



**Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Asteraceae en
Bosques Andinos del Ecuador**

Guamán Hidalgo, Marcelo David

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

PhD. Proaño Tuma, Karina Isabel

16 de agosto del 2022

COPYLEAKS

Guamán-Marcelo_Nota-conceptual_Copyleaks.docx

Scanned on: 22:26 August 24, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	506
Words with Minor Changes	89
Paraphrased Words	669
Omitted Words	0



Formado electrónicamente por:
KARINA
ISABEL
PROANO TUMA



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: “**Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Asteraceae en Bosques Andinos del Ecuador**” fue realizado por el señor **Guamán Hidalgo Marcelo David**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 24 de agosto de 2022



.....
Proaño Tuma, Karina Isabel Ph.D.
C. I. 1707245104




Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Guamán Hidalgo Marcelo David**, con cédula de ciudadanía n° 1725460354, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Asteraceae en Bosques Andinos del Ecuador** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 24 de agosto de 2022


.....
Guamán Hidalgo Marcelo David
C.I.: 1725460354



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Guamán Hidalgo Marcelo David**, con cédula de ciudadanía n° 1725460354, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Asteraceae en Bosques Andinos del Ecuador** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 24 de agosto de 2022



Guamán Hidalgo Marcelo David
C.I.: 1725460354

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación está dedicado a mi familia, especialmente:

A mi padre, Paco Miguel, que siempre ha estado presente brindándome su cariño y apoyo incondicional para poder culminar mi carrera.

A mi madre, Paula, por su apoyo través de este largo camino de vida que me ha llevado a alcanzar mis metas.

A mis hermanos Jencarlos y Michael que han estado siempre presente a lo largo de mi vida y carrera universitaria.

A Michelle por su paciencia, cariño y apoyo a lo largo de mi carrera universitaria.

Finalmente, en memoria de mi abuelita, Zoila Angélica quien siempre me brindó su apoyo y cariño a lo largo de mi vida y fue una guía importante para aspirar a grandes cosas en mi vida.

Marcelo David Guamán Hidalgo

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a mi directora Karina Proaño Tuma, PhD y María Claudia Segovia, PhD por su dedicación como docentes, guía profesional, paciencia y apoyo a lo largo del desarrollo de mi trabajo.

Muchos a Mónica Jadán, PhD, por su apoyo, guía y presencia a lo largo de la carrera.

Gracias a mis mejores amigos que han estado siempre presente a lo largo de mi carrera universitaria dándome su apoyo y ayuda incondicional Esteban, Jefferson y Emilio.

Gracias a todos mis amigos y compañeros que de una forma u otra estuvieron presentes durante mi desarrollo académico.

Me gustaría agradecer a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, al proyecto BIO-GEEC y al Instituto Nacional de Biodiversidad – INABIO por darme la apertura para el uso de sus laboratorios y así lograr concluir mi trabajo de investigación.

Índice de contenidos

Informe de Copyleaks.....	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de Autoría.....	4
Autorización de Publicación.....	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas	12
Índice de figuras	13
Resumen.....	16
Abstract	17
Capítulo I: Introducción.....	18
Planteamiento del problema	18
Justificación del problema.....	19
Objetivos:	21
General:	21
Específicos:.....	21
Hipótesis	21
Capítulo II: Marco teórico.....	21

Páramo andino	21
Distribución de páramos en el Ecuador	22
Parque Nacional Cayambe-Coca.....	26
Actividades que amenazan los páramos	28
Importancia de los páramos	29
Familia Asteraceae	30
Generalidades de la familia	30
Estado actual de la familia en el Ecuador	31
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	32
<i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.)	34
<i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	37
Descriptores morfológicos.....	39
Viabilidad de semillas	40
Métodos colorimétricos.....	40
Prueba de coloración con tetrazolio	41
Prueba del índigo-carmín.....	42
Radiografía con rayos X	42
Ensayo de germinación	43
Prueba de separación del embrión	43
Prueba de germinación estándar	44
Estrategias de conservación de flora andina.....	44
Bancos de germoplasma.....	44
Germinación in vitro de semillas	45
Herbarios.....	46

	10
Capítulo III: Metodología	46
Material vegetal	46
Descripción morfológica de las semillas.....	47
Tamaño de las semillas.....	47
Peso de las semillas.....	48
Cantidad de semillas presentes en cada flor	48
Estado de madurez de las semillas	48
Humedad relativa de las semillas	48
Viabilidad de las semillas	49
Prueba de coloración con tetrazolio	49
Prueba de coloración con Índigo carmín	50
Desinfección de las semillas.....	51
Ensayos de germinación de semillas.....	51
Análisis estadísticos	52
Estadística Descriptiva de la Caracterización morfológica	52
Ensayo de desinfección	53
Ensayo de germinación respuesta al AG3 y temperatura.....	54
Capítulo IV: Resultados.....	55
Descriptores morfológicos de la familia Asteraceae	55
Tamaño de las semillas.....	55
Peso de las semillas.....	56
Cantidad de semillas presentes en cada flor	58
Estado de madurez de las semillas	59
<i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.)	60
<i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	61

<i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	61
Humedad relativa de las semillas	62
Prueba de coloración con tetrazolio.....	63
<i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.)	63
<i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	65
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	66
Prueba de coloración con Índigo carmín.....	67
<i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.)	68
<i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	69
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	70
Desinfección de las semillas.....	72
Ensayo de germinación de semillas	77
Capítulo V: Discusión	86
Descripción morfológica de las semillas.....	86
Viabilidad de semillas	89
Desinfección y germinación de semillas de la familia Asteraceae	91
Capítulo VI: Conclusiones	93
Capítulo VII: Recomendaciones	94
Capítulo VIII: Bibliografía	95
Capítulo IX: Apéndices	102

