del fruto en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T ₅₀ (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-------------|-------------|---------------------------|-----------------------|
| Control | 20 | _b | 1,33% |
| CDB | 15 | _b | 0,66% |
| CCC | 8 | _b | 14,66% |
| CDC | 10 | _b | 19,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. _b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

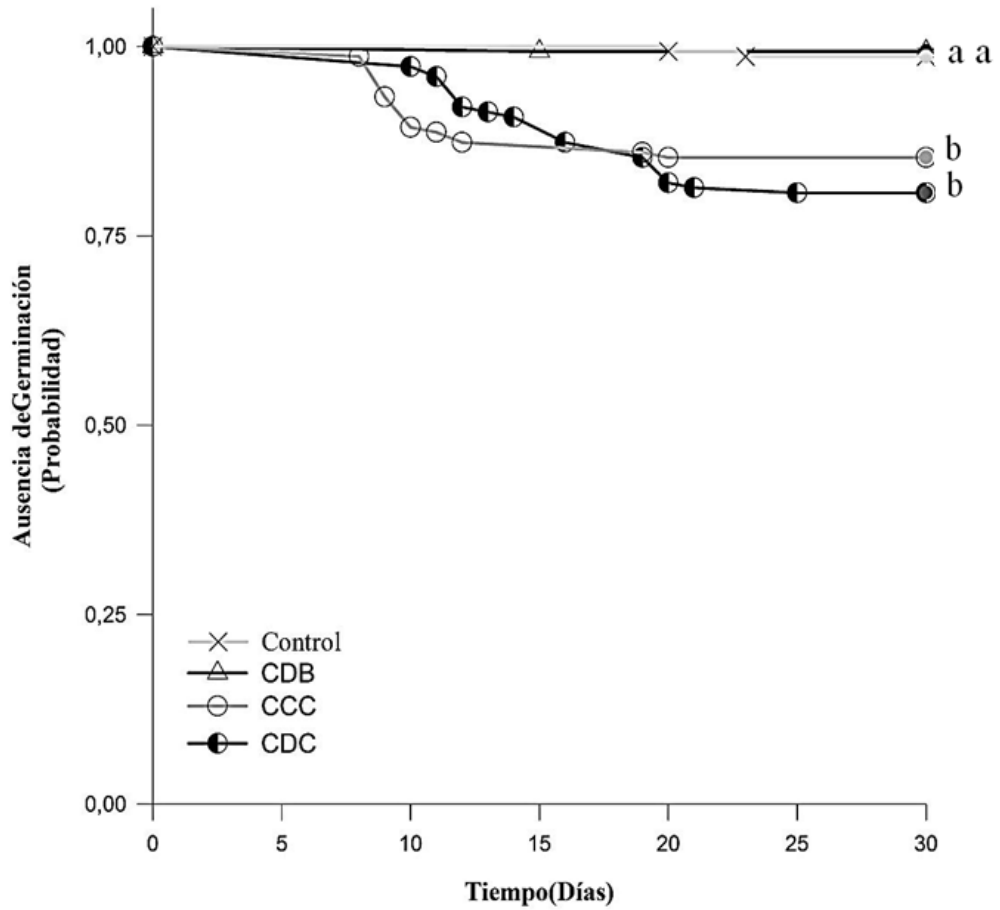


Figura 2.11. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. merianiae* no germinen en un período de 30 días de acuerdo a diferentes estadios del fruto en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.12. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. merianiae*. Entre distintos estadios de las cápsulas (frutos).

| Comparaciones | χ^2 | P |
|-----------------|----------|-------------|
| Control vs. CDB | 0,331 | 0,565 |
| Control vs. CCC | 18,302 | 0,0000565 |
| Control vs. CDC | 26,492 | 0,00000132 |
| CCC vs. CDB | 20,799 | 0,0000204 |
| CCC vs. CDC | 0,74 | 0,628 |
| CDC vs. CDB | 28,957 | 0,000000444 |

2.2.4.5 Prueba de Absorción

2.2.4.5.1 Absorción cápsulas cerradas (24 horas)

Luego de 24 horas del tratamiento de absorción aplicado en semillas de cápsulas cerradas de coloración café oscuro (CCC) (Figura 1.5b), las semillas germinaron entre el día 8 y el día 27 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 13 (Figura 2.12 y Tabla 2.13). La tasa más alta de germinación se registró para el tratamiento con Semillas Sumergidas, con un 28% de germinantes que constituyen más del doble de germinantes que el tratamiento con Semillas Flotantes; este último tratamiento corresponde a la tasa más baja de germinación con un 10,66%. Los patrones temporales de germinación de las semillas fueron significativamente diferentes entre los tratamientos ($\chi^2=14,941$; $p<0,001$). Las semillas que se hundieron y las semillas de Control tuvieron un número significativamente mayor de germinantes comparado con las semillas que flotaron ($p<0,001$) (Tabla 2.14).

Tabla 2.13. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, a un tratamiento de absorción de agua por 24 horas en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|---------------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Control | 8 | ^b | 22% |
| Semillas Flotantes | 10 | ^b | 10,66% |
| Semillas Sumergidas | 8 | ^b | 28% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

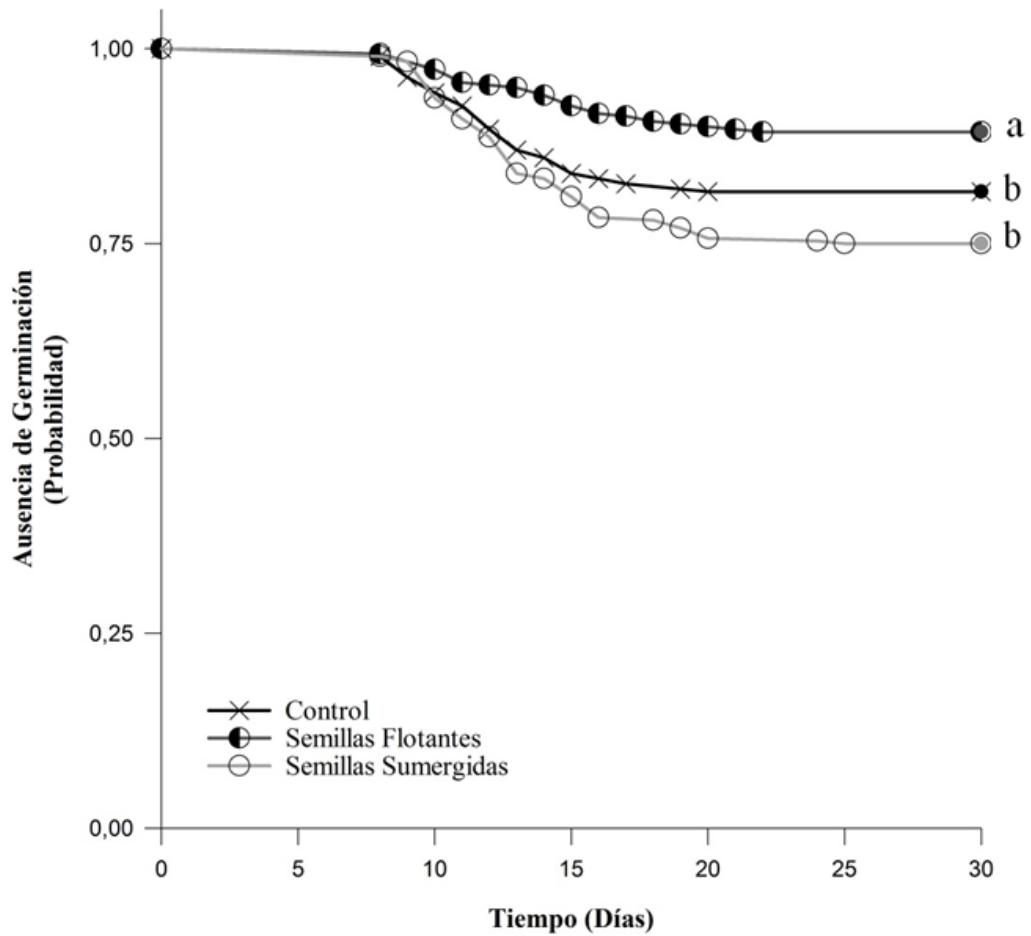


Figura 2.12. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* (capsulas cerradas) no germinen en un período de 30 bajo diferentes pruebas de absorción por 24 horas en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.14. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. meriania* (Capsulas cerradas) entre semillas sumergidas y semillas flotantes luego de 24 horas en un tratamiento de absorción en condiciones de laboratorio

| Comparaciones | X^2 | P |
|--|--------|---------|
| Control vs. Semillas Flotantes | 7,281 | 0,0139 |
| Control vs. Semillas Sumergidas | 1,719 | 0,19 |
| Semillas Flotantes vs. Semillas Sumergidas | 14,938 | 0,00333 |

2.2.4.5.2 Absorción cápsulas dehiscentes (24 horas)

Luego de 24 horas del tratamiento de absorción aplicado en semillas de cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c), las semillas germinaron entre el día 10 y el día 25 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 12 (Figura 2.13 y Tabla 2.15). La tasa más alta de germinación se registró para el tratamiento con Semillas Sumergidas, con un 46,66% de germinantes que constituyen más del doble de germinantes que los tratamientos de control y de Semillas Flotantes; Los patrones temporales de germinación de las semillas fueron significativamente diferentes entre los tratamientos ($\chi^2=19,976$ $p=<0,001$). Las semillas que se hundieron tuvieron un número significativamente mayor de germinantes comparado con las del control y semillas que flotaron ($p=<0,001$) (Tabla 2.16).