Índice de tablas

Tabla 1. Distribución por provincia de los tipos de páramo existentes en el Ecuador.....	23
Tabla 2. Composición de los medios de cultivo utilizados para germinación <i>in vitro</i>	52
Tabla 3. Diseño experimental para la desinfección.....	53
Tabla 4. Diseño experimental para la germinación.	54
Tabla 5. Tamaño promedio de las semillas, cipsela y vilano en las especies estudiadas.	56
Tabla 6. Peso promedio de los 10 lotes de 100 semillas de las especies estudiadas.	57
Tabla 7. Cantidad promedio de semillas por flor de las tres especies de la familia Asteraceae.	58
Tabla 8. Peso y porcentajes de humedad relativa de los lotes de 100 semillas de la familia Asteraceae.....	63
Tabla 9. Valores promedio de semillas contaminadas en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord. y <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) en cada uno de los tratamientos.....	74
Tabla 10. Porcentaje de semillas contaminadas en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord. y <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos. ...	76
Tabla 11. Valores promedio de semillas germinadas en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord. y <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos.....	82
Tabla 12. Porcentaje de semillas germinadas en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord. y <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos. ...	83

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación georeferencial con vista satelital de la Reserva Ecológica Cayambe – Coca.....	27
Figura 2. Ubicación georeferencial con vista satelital del callejón interandino con presencia de <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	33
Figura 3. Inflorescencia y semillas de tipo aquenio de <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.	34
Figura 4. Ubicación georeferencial con vista satelital de Colombia, Ecuador y Perú donde existe presencia de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.).....	35
Figura 5. Inflorescencias de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.) en la Reserva Ecológica Cayambe – Coca	36
Figura 6. Ubicación georeferencial con vista satelital de Ecuador donde existe presencia de <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	37
Figura 7. Ejemplar de <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) en la Reserva Ecológica Cayambe – Coca.	38
Figura 8. Formación de formazan (Trifenil- formazano) a partir de Cloruro de 2,3,5 - trifeniltetrazolio.....	41
Figura 9. Descripción de las partes de la semilla de la familia Asteraceae	47
Figura 10. Patrón de coloración para la determinación de embriones viables en las especies.	50
Figura 11. Tamaño de semillas de la familia Asteraceae.....	55
Figura 12. Comparación del peso de los lotes de 100 semillas de las especies estudiadas.	57
Figura 13. Comparación de la cantidad de semillas que poseen las especies estudiadas.	59
Figura 14. Representación de semillas maduras e inmaduras en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.).....	60

Figura 15. Representación de semillas maduras e inmaduras en <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	62
Figura 16. Semillas de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.) al finalizar los ensayos de viabilidad.	64
Figura 17. Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.).....	64
Figura 18. Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	65
Figura 19. Resultados obtenidos en ensayos de viabilidad en embriones de <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	66
Figura 20. Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia de embrión, ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	67
Figura 21. Resultados obtenidos en ensayos de viabilidad en embriones de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.).....	68
Figura 22. Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada a partir del ensayo con índigo carmín de la especie <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.).....	69
Figura 23. Diagrama del porcentaje de semillas viables de la especie <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.).....	70
Figura 24. Resultados de los ensayos de viabilidad en índigo carmín.....	71
Figura 25. Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia de embrión o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en Índigo carmín de la especie <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	72

Figura 26. Porcentaje de contaminación de semillas de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) y <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	73
Figura 27. Diagrama de barras de los porcentajes de desinfección en las especies de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) y <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	76
Figura 28. Semillas germinadas con crecimiento de radícula de al menos 2mm.....	78
Figura 29. Porcentaje de germinación evaluado a diferentes concentraciones y temperaturas en las especies <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) y <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	79
Figura 30. Porcentajes de desinfección en las especies de <i>Diplostephium hartwegii</i> (Hieron.), <i>Gynoxys acostae</i> (Cuatrec.) y <i>Dorobaea pimpinellifolia</i> (Kunth) B. Nord.....	84

Resumen

Los páramos son ecosistemas delicados capaces de albergar gran cantidad de especies vegetales y animales. Se cree que existen alrededor de 4000 especies vegetales diferentes y cerca del 60% son endémicas. Ecuador a pesar de representar solo el 0.02% de la superficie terrestre se encuentra incluido en la lista de los 17 países megadiversos. El presente estudio tiene como objetivo realizar estudios morfológicos, de viabilidad y de germinación *in vitro* para el establecimiento de un banco de semillas. Se colectaron semillas en el Parque Nacional Cayambe - Coca de tres especies de la familia Asteraceae (*Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.)) para el análisis su tamaño, peso, cantidad de semillas presentes por flor, estado de madurez, humedad relativa, pruebas de viabilidad y concentración óptima de hipoclorito de sodio (NaClO) y ácido giberélico (AG3) para la germinación *in vitro*. Los resultados mostraron que los porcentajes de viabilidad en las tres especies van desde el 7 al 55%. La concentración óptima de NaClO para el ensayo de desinfección de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) es 5% por un periodo de 5 minutos. En la germinación *in vitro* de las semillas, se obtuvo que una concentración de AG3 de 2.5mg/L favorece la germinación de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Diplostephium hartwegii* (Hieron.). La información generada a partir de este estudio es una línea base para programas de conservación de recursos genéticos y restauración de ecosistemas alto andinos.

Palabras clave: viabilidad, germinación, desinfección, Asteraceae

Abstract

The moors are delicate ecosystems capable of hosting a large number of plant and animal species. It is believed that there are about 4,000 different plant species and about 60% are endemic. Ecuador, despite representing only 0.02% of the land surface, is included in the list of the 17 megadiverse countries. The objective of this study is to carry out morphological, viability and *in vitro* germination studies for the establishment of a seed bank. Seeds were collected in the Cayambe - Coca National Park of three species of the Asteraceae family (*Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) and *Gynoxys acostae* (Cuatrec.)) for the analysis of their size, weight, number of seeds present per flower, state of maturity, relative humidity, tests viability and optimal concentration of sodium hypochlorite (NaClO) and gibberellic acid (AG3) for *in vitro* germination. The results showed that the percentages of viability in the three species range from 7 to 55%. The optimal concentration of NaClO for the disinfection test for *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) and *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) is 5% for a period of 5 minutes. In the *in vitro* germination of the seeds, it was found that an AG3 concentration of 2.5mg/L favors the germination of *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. and *Diplostephium hartwegii* (Hieron.). The information generated from this study is a baseline for programs for the conservation of genetic resources and restoration of high Andean ecosystems.

Keywords: viability, germination, disinfection, Asteraceae

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del problema

Ecuador ocupa una superficie de 256.370 km², lo que representa aproximadamente el 0,02% de la superficie terrestre a escala mundial, a pesar de ello se encuentra incluido en la lista de los 17 países megadiversos. La amplia biodiversidad que presenta se debe principalmente a la presencia de la Cordillera de los Andes que da origen a varios pisos altitudinales. Esto permite dividir al país en 4 regiones naturales distintas: Región Litoral o Costa, Región Interandina o Sierra, Región Amazónica u Oriente y Región Insular o Galápagos (Bravo, 2014). Las 4 regiones naturales albergan diferentes microclimas, tipos de suelo, pisos altitudinales, temperatura, entre otros que provocan la gran riqueza biológica del país y la presencia de varios ecosistemas con características únicas (Bravo, 2014).

Uno de estos ecosistemas son los páramos andinos. Los páramos se caracterizan por su amplia biodiversidad y gran cantidad de especies endémicas, debido principalmente a las condiciones ambientales que presentan, la gran cantidad de cuencas hidrográficas, entre otras (Moreno *et al.*, 2019). Los páramos en el Ecuador, están comprendidos entre aproximadamente los 3000 a 5000 m.s.n.m. Según (Hofstede *et al.*, 2003), los páramos se clasifican en páramo bajo, páramo medio y súper páramo, tomando como referencia las características biogeográficas, funciones ecosistémicas y vegetación que presentan.

Los páramos poseen una gran importancia a nivel mundial, debido principalmente a que el 80% de los páramos del mundo se encuentran en los países de Venezuela, Ecuador, Perú, Costa Rica y Colombia. Se conoce que aproximadamente entre el 80% y 90% de habitantes en el Ecuador dependen de la regulación hídrica, la agro diversidad y el turismo que brindan las plantas, los suelos y el ambiente de los páramos andinos (Minga *et al.*, 2016).

Los páramos cumplen con funciones fundamentales. Las especies de plantas que encontramos en los páramos son capaces de prevenir inundaciones cuando las precipitaciones son abundantes y prevenir sequías cuando son escasas, por lo que su papel es importante para disminuir el impacto erosivo del suelo. La capacidad de retener líquidos de estas plantas provee un suministro de agua potable para las poblaciones cercanas, así como de agua para el riego de cultivos y la producción de hidroelectricidad (Roper, 2020).

Lamentablemente el cambio climático, la intervención humana, la extracción y comercio ilegal tienen un impacto negativo en el ecosistema. Los cambios en las condiciones climáticas provocan la pérdida de especies a una velocidad alarmante, reduciendo su población y el área donde se localizan.

De igual manera, los numerosos asentamientos humanos al pie de la cordillera de los Andes han provocado la disminución progresiva y vertiginosa de las condiciones naturales de los ecosistemas de montaña. La adecuación y ampliación de tierras para las prácticas agrícolas, la deforestación, el pastoreo y la quema indiscriminada también son problemas graves que afectan a los páramos. Se estima que el porcentaje de pérdida tanto de especies como del área del páramo se da entre el 10% al 40% en ciertos lugares (Diazgranados *et al.*, 2021). Debido a estos problemas, es importante la elaboración de estrategias que permitan conservar la biodiversidad de los páramos.

Justificación del problema

Los páramos son ecosistemas delicados capaces de albergar gran cantidad de especies vegetales y animales. Se cree que existen alrededor de 4000 especies vegetales diferentes y cerca del 60% son endémicas. Las especies endémicas son propias de una región geográfica determinada ya sea provocado por el clima, relieve u otras características importantes. Siendo muchas de ellas específicas de un lugar determinado.

Los páramos andinos participan en la gestión de recursos hídricos basados en la recolección, regulación, mantención y suministro de agua (Carrillo-Rojas *et al.*, 2019). Adicionalmente, los páramos son importantes sumideros de carbono, capaces de almacenar seis veces más carbono que los bosques tropicales (Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019)

Actualmente, los estudios de ecosistema de los páramos y sus recursos genéticos, son escasos dentro del país, aunque existe información relevante en países cercanos como Colombia y Perú (Rivera Lazo, 2019). Es por esto, que el contar con información de los recursos genéticos vegetales enfocada a nuestro país es fundamental, debido a que las especies de páramo son las más susceptibles a problemas como el cambio climático.