Tabla 2.15. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, a un tratamiento de absorción de agua por 24 horas en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|---------------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Control | 10 | ^b | 26,66% |
| Semillas Flotantes | 8 | ^b | 30,66% |
| Semillas Sumergidas | 7 | ^b | 46,66% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T_{50} : Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

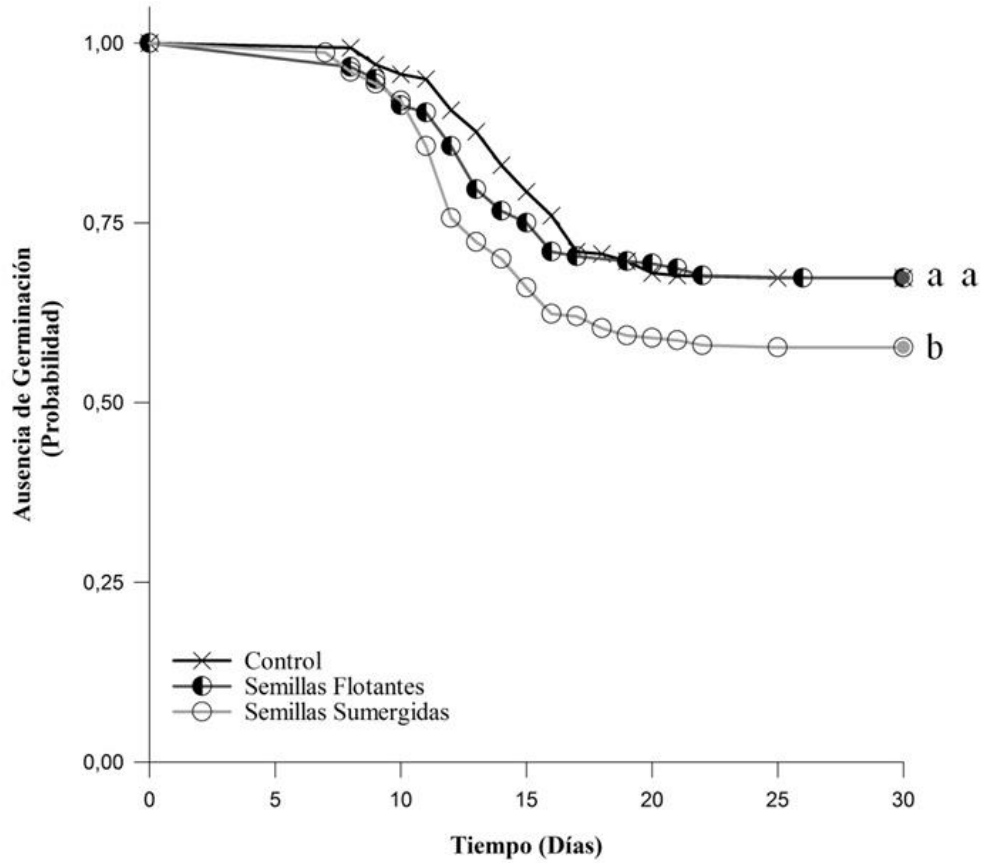


Figura 2.13. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. merianiae* (capsulas dehiscentes) no germinen en un período de 30 días bajo diferentes pruebas de absorción por 24 horas en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.16. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. merianiae* (Capsulas dehiscentes) entre semillas sumergidas y semillas flotantes luego de 24 horas en un tratamiento de absorción en condiciones de laboratorio

| Comparaciones | x^2 | <i>P</i> |
|--|--------|----------|
| Control vs. Semillas Flotantes | 1,015 | 0,314 |
| Control vs. Semillas Sumergidas | 17,125 | 0,000105 |
| Semillas Flotantes vs. Semillas Sumergidas | 9,326 | 0,00451 |

2.2.4.5.3 Absorción cápsulas cerradas (48 horas).

Luego de aplicar por 48 horas el tratamiento de absorción en semillas de cápsulas cerradas de coloración café oscuro (CCC) (Figura 1.5b), las semillas germinaron entre el día 8 y el día 24 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 15 (Figura 2.14 & Tabla 2.17). La tasa más alta de germinación se encontró para el tratamiento con semillas en Semillas Sumergidas con 37,33% de germinación; que corresponde a aproximadamente doble y triple de los germinantes encontrados en los tratamientos de Control y Semillas Flotantes, respectivamente. Mientras que el menor porcentaje de germinación se registró en el tratamiento en semillas de Semillas Flotantes con un 11% de germinantes. Los patrones temporales de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2=30,424$ $p<0,001$). Las semillas que se hundieron tuvieron un número significativamente mayor de germinantes comparado con las del control y semillas que flotaron ($p<0,001$) (Tabla 2.18).

Tabla 2.17. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, a un tratamiento de absorción de agua por 48 horas en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|---------------------|-------------|----------------|-----------------------|
| Control | 8 | - ^b | 22% |
| Semillas Flotantes | 9 | - ^b | 11% |
| Semillas Sumergidas | 10 | - ^b | 37% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

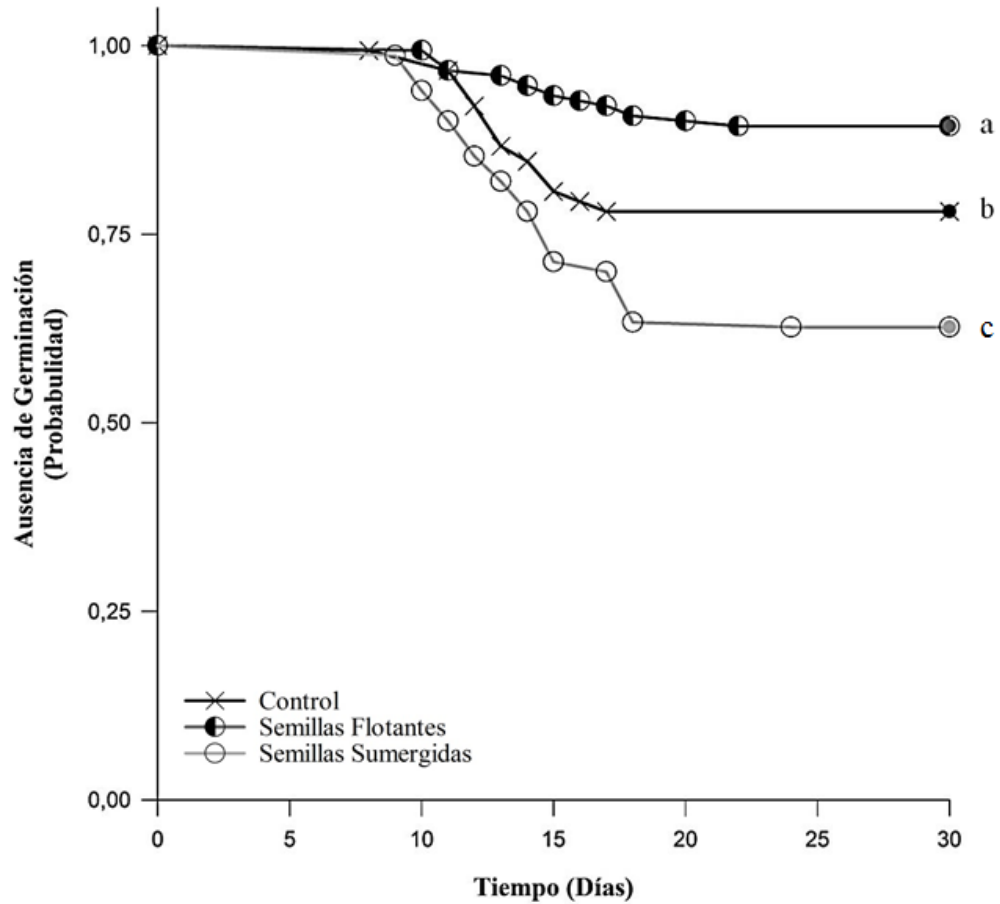


Figura 2.14. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* (capsulas cerradas) no germinen en un período de 30 días bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.18. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples para la germinación de semillas de *A. meriania* (Capsulas cerradas) entre semillas sumergidas y semillas flotantes luego de 48 horas en un tratamiento de absorción en condiciones de laboratorio.

| Comparaciones | X^2 | P |
|--|--------|-------------|
| Control vs. Semillas Flotantes | 7,281 | 0,00697 |
| Control vs. Semillas Sumergidas | 8,015 | 0,00926 |
| Semillas Flotantes vs. Semillas Sumergidas | 29,731 | 0,000000149 |

2.2.4.5.4 Absorción cápsulas dehiscentes (48 horas).

Luego de aplicar por 48 horas el tratamiento de absorción en semillas de cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c), las semillas germinaron entre el día 10 y el día 23 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 12 (Figura 2.15 y Tabla 2.19). El mayor porcentaje de germinación se presentó en el tratamiento de Semillas Sumergidas con el 47,33% de germinantes, que corresponden al triple del total de germinantes obtenidos con el tratamiento de Semillas Flotantes; este último presentó la tasa más baja de germinación con un 16%. Los patrones temporales de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2=45,939$ $p<0,001$). Las semillas que se hundieron tuvieron un número significativamente mayor de germinantes comparado con las del control y semillas que flotaron ($p<0,001$) (Tabla 2.20).