Debido a estos problemas, se busca aumentar la cantidad de información existente, además del establecimiento de estrategias alternativas viables que permitan la conservación de especies vegetales de páramo. Realizar planes de conservación es muy importante, ya que actualmente contamos con una gran biodiversidad que debemos conservar. El establecimiento de un banco de germoplasma es una opción para la conservación de especies en peligro de extinción o en situaciones de elevada amenaza (Sánchez-Chiang & Jiménez, 2010).

Este trabajo pretende establecer un banco de semillas alto andinas (HANS-BANK) en la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” así como ensayos *in vitro* que permitan la conservación de estas delicadas especies. Este proyecto será posible gracias al apoyo de BIO-GEEC, una colaboración entre investigadores de varias universidades alemanas y universidades ecuatorianas que permite trabajar en la preservación de la biodiversidad ecuatoriana.

Objetivos:**General:**

- Caracterizar la morfología y germinar semillas de la familia Asteraceae en Bosques Andinos del Ecuador.

Específicos:

- Recolectar muestras de semillas de la familia Asteraceae.
- Identificar la morfología de las especies de la familia Asteraceae con énfasis en sus frutos y semillas.
- Analizar la viabilidad de las semillas de la familia Asteraceae mediante la pigmentación del embrión con pruebas colorimétricas.
- Determinar los parámetros de germinación de las semillas de la familia Asteraceae.

Hipótesis

Las pruebas colorimétricas y los ensayos de germinación permiten determinar el porcentaje de viabilidad de las semillas.

Capítulo II: Marco teórico**Páramo andino**

Los páramos andinos se ubican en la alta montaña, entre los 3 000 y 5 000 m.s.n.m, donde se integran las nieves perpetuas. Los páramos son conocidos como ecosistemas de altura encontrándose en los Andes septentrionales, con un espacio geográfico extendido desde Ecuador, Colombia, Venezuela y Perú, con coordenadas aproximadas de latitud entre los 11°N y 8°S (Hofstede *et al.*, 2003).

Su ubicación les confiere una ecología específica siendo ecosistemas estratégicos que les permite albergar de fauna y flora endémicos, con una gran diversidad biológica, valor cultural y múltiples servicios ecosistémicos. Las cotas de altura del páramo le otorgan un clima húmedo y frío con el 30% a 60% de humedad relativa, altas precipitaciones entre 500 y 2 000 mm anuales y crecimiento de vegetación abundante. La vegetación predominante son pajonales, rosetales, arbustales y humedales, los que dan la apariencia de estar sobre una alfombra tupida verde (Camacho, 2014).

Distribución de páramos en el Ecuador

En Ecuador, los páramos se encuentran a una altitud promedio de 3 500 m.s.n.m., con variaciones de 2 800 msnm en los páramos del sur y de 4 000 msnm en bosques andinos cerrados (Hofstede *et al.*, 2003). Las variaciones en los límites de altitud se deben a las condiciones geológicas, climáticas y antrópicas del país. Las condiciones climáticas provocan oscilaciones en la temperatura que varían en el día hasta 20°C y 2 a 10°C de media anual (Beltrán *et al.*, 2009).

La temperatura y altura tienen efecto sobre la vegetación permitiendo su diferenciación en diversos pisos climáticos de acuerdo a estas características:

- Subpáramos, ubicados a una altitud de 3 000 a 3 600 msnm. Se caracteriza por tener temperaturas promedio entre 6°C a 12°C. La vegetación predominante son arbustos y árboles bajos, tales como los géneros: *Valeriana*, *Gynoxys*, *Diplostephium*, *Pentacalia*, *Monticalia*, *Chuquiraga*, *Berberis*, *Hypericum*, *Gnaphalium*, *Lupinus*, *Loricaria*, *Calceolaria* y *Hesperomeles* (K. Beltrán *et al.*, 2009); (Camacho, 2014)
- Páramo, está en las zonas superiores a 3 600 m.s.n.m. La temperatura promedio es de 5°C, con vegetación predominante de *Poáceas* amacolladas o en penachos, rosetas

gigantes, arbustos xerofíticos y parches de bosques monotípicos de *Polylepis*, *Gynoxys* y *Buddleja*.

- Superpáramo, se encuentra a altitudes de 4 100 a 4 800 m.s.n.m., con dos franjas altitudinales y una temperatura promedio es de 2°C.
 - Superpáramo inferior
 - Superpáramo superior

Los páramos ecuatorianos presentan diversos tipos de suelos, lo que hace posible una división según su composición. Se pueden identificar dos tipos de suelos en los páramos al norte, centro y sur del país.

- Los suelos del norte y centro son jóvenes y están compuestos de cenizas volcánicas. Se los reconoce por su color negruzco, gruesos, poca diferenciación entre los horizontes, retención de agua, alta permeabilidad, baja densidad y alto contenido de aluminio y fósforo (Hofstede *et al.*, 2003).
- Los suelos en el sur, carecen de cenizas volcánicas jóvenes debido a la erosión y baja actividad volcánica.