Tabla 2.19. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, a un tratamiento de absorción de agua por 48 horas en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|---------------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Control | 10 | ^b | 26,66% |
| Semillas Flotantes | 9 | ^b | 16% |
| Semillas Sumergidas | 8 | ^b | 47,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

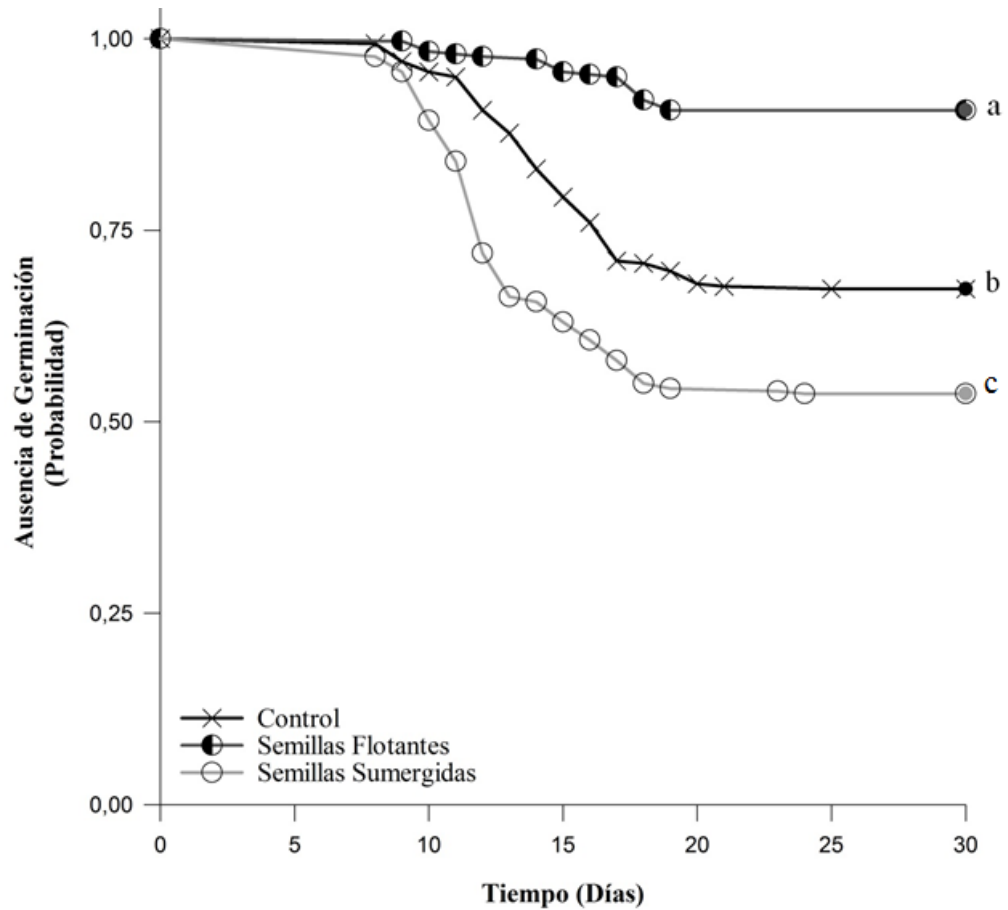


Figura 2.15. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* (capsulas dehiscentes) no germinen en un período de 30 bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

Tabla 2.20. Análisis Post hoc basado en comparaciones múltiples de la germinación de semillas de *A. meriania* (Capsulas dehiscentes) entre semillas sumergidas y semillas flotantes luego de 48 horas en un tratamiento de absorción en condiciones de laboratorio

| Comparaciones | χ^2 | P |
|--|----------|--------------|
| Control vs. Semillas Flotantes | 5,131 | 0,0235 |
| Control vs. Semillas Sumergidas | 18,595 | 0,0000323 |
| Semillas Flotantes vs. Semillas Sumergidas | 38,374 | 0,0000000175 |

2.2.4.6 Absorción luego de 48 horas e infusión de manzanilla para cápsulas dehiscentes

Luego de aplicar la prueba de absorción por 48 horas en semillas de cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c) y el tratamiento de infusión de manzanilla en Semillas Sumergidas, las semillas germinaron entre el día 8 y el día 24 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 15 (Figura 2.16 y Tabla 2.21). El tratamiento presentó una tasa de 47,33% de germinantes en comparación con el Control que alcanzó un 28%. Los patrones temporales de germinación fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($\chi^2=8,539$ $p=0,003$).

Tabla 2.21. Respuestas de germinación en semillas de *A. merianiae*, a una pruebas de absorción por 48 horas e infusión de manzanilla en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|-------------|-------------|---------------|-----------------------|
| Control | 8 | ^b | 28% |
| Manzanilla | 11 | ^b | 47,33% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T_{50} : Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

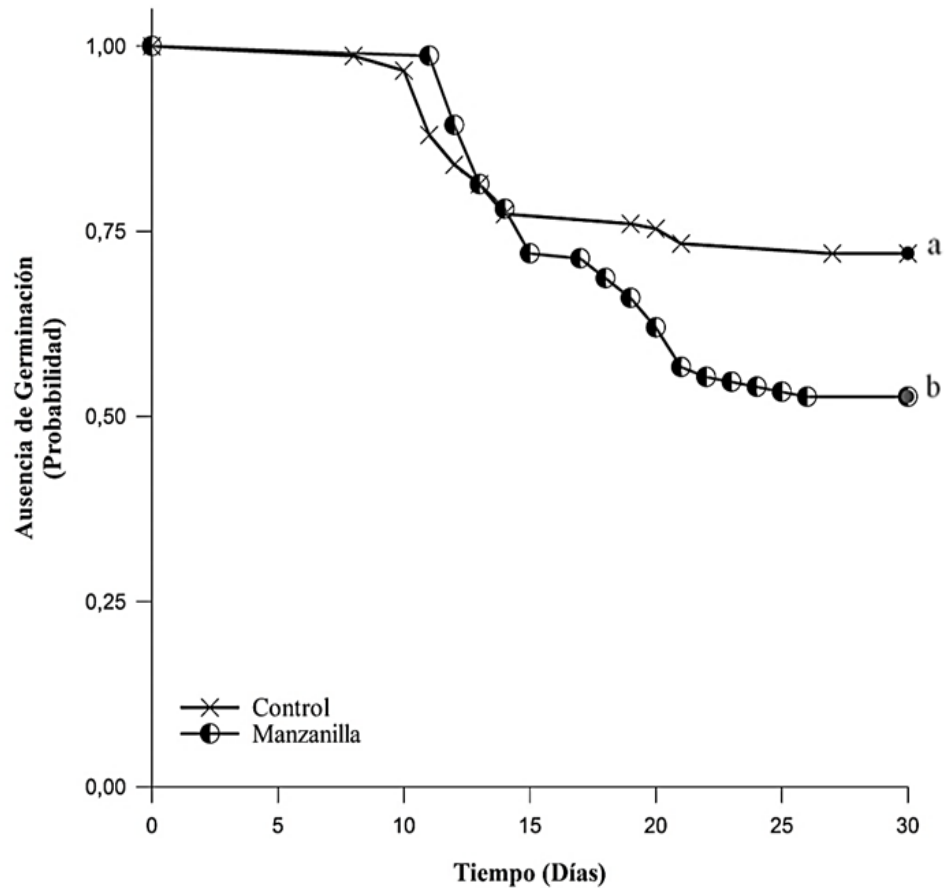


Figura 2.16. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. merianiae* (capsulas dehiscentes) no germinen en un período de 30 días bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas e infusión de manzanilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

2.2.4.7 Absorción luego de 48 horas y desinfección en capsulas dehiscentes

Luego de aplicar la prueba de absorción por 48 horas en semillas de cápsulas dehiscentes de coloración café oscuro (CDC) (Figura 1.5c) y el tratamiento de desinfección en Semillas sumergidas, las semillas germinaron entre el día 8 y el día 28 después de la siembra, con un pico de germinación en el día 16 (Figura 2.17 y Tabla 2.22). El tratamiento presentó una tasa de 64% de germinantes en comparación con el Control que alcanzó un 46%. Los patrones temporales de germinación fueron significativamente diferentes entre los dos tratamientos ($\chi^2=9,397$ $p=0,002$).

Tabla 2.22. Respuestas de germinación en semillas de *A. meriania*, a una pruebas de absorción (48 horas) y desinfección en condiciones de laboratorio.

| Tratamiento | Retardo (d) | T50 (dd) 95 % | Germinación final (%) |
|--------------|-------------|-----------------|-----------------------|
| Control | 8 | _ ^b | 46% |
| Desinfección | 8 | 17 (15,7 -18,3) | 64% |

Retardo: Número de días desde la imbibición en los que no se registró germinación. T₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinación. ^b: las estimaciones Kaplan-Meier fueron inferiores al 50%

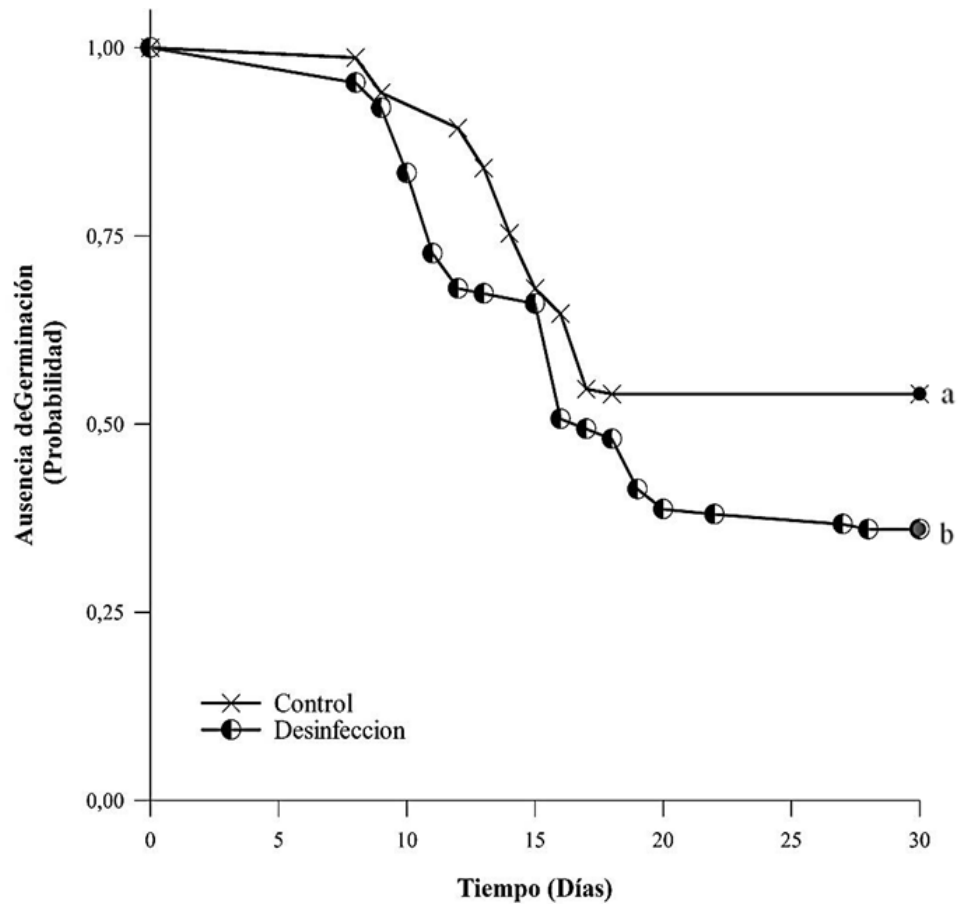


Figura 2.17. Estimaciones Kaplan Meier para la probabilidad de que las semillas de *A. meriania* (capsulas dehiscentes) no germinen en un período de 30 días bajo diferentes pruebas de absorción por 48 horas y desinfección en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a cero se asocian con mayores tasas de germinación. Curvas con letras distintas son significativamente diferentes. Se excluyeron intervalos de confianza de 95% para facilitar la visualización de la figura.

CAPITULO III

DISCUSIONES

El presente estudio, basado en un períodos de observación de 30 días en condiciones de laboratorio, determinó que tanto *Miconia aspergilliaris* como *Axinae merianae* respondieron positivamente ante las pruebas de imbibición y germinación. Las tasas más altas de germinación obtenidas para *M. aspergilliaris* y *A. merianiae* fueron del 89,33% y 64% respectivamente. La mayoría de semillas de la familia Melastomataceae en condiciones controladas de laboratorio germinan fácilmente entre la primera y segunda semana (Ellison et al. 1993). Sin embargo, en base a los resultados obtenidos se puede argumentar que los patrones temporales de imbibición y germinación de *M. aspergilliaris* están influenciados por los tratamientos pre-germinativos. Mientras que para *A. merianiae* fue por la época de colección del fruto como por su estadio, observándose un efecto sobre los patrones temporales de imbibición y germinación.

Las especies de la familia Melastomataceae se caracterizan por sus numerosas semillas diminutas y livianas, generalmente de forma globosa o piramidal (Amírez 2006; Ellison 1993; Becquer 2014). Las semillas de forma globosa de *M. aspergilliaris* son dispersadas por aves y roedores que suelen alimentarse de los frutos carnosos, jugosos y dulces de esta especie. Por su parte la forma piramidal de las semillas de *A. merianiae* permiten que se dispersen por el viento (Ellison 1993; Meyer 2016).

Los resultados obtenidos en las pruebas de viabilidad con Tetrazolio, fueron confiables en las semillas *M. aspergilliaris*, mientras que en *A. merianiae* no fue posible determinar la tinción debido al color y resistencia del tejido embrionario. Para *A. merianiae* se considera que el método más eficiente para determinar la viabilidad en las semillas es la prueba de absorción por un periodo de 48 horas donde se separó claramente las semillas flotantes (no viables) de las semillas sumergidas (viables)

3.1 *Miconia aspergillaris*

3.1.1 Patrones de imbibición en *M. aspergillaris*

En el transcurso de la prueba de imbibición se registraron incrementos y reducciones en los pesos de las semillas en cada hora de la medición, que pudo deberse a la dificultad en la manipulación de las semillas por su tamaño reducido (1mm); por lo que, las semillas pudieron sufrir daños que posiblemente influyeron de manera significativa al momento del pesaje.

La imbibición en semillas de *M. aspergillaris* aplicando el tratamiento de infusión de manzanilla mostró un incremento del 78% en el peso transcuridas las 72 horas. Esta respuesta está relacionada con las propiedades antimicrobianas que posee el aceite esencial de manzanilla que ha mostrado efectos antifúngicos sobre *Dermatófitos*, *saprófitos* y hongos oportunistas, con un efecto positivo en la desinfección de las semillas lo que facilitaría el ingreso de agua al embrión (Frobish 2010). Otro estudio informó que la manzanilla (*Chamonina* sp.) inhibió el crecimiento de saprofitos oportunistas como *Aspergillus Flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Trichoderma harzianum* y *Fusarium oxysporum* que por lo general se encuentran en el exocarpo y endocarpo de varias semillas (Jamalian et al. 2012).

3.1.2 Tratamientos pre-germinativos

3.1.2.1 Temperatura

Después de aplicar el tratamiento de Temperatura Alta (90°C) y considerando las precauciones en el tiempo mínimo de exposición (3 segundos) de *M. aspergillaris*, los efectos del tratamiento fueron negativos debido al tamaño de las semillas. Por lo que se obtuvo como resultado porcentajes bajos de germinación (19%); con relación al control dónde la temperatura estuvo en un rango de 12-21°C y denotó un porcentaje del 75% de germinación que indica que existió daños en el embrión e impidió su germinación.

Este resultado se puede explicar en base a la influencia de la temperatura sobre la tasa de germinación. Las tasas de germinación aumentan a medida que la temperatura incrementa hasta llegar a una temperatura óptima, luego de la cual, un aumento posterior de temperatura disminuye la germinación este umbral es específico para cada

especie (García et al. 1982; Escobar 2015). Esta hipótesis concuerda con lo reportado por Silveira (2004) en la germinación de *Marcetia taxifolia* (Melastomataceae) donde la germinación del 67% fue a una temperatura de 20°C y disminuyó a partir de los 35°C.

3.1.2.2 Desinfección

Al aplicar el tratamiento de desinfección por 5 minutos en las semillas de *M. aspergillaris* se obtuvo el 85,33% de germinación a diferencia del control, que fue del 59,33%. En este caso el efecto positivo del Agua Oxigenada (H₂O₂) sobre la germinación puede deberse a la desinfección de las semillas, con lo que se inactivarían virus, esporas y hongos; además actúa como un disolvente corrosivo en la testa de la semilla que recubre el embrión, permitiendo una absorción más rápida de agua y además existe mayor disponibilidad de oxígeno que elimina la dormancia de las semillas y activa el desarrollo del embriones (Barba 2010; Schmidt 2008). Este efecto ha sido reportado previamente en semillas de otras especies de la misma familia taxonómica como *Melastoma dodecandrum* (76% de germinación), *Melastoma malabathricum* L. (93% de germinación) (Tang et al. 2012; Faravani et al. 2007)

3.1.2.3 Infusión de manzanilla.

Al aplicar el tratamiento de infusión de manzanilla en semillas de *M. aspergillaris* se obtuvo la tasa más alta de germinación para esta especie con el 89,33%; mientras que el control alcanzó el 64,66% de germinantes. Estudios sobre la germinación de semillas revelan que la infusión de manzanilla ha sido utilizada para inhibir el crecimiento de hongos oportunistas como *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. Niger*, *Trichoderma harzianum* y *Fusarium oxysporum* (Frobish 2010). Los principales compuestos biológicamente activos de este aceite esencial que inhibe el crecimiento de hongos son: óxido bisabolol, óxido de bisabolona, y alfa bisabolol. De los cuales se ha comprobado que el compuesto de bisabolol ejerce una acción anti-ulcerosa y antiséptica, además el aceite esencial de manzanilla cuenta con efectos emolientes. Estos componentes actúan con los principios de un desinfectante impidiendo la contaminación de semillas por hongos, permitiendo el ingreso de agua hacia el embrión que posteriormente inducirá la germinación de la semilla. (Recutita 2003; Fajardo et al. 2016).

3.2 *Axinaea meriania*

3.2.1 Patrones de imbibición en *A. meriania*.

En esta especie también se registró un incremento y disminución en el peso de las semillas luego de cada hora de medición en las pruebas de imbibición, esto puede estar relacionado con la dificultad en la manipulación de las semillas debido su tamaño (2mm de largo). Por lo que, las semillas pudieron sufrir daños, lo que posiblemente influyó de manera significativa al momento de pesarlas.

El tratamiento de desinfección hasta la hora 72 en semillas de *A. meriania* promovió un incremento en el peso de las semillas del 90%. Esta respuesta de las semillas puede estar relacionada con el efecto corrosivo del agua oxigenada sobre la testa que recubre el embrión facilitando el ingreso de agua hacia la semilla, independiente de si son inactivas o latentes, viables o no viables (Bewley et al. 1982; Mayer et al. 1982; Mancilla et al. 2013).