En 1999, el Proyecto Páramo realizó un mapeo y propuso una clasificación vegetal para los páramos por encima de los 3 000 m.s.n.m que han sido transformados de alguna manera por acción del hombre. En esta clasificación se menciona al páramo de pajonal, de frailejones, herbáceo de almohadillas, herbáceo de pajonal y almohadillas, pantanoso, arbustivo del sur, seco, sobre arenales, superpáramo y superpáramo azonal. En la Tabla 1 se muestra la distribución de estos páramos por provincias en el Ecuador.

Tabla 1

Distribución por provincia de los tipos de páramo existentes en el Ecuador.

Provincias	Tipos de páramo
Azuay	Páramo de pajonal Páramo seco
Bolívar	Páramo de pajonal Páramo herbáceo de almohadillas Páramo sobre arenales Superpáramo
Cañar	Páramo de pajonal Páramo seco
Carchi	Páramo de pajonal Páramo de frailejones Páramo seco Superpáramo
Chimborazo	Páramo de pajonal Páramo herbáceo de almohadillas Páramo seco Páramo sobre arenales Superpáramo
Cotopaxi	Páramo de pajonal Páramo herbáceo de almohadillas Páramo pantanoso Páramo seco Superpáramo Superpáramo azonal
El Oro	Páramo de pajonal Páramo seco
Esmeraldas	Páramo de pajonal

Imbabura	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
	Páramo herbáceo de pajonal y almohadillas
	Superpáramo

Loja	Páramo arbustivo del sur
	Páramo de pajonal
	Páramo seco

Morona Santiago	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
	Páramo seco
	Superpáramo

Napó	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
	Páramo herbáceo de pajonal y almohadillas
	Páramo pantanoso
	Superpáramo
	Superpáramo azonal

Pichincha	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
	Páramo herbáceo de pajonal y almohadillas
	Páramo pantanoso
	Páramo seco
	Superpáramo
Superpáramo azonal	

Sucumbíos	Páramo de frailejones
	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
	Páramo herbáceo de pajonal y almohadillas

	Páramo de frailejones
	Páramo de pajonal
	Páramo herbáceo de almohadillas
Tungurahua	Páramo herbáceo de pajonal y almohadillas
	Páramo pantanoso
	Páramo sobre arenales
	Superpáramo
	Páramo arbustivo del sur
Zamora Chinchipe	Páramo de pajonal
	Páramo seco

Nota: La tabla muestra los diversos tipos de páramos que se pueden encontrar en cada provincia del Ecuador. Recuperada de (Hofstede *et al.*, 2003).

La diversidad de especies que existe en los páramos, junto con las presiones antropogénicas a los cuales están expuestos, los han convertido en zonas protegidas. Una de estas zonas protegidas es el Parque Nacional Cayambe - Coca, el cual presenta una gran biodiversidad de especies de flora y fauna, además de importantes cuencas hidrográficas. Según (Montúfar, 2008), en este parque existen aproximadamente 100 especies de plantas endémicas. Los tipos de páramos que encontramos en esta reserva son: el páramo de pajonal, páramo pantanoso, páramo herbáceo de almohadillas y superpáramo.

Parque Nacional Cayambe-Coca

El Parque Nacional Cayambe - Coca se encuentra ubicada dentro de los dominios de las provincias de Pichincha, Imbabura, Sucumbíos y Napo (Figura 1). Esta zona presenta temperaturas que van desde los 5 hasta los 25 °C de acuerdo a su altitud. Es una de las áreas protegidas con mayor diversidad de flora, fauna y cultural del Ecuador, con una superficie de 403 103 hectáreas. Esta reserva fue integrada al Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Ecuador el 17 de noviembre de 1970 (Montúfar, 2008).

Figura 1

Ubicación georeferencial con vista satelital de la Reserva Ecológica Cayambe – Coca.



Nota: El gráfico indica la limitación de la Reserva Ecológica Cayambe – Coca que se localiza al nororiente de Ecuador, en las provincias de Pichincha, Imbabura, Napo y Sucumbíos. Tomado de BirdLife International por BirdLife Ecuador, 2022, Parque Nacional Cayambe-Coca.

Los dominios del Parque Nacional Cayambe - Coca se ubican entre la región Andina y región Amazónica, los cuales se dividen en zona alta y zona baja. La zona alta se encuentra en la región Andina y está comprendida entre los 2000 a 5790 m.s.n.m. En la zona se encuentran los volcanes Cayambe (5 790 m.s.n.m.), Sarahurco (4 725 m.s.n.m.) y Puntas (4 425 m.s.n.m.). Abarca las comunidades de Oyacachi y Papallacta, con una vegetación de humedales y bosques andinos. La zona baja comprendida en la Amazonía a una altitud de 600 a 1 000 m.s.n.m. El volcán Reventador (3 485 m.s.n.m) se encuentra en la zona baja, junto a la comunidad Sinangüé en la provincia de Sucumbíos. Dominada por bosques subtropicales, río Quijos, lagos, cascadas y cuencas hidrográficas (Lasso, 2009). Dominada por bosques subtropicales, río Quijos, lagos, cascadas y cuencas hidrográficas (Lasso, 2009).

El Parque Nacional Cayambe - Coca posee gran biodiversidad por lo que es considerada una de las reservas más grandes del Ecuador. Su importancia radica en la presencia de una variedad de ecosistemas donde habitan alrededor de 900 especies de aves, 200 especies mamíferos, 116 tipos de anfibios, 140 tipos de reptiles y 100 tipos de plantas endémicas (Montúfar, 2008).