3.2.2 Tratamientos pre-germinativos generales en *A. meriania*

Mediante los tratamientos de temperatura, se observó que la temperatura alta (90°C) y media (24-35°C) tuvieron un efecto negativo sobre la germinación de las semillas, por lo que se obtuvieron porcentajes bajos de germinación en ambos casos. A pesar de las precauciones de tiempo mínimo en la aplicación, estos tratamientos pudieron dañar el embrión debido al tamaño de las semillas y a la testa que recubre el embrión que presenta una estructura frágil. Por otra parte, el tratamiento con temperatura baja (3°C) denotó mejores resultados en comparación con los otros tratamientos de temperatura. Para este tratamiento se obtuvo el 14% de germinación en comparación al 6,66% del control en un rango de temperatura de 12-21°C. Esta respuesta de germinación puede estar relacionada a una adaptación de las semillas a suelos de bajas temperaturas, es por ello que el almacenamiento en seco a baja temperatura tiende a romper la latencia y promueve la germinación. (Escobar 2015; Batlla et al. 2003; Bradford 2002). Estos resultados son coherentes con lo expuesto por Garcia et al (1982), que mencionan que la tasa de germinación aumenta al acercarse a la temperatura óptima de la especie, pero disminuye al llegar a temperaturas altas.

Por su parte, los tratamientos de desinfección de las semillas en lapsos de 30 segundos, 1 y 3 minutos en agua oxigenada no mostraron tasas altas de germinación (< 5 %), comparadas con los porcentajes obtenidos en el control (24,66%). Estos bajos porcentajes podrían deberse al efecto corrosivo del agua oxigenada que pudo haber dañado el tejido del embrión en la mayoría de las semillas o influido en la deshidratación de la semilla, imposibilitando la absorción de agua por parte de las semillas (Mancilla et al. 2013).

Los resultados obtenidos en *A. meriania* con los tratamientos de temperatura y desinfección no pueden ser discutidos con claridad ya que se introdujo involuntariamente un factor alineado (o no planificado en el diseño experimental), que pudo influir en los datos obtenidos. Los lotes de semillas utilizados en estos experimentos fueron obtenidos de cápsulas dehiscentes de color plomo colectadas en el mes de Agosto de 2016; que al parecer, contenían un alto porcentaje de semillas no viables. Sin embargo, posterior a la aplicación del agua oxigenada, se planteó la hipótesis que el estadio de madurez del fruto determina la variabilidad del lote; los experimentos asociados a esta hipótesis se discuten a continuación.

3.2.2.1 Época de colección y estadio del fruto

De acuerdo con los resultados obtenidos, la época de colección y estadio del fruto pueden ser factores determinantes de la germinación de *Axinaea meriana*. Según Aguilar et al (2017), ésta es una especie que florece una sola vez al año entre los meses de septiembre a noviembre. Es así que las semillas colectadas en los meses de julio y agosto de 2016 correspondían únicamente a cápsulas dehiscentes de color gris, que se notaban claramente deshidratadas y que corresponderían a la floración de los meses de septiembre y noviembre de 2015. Estas semillas fueron empleadas en los tratamientos de temperatura y desinfección; teniendo en cuenta que las semillas viables son las que primero se dispersan fuera del fruto, y por lo tanto, el fruto retiene un alto porcentaje de semillas no viables o secas por varios meses (Noir et al. 2002), las semillas empleadas estuvieron almacenadas alrededor de un año en la planta madre, por lo que tuvieron un efecto negativo en las tasas de germinación. conseguir

De acuerdo a lo anteriormente expuesto y a observaciones realizadas en el campo no se pudo colectar frutos en los meses de octubre, noviembre y diciembre porque la

especie entró en un periodo de floración y solamente se encontraban frutos inmaduros. Tras el periodo de floración los frutos necesitaron entre 2 a 3 meses para madurar; por lo que se colectaron las semillas maduras, coincidiendo con los meses de precipitación de febrero-mayo (media mensual ~ 90 mm) en la estación científica El Gullán (INAMHI 2015). Esta adaptación reproductiva sincroniza la germinación con el comienzo de la estación lluviosa, lo cual permite que las plántulas maximicen el periodo en condiciones ambientales favorables para su establecimiento durante la primera estación de crecimiento (Oliveira 2014; Salazar et al. 2011; Silveira et al. 2013)

Según Garwood (1983), las semillas dispersadas al inicio de la temporada de lluvia no presentan latencia y germinan en la estación lluviosa; por lo que permite a las plántulas establecerse en condiciones ambientales favorables durante la primera etapa de crecimiento. De este modo la mejor época de colección de frutos para *A. meriania* fue en los meses de enero y febrero de 2017, ya que en esta época de colección se obtuvieron porcentajes más altos de germinación (27%) que los obtenidos con los tratamientos de temperatura y desinfección.

Al igual que la época de colección, el estadio de los frutos fue un factor influyente en la germinación de semillas. Por ello, las semillas se clasificaron de acuerdo al tipo de cápsulas; teniéndose así cápsulas dehiscentes de coloración gris a blanca (CDB), que se colectaron en los meses de julio, agosto y septiembre de 2016. Además, cápsulas cerradas coloración café oscuro (CCC) y cápsulas dehiscentes coloración café oscuro (CDC), que se colectaron en el mes de enero y febrero de 2017.

Al comparar las tasas de germinación de semillas de los distintos tipos de cápsulas, el porcentaje más alto se registró en cápsulas dehiscentes coloración café oscuro (19,33%). La baja germinación registrada con cápsula dehiscentes de coloración gris a blanca (0,66%), está relacionada a con la pérdida de viabilidad que las semillas sufren al permanecer en la planta madre. Por su parte la diferencia encontrada entre los porcentajes de germinación en semillas de cápsulas cerradas y dehiscentes de coloración café oscuro, puede deberse a que las cápsulas cerradas se encontraban en un estado prematuro, que según Schmidt (2000) produce semillas de baja calidad, poca viabilidad y almacenamiento.

3.2.2.2 Separación de semillas mediante prueba de absorción (24 y 48 horas) y desinfección

Según Schmidt, (2000) la capacidad de absorción de agua que tienen las semillas están relacionadas con la viabilidad es así que al colocar las semilla en agua, las semillas que no flotan (semillas sumergidas) son viables para la germinación por su capacidad de absorción de agua e incremento de la masa en la semilla; a diferencia de las semillas que flotan (semillas flotantes) que son semillas dañadas o inmaduras que no tienen la capacidad de absorber agua por lo tanto no son viables.

Al aplicar la prueba de absorción por 24 horas las semillas sumergidas alcanzaron tasas mayores de germinación en comparación con las semillas flotantes. Los patrones temporales de germinación variaron dependiendo del estadio de las cápsulas (frutos) cerradas o dehiscentes de color café oscuro, de este modo la tasa más alta de germinación se obtuvo con las semillas sumergidas de cápsulas dehiscentes que alcanzó un porcentaje del 46,66%, sin embargo las semillas flotantes también obtuvieron un porcentaje considerable de germinación 30,66%; estos resultados denotan que a las 24 horas de inmersión de las semillas en agua no existe una separación apropiada de semillas viables y no viables. Por esta razón al aplicar la prueba de flotabilidad por 48 horas, las semillas sumergidas de capsulas dehiscentes incrementaron su porcentaje de germinación del 47,33%, mientras que la tasa de germinación de las semillas flotantes se redujo considerablemente a un 16% De acuerdo a estos resultados se puede observar que hay una mejor separación de semillas a las 48 horas de la aplicación de la prueba de absorción.

En contexto el mejor tratamiento pre-germinativo para *A. merianiae* fue la prueba de absorción por 48h y la aplicación del tratamiento de desinfección en las semillas sumergidas de capsulas dehiscentes con un porcentaje del 64% de germinantes en comparación con el control con un 46%. Estos resultados se sustentan en la mejor separación entre semillas viables y no viables hasta la hora 48 de la prueba de absorción, así como el efecto de desinfección que tienen propiedades corrosivas, permitiendo el ingreso de agua hacia el embrión y promoviendo su desarrollo (Schmidt 2008).

3.3 Generalidades

Los resultados de este estudio sugieren que tanto *Miconia aspergillaris* como *Axinaea merianiae* son especies con alto potencial para la restauración de ecosistemas degradados por ser especies de temprana adaptación en suelos con baja cantidad de nutrientes, capaces de mejorar el ambiente físico para otras plantas y como especies claves en las redes de interacción con aves nectarívoras y frugívoras que sustentan funciones de los ecosistemas en procesos como la polinización y dispersión de semillas (Silveira et al 2013; Cueva et al. 2013; Tinoco et al. 2015). A esto se suma las características reproductivas de las especie, al producir un alto número de semillas de buena calidad física y fisiológica que responden favorablemente a la germinación.

Sin embargo la producción de estas especies en vivero está limitada por las características de sus semillas que generan plántulas pequeñas y frágiles, esto hace que al trasplantarlas y someterlas a condiciones de vivero sufran daños y un alto porcentaje de plántulas mueran, además son especies de crecimiento lento como se puede inferir en base a datos referenciales de siembra en vivero, 10cm en 8 meses, lo que en términos de costo y tiempo no es rentable.

De este modo tanto *M. aspergillaris* como *A. merianiae* pueden ser integradas en programas de restauración empleando técnicas de siembra directa usando por ejemplo, bombas de semillas (seed bombs) como un método potencial para la siembra *in situ* que consisten en pelotas de arcilla con una mezcla de semillas de varias especies de tamaño y peso similar que se dispersan de forma aérea mediante la técnica de lluvia de semillas para llegar a lugares de difícil acceso (Ortolani 2015); estas especies también pueden ser usadas en siembras al voleo de forma manual, es decir esparcir las semillas directamente sobre la superficie de la tierra (FAO 2011).