Actividades que amenazan los páramos

Entre las principales causas de la pérdida de la biodiversidad de plantas a escala mundial son: el aumento de la población humana, el cambio de uso de suelo, la minería, la deforestación, el sobrepastoreo, la extracción y comercio ilegal, la introducción de especies exóticas y el cambio climático (Rivero-Guerra, 2020).

Por los altos grados de biodiversidad que presentan los páramos y las actividades antes mencionadas, el bioma del páramo es considerado un *Hotspot*, es decir, cuenta con una gran riqueza de especies de plantas endémicas, pero también tiene mayor grado de amenaza (Morales-Betancourt & Estévez-Varón, 2006). Siendo las prácticas agrícolas, de pastoreo y cambio climático las principales actividades de destrucción. Los páramos son más sensibles al cambio climático, debido al acondicionamiento de la vegetación a altitudes altas y la falta de capacidad para adaptarse a cambios drásticos en el ambiente o cualquier alteración (Isch, 2012). Además de causar el desaparecimiento de glaciares y el desplazamiento de los límites por las migraciones altitudinales (Hofstede *et al.*, 2003; Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019).

Mientras el incremento de las fronteras agrícolas en las zonas altas mediante la tala y quema de bosques nativos, para el uso de nuevo suelo y la praderización, causan alteraciones en el ambiente (Camacho, 2014). Las alteraciones del ambiente conllevan la desaparición de hábitat provocando la pérdida de vegetación endémica, así como la erosión del suelo (GREENPACE, 2013).

La actividad del pastoreo en el páramo genera la introducción de especies foráneas en el ecosistema. Los ganados vacuno, ovino y caprino establecidos en el páramo necesitan mayor consumo de alimento (forraje y agua), lo que genera destrucción de la vegetación y alteraciones de los recursos hídricos (Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019).

Importancia de los páramos

Los páramos son una fuente de recursos hídricos para los valles interandinos, además de poseer suelos porosos y de baja densidad que permiten la retención hidráulica y el depósito de carbono (Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019). Los páramos abarcan una extensión del 7% de territorio ecuatoriano, siendo los nevados parte de estos ecosistemas, los cuales albergan la mayoría de vegetación: bosques, matorrales, pajonales y frailejones.

Los suelos de los páramos andinos por su naturaleza volcánica presentan una topografía accidentada (Hofstede *et al.*, 2003). La erosión de las cenizas de la actividad volcánica ha dejado al descubierto capas volcánicas antiguas que presentan características físicas como la baja densidad, presencia de microporos, alta retención de agua junto a un reservorio de agua, fijación de fósforo, acumulación de materia orgánica y depósitos de carbono, convirtiéndolos en sumideros de carbono (Llambí *et al.*, 2012).

La importancia biológica del páramo radica en la diversidad de flora y fauna que posee, además de albergar muchas especies endémicas (Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019). Los seres vivos que habitan en las zonas de los páramos se han adaptado a climas extremos, con temperaturas bajas en la noche, radiaciones altas en el día, humedad, presión baja, entre otras. La adaptación de la biodiversidad a estas condiciones extremas ha otorgado a este ecosistema plantas y animales que no se encuentran en otras partes del mundo (Chuncho-Morocho & Chuncho, 2019).

Este bioma también cuenta con importancia social, cultural y económica. Las actividades más destacadas económicamente son el turismo y la recreación en los atractivos naturales como las cascadas (Morales-Betancourt & Estévez-Varón, 2006). En el ámbito cultural, los páramos son reconocidos por ser las rutas de comunicación del Tahuantinsuyo, donde se han conservado los caminos Incas por los cuales transitaban los chasquis (Mena & Hofstede, 2006). En el ámbito cultural, los páramos son reconocidos por ser las rutas de comunicación del Tahuantinsuyo, donde se han conservado los caminos Incas por los cuales transitaban los chasquis (Hofstede *et al.*, 2003).

Familia Asteraceae

Una de las familias de plantas vasculares más numerosas en el reino vegetal es la familia Asteraceae. Se estima que existen alrededor de 1 535 géneros y de entre 23 000 a 32000 especies, representando el 8% de la flora mundial (Tapia, 2010). En esta familia es posible encontrar desde plantas herbáceas, subarbustos, arbustos hasta incluso árboles. Se encuentran distribuidas ampliamente a lo largo del mundo, en casi todas las latitudes y altitudes, en zonas que van desde el nivel del mar hasta zonas de alta montaña. Su diversidad se les atribuye a sus excelentes mecanismos de dispersión y a su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ecológicas (Fernández, 2018).

Generalidades de la familia

El término Asteraceae se deriva del griego Aster = estrella, esto debido a la forma que generalmente presenta su inflorescencia. Las especies que integran la familia Asteraceae son un grupo altamente heterogéneo respecto a la morfología de sus partes vegetativas (raíces, tallos, hojas, flores y frutos) ya que presentan varios tipos de formas, disposición y arreglo (Tapia, 2010). Por otro lado, en cuanto a la morfología de la inflorescencia son verdaderamente inconfundibles, se presentan con una cabezuela o capítulo. La cabezuela es una estructura

altamente especializada, con funciones de atracción de los vectores de polinización, aparenta ser una sola flor, pero está compuesta por decenas o incluso centenares de flores diminutas insertadas en el receptáculo. Los pétalos que rodean la cabezuela son flores zigomorfas, pentámeras con una porción inferior tubular y uno de los lóbulos prolongado de forma cintiforme llamada lígula. Poseen flores generalmente unisexuales o estériles y las flores del centro o disco son actinomorfas, tubulares coronadas por 5 lóbulos y hermafroditas (Aguilar, 2013).