Como complemento a este estudio futuras investigaciones deberían enfocarse en conocer la floración y fructificación caracterizando la fisiología y fenología reproductiva de las especies, para determinar épocas adecuadas de cosecha que permitan obtener mejores resultados de germinación. En cuanto a la producción de plántulas se puede investigar la asociación de plántulas con micorrizas que promuevan

el crecimiento y mejoren el establecimiento de las plántulas en el campo para los fines de recuperación requeridos por un ecosistema degradado.

RECOMENDACIONES

- Los resultados de este estudio sugieren que tanto *Miconia aspergillaris* como *Axinaea merianiaea* son especies potenciales para la restauración de ecosistemas degradados.
- No es recomendable la producción de estas especies en vivero por su tamaño, fragilidad y crecimiento lento.
- Las semillas de estas especies pueden ser usadas en técnicas de siembra directa como bombas de semillas (seed bombs) o en siembras al voleo.
- En el caso de *A. merianae* al producir un gran número de semillas no viables es recomendable compensar este déficit sembrando una gran cantidad de semillas.
- Futuras investigaciones deberían enfocarse en el estudio de la fisiología y fenología reproductiva de estas especies.

BIBLIOGRAFIA

- Aerts, R., Maes, W., November, E., Negussie, A., Hermy, M., & Muys, B. (2006). Restoring dry Afromontane forest using bird and nurse plant effects: Direct sowing of *Olea europaea* spp. *cuspidata* seeds. *Forest Ecology and Management*, 230, 23–31.
- Aguilar, J., Tinoco, B. Ecología de polinización de *Axinaea meriania* en los altos Andes del sur del Ecuador: Características de su néctar y aves polinizadoras. En proceso.
- Amírez, B. E. R., & Mendoza, H. (2006). *Guía ilustrada de géneros de Melastomataceae y Memecylaceae de Colombia*.
- Aronson, J., Milton, S. J. B., & others. (2007). Restoring natural capital: science, business, and practice. *Society for Ecological Restoration International*. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=SUV.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=016260>.
- Arteca, R.N. 1996. Plant growth substances: principles and applications. Chapman and Hall, New York.
- Balslev, H., Navarrete, H., Torres, L., & Marcia, M. (2008). Enciclopedia De Plantas Útiles Del Ecuador. *Herbario QCA & Herbario AAU*, 1, 1–3.
- Barba -Espín G, Diaz-Vivancos P, Clemente-Moreno MJ, Albacete A, Faize L, Faize M, Pérez-Alfocea F, H. J. (2010). Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. *Plant Cell & Environment*, (44), 33, 981–994.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination.*, xiv + 666 pp.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1). <http://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Batlla, D., & Benech-Arnold, R. L. (2003). *Polygonum, analysis of dormancy loss dynamics in Time, aviculare L. seeds: Development of a thermal Thermal, model based on*

changes in seed population parameters. (p. A quantitative Seed Science Research, 13, 55-68.).

Bazzaz, F.A. (1984) Dynamics of wet tropical forests and their species strategies. In: *Physiological ecology of plants in the tropics.* (E. Medina. H.A. Mooney and C. Vázquez-Yanes eds) J. Publishers, Boston, 233-244.

Becquer, E. R., Michelangeli, F. A., & Borsch, T. (2014). Comparative seed morphology of the Antillean genus *Calycogonium* (Melastomataceae: Miconieae) as a source of characters to untangle its complex taxonomy. *Phytotaxa*, 166(4), 241–258. <http://doi.org/10.11646/phytotaxa.166.4.1>

Benítez, B. G., Pulido, S. M. T., & Equihua, Z. M. (2004). *Árboles multiusos nativos de Veracruz: para reforestación, restauración y plantaciones.*

Bewley, J. D., & Black, M. M. (1982). Viability and longevity. In S. Verlag (Ed.), *Physiology and Biochemistry of Seeds - in Relation to Germination.*, 1–59. Retrieved from <http://www.sapiensman.com/electrotecnia/problemas3.htm>

Blakesley, D., Elliott, S., & Kuarak, C. (2002). Propagating framework tree species to restore seasonally dry tropical forest: implications of seasonal seed dispersal and dormancy. *Forest Ecology and Management*, 164, 31–38.

Bradford, K. J. (2002). Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*

Bosch, J.M. and Hewlett, J.D., 1982. A review of catchment experiments to determine the effect of vegetation changes on water yield and evapotranspiration. *J. Hydrol.*, 55: 3-23.

- Buytaert, W., Deckers, J., Dercon, G., Biévre, B., Poesen, J., & Govers, G. (2002). Impact of land use changes on the hydrological properties of volcanic ash soils in South Ecuador. *Soil Use and Management*, 18(2), 94–100.
- Carse, A. D. (2006). Trees and trade-offs: perceptions of Eucalyptus and native trees in Ecuadorian highland communities. *Development with Identity. Community, Culture, and Sustainability in the Andes*, 103–122.
- Chaves, I. D. E. S., Alvarenga, A. A. D. E., Dousseau, S., Cristina, G., Soares, M., Dos, E., Artur, S. (2011). Germination of *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) diaspores submitted to different treatments for dormancy overcoming, (2004), 335–341.
- Chazdon, R. L. (2008). Beyond deforestation: restoring forests and ecosystem services on degraded lands. *Science*, 320(5882), 1458–1460.
- Ciccarese, L., Mattsson, A., & Pettenella, D. (2012). Ecosystem services from forest restoration: Thinking ahead. *New Forests*, 43(5–6), 543–560. <http://doi.org/10.1007/s11056-012-9350-8>
- Clewell, a, Aronson, J., & Winterhalder, K. (2004). The SER International primer on ecological restoration. *Ecological Restoration*, 2(2), 206–207. <http://doi.org/S34>
- Cook, A., Turner, S., baskin, j., Baskin, C., Steadman, K., Dixon, K. (2008). Occurrence of Physical dormancy in Seeds of Sustralian Sapindaceae: A Survey of 14 Species in Nine Genera. *Annals of Botany*, 101, 1349–1362. <http://doi.org/http://doi.org/10.1093/aob/mcn043>
- Cotton, E., Bussmann, R. W., & Lozano, P. (2004). Three new Ecuadorian species of *Axinaea* (Melastomataceae) Three new Ecuadorian species of *Axinaea* (Melastomataceae), (February 2016). <http://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2003.tb00367.x>

- Crespo, A. (2014). Direct Seeding with native trees in South Central Ecuador: Engancing Restoration Potential with local knowledge. University of Florida, Florida.
- Cuevas, J. G., Silva, S. I., León-Lobos, P., & Ginocchio, R. (2013). El efecto nodriza y la exclusión de herbivoría facilitan la colonización de plantas en depósitos de relaves mineros abandonados en Chile centro-norte. *Revista Chilena de Historia Natural*, 86(1), 63–74. <http://doi.org/10.4067/S0716-078X2013000100006>
- Daws, M. I., Garwood, N. C., & Pritchard, H. W. (2005). Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panama: some ecological implications. *Funtional Ecology*, 19, 874–885.
- Dellinger, A. S., Penneys, D. S., Staedler, Y. M., Fragner, L., & Weckwerth, W. (2014). Report A Specialized Bird Pollination System with a Bellows Mechanism for Pollen Transfer and Staminal Food Body Rewards, 1615–1619. <http://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.056>
- De la Torre, L., H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macia & H. Balslev (eds.) 2008. Enciclopedia de Plantas Utiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Catolica del Ecuador & Herbario AAU del Departamenteo de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. Quito & Aarhus
- Ehiagbonare, J., & Onyebi, H. (2009). Seed storage evaluation, imbibition capacity asesment and seed pre-sowing treatment studies on *Newbouldia leavis* (P.Beauv) ex bureau. *Scientific Research and Essay*, 4(5), 453-456. <http://doi.org/http://doi.org/10.5897/SER>
- Ellison, A. M., Denslow, J. S., Loiselle, B. A., & Brenes, D. (1993). Seed and Seedling Ecology of Neotropical Melastomataceae. *Ecology. Ecological Society of America*. <http://doi.org/10.2307/1939932>

- Escobar, D. F. E., & Cardoso, V. J. M. (2015). Germinación y latencia de semillas de *Miconia chartacea* (Melastomataceae), en respuesta a luz, temperatura y hormonas vegetales. *Revista de Biología Tropical*, 63(4), 1169–1184. <http://doi.org/10.15517/rbt.v63i4.17955>
- Fajardo-Mejía, M. A., Morales-Osorio, J. G., Antonio, G., & León-Peláez, J. D. (2016). Effect of Plant Extracts and Growth Substrates on Controlling Damping-Off in *Pinus Tecunumanii* Seedlings. *Cerme*, 22(3), 317–324. <http://doi.org/10.1590/01047760201622032150>
- FAO. (2011). *Evaluaciones De Recursos Forestales Mundiales. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Retrieved from <http://www.fao.org/forest-resources-assessment/es/>
- Frobish, D. M. J. N. S. A. (2010). Revisión de la aplicación y propiedades farmacológicas de los aceites ricos en α -bisabolol y α -bisabolol. *Diario de La American Oil Chemists' Society*, 87 (1): 1-7. <http://doi.org/Doi : 10.1007 / s11746-009-1483-3>
- Futuyma, D. J. M. S. (1983). *Coevolution*. Sinauer. Sunderland, Massachusetts., 566 p.
- Gardens, R. B. (2006). Seed Information Database. *SID*). *Version 7.1. Available*, 1–7. Retrieved from from: <http://data.kew.org/sid/> (Ene 2017)
- Garcia Huidobro, J. M., Monteith, J. L., & Squire, G. R. (1982). Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum thyphoides* S. & H.). I. Constant temperature. *Journal Experimental Botany*, 33(133), 288296.
- Garwood, N.C. 1983. Seed germination in seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecological monographs*, 53: 159-181
- Giffin, J. G. (1993). New species of fossil birds found at Puu Wa awa a. *Elepaio*, 53 (1), 1-3. <http://doi.org/10.1007/978-3-642-78963-2>