Poseen gran relevancia desde el punto de vista económico, por la gran variedad de usos que se les atribuyen: comestibles en el caso de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) y alcachofa (*Cynara scolymus* L.), ornamentales entre las que podemos encontrar a especies de los géneros *Aster*, *Calendula*, *Chrysanthemum*, *Dahlia*, *Gerbera* y medicinales como manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.), artemisa (*Artemisia vulgaris* L.). Se pueden encontrar además especies de uso a nivel industrial como son las semillas oleaginosas del girasol (*Helianthus annuus* L.) y del cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) (Tapia, 2010). En el caso de conservación ambiental, se pueden destacar varias especies que ayudan a evitar la erosión de suelos, mediante fijación o captación de agua entre ellos destacan los géneros *Dorobaea*, *Diplostephium*, *Gynoxys*.

Estado actual de la familia en el Ecuador

La familia Asteraceae se encuentra muy escasamente estudiada en el Ecuador, esto a pesar de constituir la segunda familia en importancia en cuanto a número de especies. Se conoce que en Ecuador existen 217 géneros, de los cuales 7 son endémicos. Se han descrito 918 especies incluyendo 370 especies endémicas. El endemismo representa el 8% del total de la flora nacional, que alberga 746 especies nativas en el bosque andino (Rivero-Guerra, 2020).

A pesar de la importancia que presenta la familia Asteraceae en el país, aún no es posible encontrar artículos relevantes sobre estos recursos genéticos. Por ello, es importante contar con datos morfológicos y de ecología que permitan conservar y conocer el estado de especies en posible riesgo ecológico.

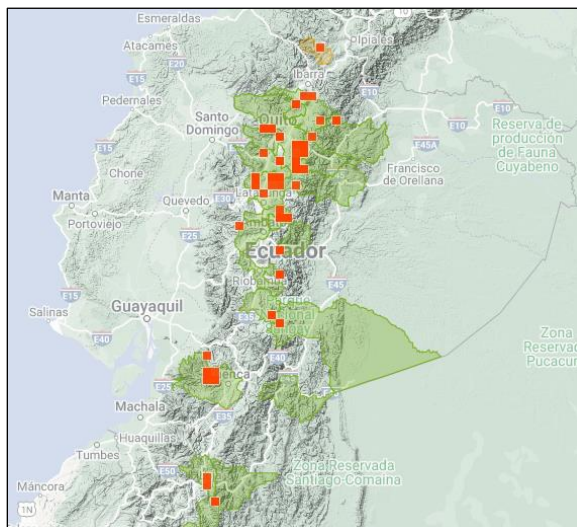
La familia Asteraceae abarca una gran cantidad de especies útiles para el ser humano en el campo medicinal, industrial, agrícola, ambiental y ecológico. En el aspecto ecológico cumplen un papel fundamental en la estructura y funcionamiento de los diferentes biomas, debido a las vastas extensiones que cubren, configurando la fisonomía de los ambientes naturales (Vitto & Petenatti, 2009). Por otro lado, se conoce que el género *Dorobaea* y *Diplostephium* poseen gran importancia en la industria melífera por su capacidad de atraer polinizadores, debido principalmente a los vistosos colores que presentan sus inflorescencias. De igual manera, el género *Gynoxys* en el campo ecológico, previene la erosión de suelos y provoca una compactación de estos, lo que previene aludes o deslaves. En base a lo descrito, se busca ampliar la información de estas especies para elaborar futuros planes de conservación.

***Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.**

Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord. es una especie conocida comúnmente como manzanillón de páramo, que pertenece a la clase *Magnoliopsida*, orden *Asterales*, familia Asteraceae y género *Dorobaea* (Fernández, 2018). Se localiza en los países de Ecuador, Colombia y Perú entre los 2000 y 4500 m.s.n.m, pero de manera más abundante en el callejón interandino ecuatoriano como se muestra en la figura 2.

Figura 2

Ubicación georeferencial con vista satelital del callejón interandino con presencia de Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.



Nota: El gráfico muestra los puntos exactos donde se ha evidenciado la presencia de la especie, en la región Sierra además de puntos tanto en Perú como en Colombia. Tomado de iNaturalist (2022) California Academy of Sciences & National Geographic Society.

Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord., es una planta de tipo herbácea, capaz de crecer hasta un máximo de 25 cm de alto. Esta planta posee hojas de tipo pinnado-pinnatisectas dispuestas en forma de roseta en la base, con numerosos lóbulos e incisiones pronunciadas las cuales son de color verde brillante en el haz. La inflorescencia del capítulo solitario, se eleva sobre el pedúnculo que se encuentra formado por cabezuelas de hasta 7cm de diámetro. Las flores son de dos tipos: marginales irregulares (aproximadamente 20) que presentan una lígula de hasta 30 mm de largo, vistosas de color amarillo brillante y flores internas de tipo tubular (aproximadamente 50) de color anaranjado. Los frutos son de tipo aquenio con una corona de tricomas sedosos blancos de cerca de 10 mm de largo (Minga *et al.*, 2016). En la figura 3 se muestra la inflorescencia y las semillas de tipo aquenio.

Figura 3

Inflorescencia y semillas de tipo aquenio de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.