- Godoi, S., & Takaki, M. (2007). Seed Germination in *Miconia theaezans* (Bonpl .) Cogniaux (Melastomataceae), 50 (July), 571–578.
- INHAMI. (2015). Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Retrieved from <http://www.serviciometeorologico.gob.ec>
- Hofstede, R. G., Groenendijk, J. P., Coppus, R., Fehse, J. C., & Sevink, J. (2002). Impact of pine plantations on soils and vegetation in the Ecuadorian high Andes. *Mountain Research and Development*, 22(2), 159–167.
- Holl, K. D. (2012). Restoration of Tropical Forests. In *Restoration Ecology: The New Frontier* (pp. 103–114). <http://doi.org/10.1002/9781118223130.ch9>
- Houghton, R. A. (1992). Tropical deforestation and atmospheric carbon dioxide. *Tropical Forests and Climate*, 99–121.
- ITTO. Lamb, D., Erskine, P. D., & Parrotta, J. A. (2005). Restoration of Degraded Tropical Forest Landscapes. *Science*, 310, 168–1692.
- Jamalian, A.; Shams-Ghahfarokhi, M.; Jaimand, K.; Pashootan, N.; Amani, A.; and Razzaghiabyaneh, M. Chemical composition and antifungal activity of *Matricaria recutita* flower essential oil against medically important dermatophytes and soil-borne pathogens. *Journal of Medical Mycology*, v. 22, n. 4, p. 308-315, 2012
- Jordano, P. (1987). Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. *American Naturalist*, 129:257-677.
- Kageyama, P.Y., Biella, I.C. and Palermo Junior, A. (1990) Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. In: VI Congresso Florestal brasileiro, Campos do Jordão. Sociedade brasileira de Silvicultura, São Paulo, Brasil, vol.1, p.
- Kiss, K., Bräuning, A., & Forschungsgemeinschaft, D. (2008). El bosque húmedo de montaña: investigaciones sobre la diversidad de un ecosistema de montaña en el Sur del Ecuador. *Deutsche Forschungsgemeinschaft*.

- Lamb, D., Erskine, P. D., & Parrotta, J. A. (2005). Restoration of degraded tropical forest landscapes. *Science (New York, N.Y.)*, 366–385. <http://doi.org/10.1111/geb.12015>
- Lugo, A. (1992). Tropical forest uses. *Developments or Destruction*, 117–132.
- Meffe, G., & Carroll, C. (1994). Principles of conservation biology. *Sinauer*, 237–264.
- Mancilla, C., Castrejon, C., Rosas, T., Blanco, E., & Perez, S. (2013). *Extracción y Separación de Pigmentos Vegetales*. www.scribd.com. Universidad del Valle de México.
- Mayer, a. M., & Poljakoff-Mayber, a. (1982). The Germination of Seeds. *The Germination of Seeds*, 10–21. <http://doi.org/10.1016/B978-0-08-028853-6.5009-7>.
- McNair J. N., Sunkara, A., & Frobish, D. (2012). How to analyse seed germination data using statistical time-to-event analysis: non-parametric and semi-parametric methods. *Seed Science Research*, 22(02), 77–95.
- Meli, P. (2003). Restauración ecológica de bosques tropicales : veinte años de investigación académica . *Interciencia*. [http://doi.org/28\(10\), 581–589+622](http://doi.org/28(10), 581-589+622).
- Meyer, J.-Y. (2016). Observations on the Reproductive Biology of *Miconia calvescens* DC (Melastomataceae), an Alien Invasive Tree on the Island of Tahiti (South Pacific Ocean) Author (s): Jean-Yves Meyer Published by : Association for Tropical Biology and Conservation St. *Association for Tropical Biology and Conservation*, 30(4), 609–624.
- Minga, D y A. Verdugo 2016. Árboles y arbustos de los ríos de Cuenca. Serie texto Apoyo a la docencia Universidad del Azuay. Imprenta Don Bosco. Cuenca
- Murcia, C. (1995). Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. [http://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)88977-6](http://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)88977-6)
- Noir, F. A., Bravo, S., & Abdala, R. (2002). Mecanismos de dispersión de algunas especies

- de leñosas nativas del Chaco Occidental y Serrano. *Quebracho*, 9, 140–150.
- Oliveira, A.K.M.1; Mota, C.M.G.2; Agnes, D. C. . (2014). Efeito de diferentes temperaturas na germinação de sementes e no crescimento inicial de plântulas de *Miconia albicans* (Melastomataceae), 755–759.
- Oliveira, D. L. de, Smiderle, O. J., Paulino, P. P. S., & Souza, A. D. G. (2016). Water absorption and improvement of methods for electrical conductivity test in acacia seeds. *Revista de Biología Tropical*, 64(4). <http://doi.org/10.15517/rbt.v64i4.21944>
- Ortolani, M. R.; Schirone, A.; Camillotti, G.; Schirone, B. 2015 Reforestation Challenges, Belgrade, Serbia, 227-233 ref.4
- Palang, H., Mander, Ü., & Naveh, Z. (2000). Holistic landscape ecology in action. *Landscape and Urban Planning*, 50(1–3), 1–6. [http://doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00076-1](http://doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00076-1)
- Pérez, H. E., & Kettner, K. (2013). Characterizing *Ipomopsis rubra* (Polemoniaceae) germination under various thermal scenarios with non-parametric and semi-parametric statistical methods. *Planta*, 238(4), 771–784. Retrieved from <http://doi.org/10.1007/s00425-013-1935-8>
- Recutita, M. (2003). Comparación de aceites esenciales de *Matricaria recutita* L . de origen diverso, 159–165.
- Royal Botanic Gardens Kew. (2017) Seed Information Database (SID). Version 7.1. Available from: <http://data.kew.org/sid/> (Abril 2017)
- Salazar, A., Goldstein, G., Franco, A. C., & Miralles-Wilhelm, F. (2011). Timing of seed dispersal and dormancy, rather than persistence in soil seed-banks, control recruitment of woody plants in Neotropical savannas. *Seed Science Research*, 21, 103-116.
- Sarmiento, F. (2000). Breaking mountain paradigms: Ecological effects on human impact in man-aged tropeandean landscapes. *Ambio*, 29, 423–431.

- Sautu, A., Baskin, J. M., Baskin, C. C., & Condit, R. (2006). Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Ecology and Management*, 234, 245–263.
- Schmidt, L. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. (D. F. S. Centre, Ed.) (Primera). Dinamarca.
- Schmidt, L. (2008). *A review of direct sowing versus planting in tropical afforestation and land rehabilitation. Development and Series 10-2008*.
- Sierra, M. (1999). Propuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador continental. *Proyecto Inefan/Gef-Birf Y Ecociencia*.
- Silveira, F. A. O., Fernandes, G. W., & Lemos, J. P. (2013). Seed and Seedling Ecophysiology of Neotropical Melastomataceae : Implications for Conservation and Restoration of Savannas and Rainforests Your use of this PDF , the BioOne Web site , and all posted and associated content ECOPHYSIOLOGY OF CONSERVATION AND. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 99(1):82-99. 2013. <http://doi.org/10.3417/2011054>
- Systat Software. (2014). Sigmaplot. San Juan, CA. USA.
- Tang, H.; Wei, J.Q.; Yang, Q.H.; Liang, H.L.; Wei, X.; Yang, H.S. (2012). Seed Science and Technology. International Seed Testing Association Volume 40, Number, pp. 1-10(10)
- Tinoco, B., Aguilar, J., & Nieto, A. (2015). Plantas claves para la Restauracion de Ecosistemas Andinos. (En proceso).
- Turner, S., Cook, A., Baskin, j., Baskin, C., Tuckett, R., Steadman, K., Dixon, K. (2006). identification and characterization of the water gap in the physical dormant seeds of *Dodonae petiolaris*: a first report for Sapindaceae. *Annals of Botany*, 104 (5). 833-844. <http://doi.org/http://doi.org/DOI10.1071/BT05156>

- Ulloa, C. (1995). Árboles y arbustos de los andes del Ecuador. *Edición Abya-Yala. Quito, Ecuador.*
- Vanacker, V., Govers, G., Barros, S., Poesen, J., & Deckers, J. (2003). The effect of short-term socio-economic and demographic change on landuse dynamics and its corresponding geomorphic response with relation to water erosion in a tropical mountainous catchment, Ecuador. *Landscape Ecology*, 18(1), 1–15.
- Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1993). Patterns of Seed Longevity and Germination in the Tropical Rainforest. *Review of Ecology and Systematics*. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2097173>
- Vazquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. . (1990). Seed dormancy in the tropical rainforest. *Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants*, 247–259.
- Vázquez Y., C., Batis M., A. I., Alcocer S., M. I., Gual D., M., & Sánchez D., C. (2009). Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Proyecto J-084-CONABIO*, 1–15. Retrieved from [file:///D:/Documents/Proyecto tesis/860report_1.pdf](file:///D:/Documents/Proyecto%20tesis/860report_1.pdf)
- Viña, A, & Estévez, J. (2013). Fragmentation of a tropical lowland forest in a trans-boundary region: Colombia and Ecuador. *Boletín Científico Centro de Museos de Historia Natural*, 17, 53–63. <http://doi.org/10.1007/s11056-012-9350-8>
- Wardack, J. (1980). Flora of Ecuador. N.- 13 Melastomataceae. Gunnar Harling and Bengt Sporre. *U.S National Herbarium Smithsonian Institute.*
- White, S., & Maldonado, F. (1991). The Use and Conservation of Natural Resources in the Andes of Southern Ecuador. *Mountain Research and Development*, 236(APRIL 2007), 11, 35–37. Retrieved from <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-4419-1157-5%5Cnhttp://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34548452779&partnerID=tZOtx3y1%5Cnhttp://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-4419-1157-5%5Cnhttp://link.springer.com/10.1007/978-3-319-2>

- Whitmore, T. (1993). An introduction to tropical rain forests. *Oxford University Press*, 226.
- Whitmore, T. (1997). Tropical forest disturbance, disappearance, and species loss. *Ecology, Management, and Conservation of Fragmented Communities*, 3–12.

ANEXOS



Anexo 1. Fotografías de las especies en estudio *Miconia aspergillaris* y *Axinaea meriania* respectivamente.



Anexo 2. Fotografías de la extracción de las semillas de *M. aspergillaris*.



Anexo 3. Fotografía de la extracción de las semillas de *A. merianiae*.



Anexo 4. Fotografías de la medición de semillas de *M. aspergillaris* y *A. merianiae* respectivamente.

Sánchez Bueno69

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y | Z |
|----|---------------|-------------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|
| 1 | Tratamiento 1 | <i>M. aspergillaris</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | ps | ph1 | % inc 1 | ph2 | % inc 2 | ph3 | % inc 3 | ph4 | % inc 4 | ph5 | % inc 5 | ph6 | % inc 6 | ph7 | % inc 7 | ph8 | % inc 8 | ph12 | % inc 12 | ph24 | % inc 24 | ph48 | % inc 48 | ph72 | % inc 72 |
| 3 | | 0.0011 | 0.0018 | 80 | 0.0011 | 10 | 0.0012 | 20 | 0.0011 | 10 | 0.0010 | 0 | 0.0012 | 20 | 0.0013 | 30 | 0.0013 | 30 | 0.0013 | 30 | 0.0013 | 30 | 0.0009 | -10 | 0.0013 | 30 |
| 4 | | 0.0011 | 0.0011 | 0 | 0.0010 | -9.0909 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0014 | 27.2727 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0014 | 27.2727 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0015 | 36.3636 |
| 5 | | 0.0011 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0010 | -9.0909 | 0.0011 | 0 | 0.0009 | -18.182 | 0.0011 | 0 | 0.0010 | -9.0909 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0016 | 45.4545 | 0.0010 | -9.0909 | 0.0010 | -9.0909 |
| 6 | | 0.0011 | 0.0011 | 0 | 0.0011 | 0 | 0.0009 | -18.182 | 0.0010 | -9.0909 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0009 | -18.182 | 0.0011 | 0 | 0.0011 | 0 | 0.0011 | 0 | 0.0009 | -18.182 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0013 | 18.1818 |
| 7 | | 0.001 | 0.0015 | 50 | 0.0013 | 30 | 0.0014 | 40 | 0.0014 | 40 | 0.0013 | 30 | 0.0011 | 10 | 0.0015 | 50 | 0.0013 | 30 | 0.0013 | 30 | 0.0012 | 20 | 0.0014 | 40 | 0.0012 | 20 |
| 8 | PROMED | 0.00106 | 0.00134 | 27.8182 | 0.0011 | 4.36364 | 0.00118 | 12 | 0.00112 | 6.36364 | 0.0012 | 13.2727 | 0.0011 | 4.18182 | 0.0013 | 23.2727 | 0.00124 | 17.4545 | 0.00124 | 17.4545 | 0.00128 | 20.9091 | 0.00116 | 9.63636 | 0.00126 | 19.0909 |
| 9 | DESVEST | | | 35.754 | | 16.3561 | | 22.0293 | | 22.3237 | | 13.0416 | | 17.0027 | | 19.483 | | 13.1331 | | 13.1331 | | 23.741 | | 20.8061 | | 17.4157 |
| 10 | ERR EST | | | 11.3064 | | 5.17224 | | 6.96627 | | 7.05937 | | 4.12411 | | 5.37672 | | 6.16106 | | 4.15306 | | 4.15306 | | 7.50757 | | 6.57946 | | 5.50732 |

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y | Z |
|---|---------------|---------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|----------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|
| 1 | Tratamiento 1 | <i>A. merianiae</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | ps | ph1 | % inc 1 | ph2 | % inc 2 | ph3 | % inc 3 | ph4 | % inc 4 | ph5 | % inc 5 | ph6 | % inc 6 | ph7 | % inc 7 | ph8 | % inc 8 | ph12 | % inc 12 | ph24 | % inc 24 | ph48 | % inc 48 | ph72 | % inc 72 |
| 3 | | 0.0011 | 0.00012 | -89.091 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0013 | 18.1818 | 0.0009 | -18.182 | 0.0011 | 0 | 0.0011 | 0 | 0.0012 | 9.09091 | 0.0013 | 18.1818 | 0.002 | 81.8182 | 0.0021 | 90.9091 | 0.0023 | 109.091 |
| 4 | | 0.001 | 0.0011 | 10 | 0.0011 | 10 | 0.001 | 0 | 0.001 | 0 | 0.0012 | 20 | 0.0013 | 30 | 0.0011 | 10 | 0.001 | 0 | 0.0015 | 50 | 0.002 | 100 | 0.0019 | 90 | 0.0019 | 90 |
| 5 | | 0.0009 | 0.0013 | 44.4444 | 0.0011 | 22.2222 | 0.001 | 11.1111 | 0.0011 | 22.2222 | 0.0014 | 55.5556 | 0.0013 | 44.4444 | 0.0011 | 22.2222 | 0.0011 | 22.2222 | 0.0014 | 55.5556 | 0.0016 | 77.7778 | 0.0021 | 133.333 | 0.0011 | 22.2222 |
| 6 | PROMED | 0.001 | 0.00084 | -11.549 | 0.00113 | 13.771 | 0.00107 | 6.73401 | 0.00113 | 13.468 | 0.00117 | 19.1246 | 0.00123 | 24.8148 | 0.0011 | 10.7407 | 0.0011 | 10.4377 | 0.0014 | 41.2458 | 0.00187 | 86.532 | 0.00203 | 104.747 | 0.00177 | 73.771 |
| 7 | DESVEST | | | 69.3267 | | 7.33304 | | 5.91865 | | 11.8373 | | 36.8765 | | 22.6714 | | 11.1296 | | 11.1722 | | 20.1662 | | 11.8373 | | 24.7603 | | 45.6517 |
| 8 | ERR EST | | | 21.923 | | 2.31891 | | 1.87164 | | 3.74328 | | 11.6614 | | 7.16932 | | 3.51949 | | 3.53295 | | 6.37712 | | 3.74328 | | 7.82988 | | 14.4363 |

Anexo 5. Porcentajes de imbibición desde la hora o hasta la hora 75 *M. aspergillaris* y *A. merianiae*.

Sánchez Bueno70

| A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y | Z | AA | AB | AC | AD | AE | AF | AG | AH | |
|-----------|-------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Cod | Siemb | Rep | d1 | d2 | d3 | d4 | d5 | d6 | d7 | d8 | d9 | d10 | d11 | d12 | d13 | d14 | d15 | d16 | d17 | d18 | d19 | d20 | d21 | d22 | d23 | d24 | d25 | d26 | d27 | d28 | d29 | d30 | | |
| Masper020 | 17-febr.-17 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | | |
| | | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | | |
| | | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| | | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 1 | 0 | | |
| | | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | |
| | | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 13 | 4 | 1 | 0 | 0 | 16 | 13 | 2 | 12 | 14 | 10 | 0 | 0 | 3 | 6 | 5 | 7 | 15 | 4 | 3 | 3 | 134 | |

Anexo 6. Base de datos. Registro de germinación de 15 réplicas de *M. aspergillaris* en 30 días de control.

Sánchez Bueno71

| A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y | Z | AA | AB | AC | AD | AE | AF | AG | AH |
|----------|------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Cod | Siemb | Rep | d1 | d2 | d3 | d4 | d5 | d6 | d7 | d8 | d9 | d10 | d11 | d12 | d13 | d14 | d15 | d16 | d17 | d18 | d19 | d20 | d21 | d22 | d23 | d24 | d25 | d26 | d27 | d28 | d29 | d30 | |
| Ameri070 | 15-feb.-17 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 5 | 13 | 16 | 7 | 1 | 0 | 2 | 23 | 2 | 2 | 10 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 96 | |

Anexo 7. Base de datos. Registro de germinación de 15 réplicas de *A. merianiae* en 30 días de control



Anexo 8. Fotografías de la emergencia de la radícula en semillas de *M. aspergillaris* y *A. meriania* respectivamente.



Anexo 9. Fotografía de la prueba de absorción en semillas de *A. meriania*, semillas flotantes y semillas sumergidas.



Anexo 10. Fotografías de plántulas de *M. aspergillaris* y *A. meriania*