Nota: El gráfico muestra a *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.: a) en floración y b) con semillas de tipo aquenio. Tomado por: Guamán (2022)

Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord. generalmente habita en pajonales húmedos y sitios rocosos, de igual manera en taludes y bordes de quebradas. Esta especie sirve como alimento para pequeños y medianos roedores que habitan el páramo. Adicionalmente, es capaz de atraer insectos y facilitar el intercambio de polen debido al color vistoso que presenta su inflorescencia. Finalmente, se encuentra asociada de manera estrecha con especies arbustivas de los géneros *Loricaria*, *Monnina* y *Gynoxys*.

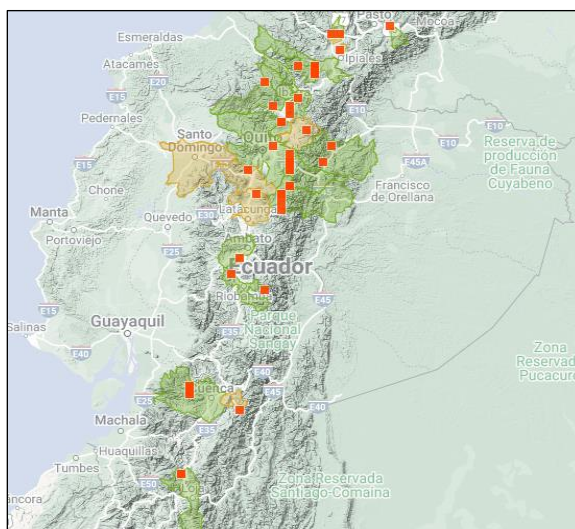
***Diplostephium hartwegii* (Hieron.)**

Diplostephium hartwegii (Hieron.) es una especie conocida comúnmente como contrahierba, que pertenece a la clase *Magnoliopsida*, orden *Asterales*, familia *Asteraceae* y género *Diplostephium*. Es posible encontrarla entre los 2500 y 4500 m.s.n.m (Fernández, 2018). Se localiza en los Andes del Sur de Colombia y distribuida a lo largo de la región

interandina ecuatoriana, con mayor predominancia en la zona norte como muestra en la figura 4.

Figura 4

Ubicación georeferencial con vista satelital de Colombia, Ecuador y Perú donde existe presencia de Diplostephium hartwegii (Hieron.).



Nota: El gráfico muestra los puntos exactos donde se ha evidenciado la presencia de la especie, en la región Sierra además de puntos tanto en Perú como en Colombia. Tomado de iNaturalist (2022) California Academy of Sciences & National Geographic Society.

Diplostephium hartwegii (Hieron.), es un arbusto frondoso, que puede llegar a alcanzar una altura de hasta 4m. Esta planta posee tallos teretes con abundantes ramificaciones que presentan un crecimiento indefinido, ramas alargadas infértiles y ramas cortas con capítulos terminales solitarios y pubescentes hacia las ramas apicales. Esta especie posee hojas desde la base, simples, subsésiles y dispuestas en forma de espiral con un haz brillante y un envés lanuginoso. Las inflorescencias presentan cabezuelas terminales con entre 28–60 flores unisexuales y bisexuales con involucro campanulado. Adicionalmente, posee flores marginales irregulares alrededor de 12 por cabezuela que presentan una lígula color lila claro

de 12 mm de largo y las flores centrales tubulares de color amarillo formadas por 5 lóbulos (Romoleroux *et al.*, 2019a). Los frutos son de tipo aquenio piloso con una corona de cerdas rojizas y papus persistente de color morado a lila como muestra la figura 5.

Figura 5

Inflorescencias de Diplostephium hartwegii (Hieron.) en la Reserva Ecológica Cayambe – Coca



Nota: El gráfico muestra a *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) en estado de floración. Tomado por: Guamán (2022).

Diplostephium hartwegii (Hieron.) generalmente habita en bosques alto andinos y páramos. Esta especie cumple funciones importantes en el páramo siendo capaz de almacenar una buena cantidad de agua en tiempo de sequía. Además, previene la erosión y mantiene el suelo apto para otras especies vegetales. En el Parque Nacional Cayambe – Coca es posible encontrarlos cerca de bosques de *Polylepis* o matorrales de *Gynoxys*, generalmente sobre suelos superficiales.

Gynoxys acostae (Cuatrec.)

Gynoxys acostae (Cuatrec.) es una especie conocida comúnmente como piquil o yawill, que pertenece a la clase *Magnoliopsida*, orden *Asterales*, familia *Asteraceae* y género *Gynoxys*. Es posible encontrarla entre los 3000 y 4000 m.s.n.m (Fernández, 2018). Se localiza exclusivamente en el Ecuador siendo endémica de este país, en las provincias de Napo, Pichincha y Tungurahua como muestra la figura 6.

Figura 6

Ubicación georeferencial con vista satelital de Ecuador donde existe presencia de Gynoxys acostae (Cuatrec.).



Nota: El gráfico muestra los puntos exactos donde se ha evidenciado la presencia de la especie, endémica de la región. Tomado de iNaturalist (2022) California Academy of Sciences & National Geographic Society.

Gynoxys acostae (Cuatrec.) se presenta como arbusto o como un árbol pequeño, que puede llegar a alcanzar una altura entre 3 hasta 5m. Esta planta posee tallos teretes, estriados con abundantes nudos lanuginosos. Adicionalmente, posee hojas opuestas, enteras, oblongo-lanceoladas y envés lanato - tomentoso. Las inflorescencias se presentan en capítulos

radiados, arreglados en panículas terminales con entre 20–24 flores unisexuales y bisexuales de color amarillo. Los frutos son de tipo aquenio piloso con entre 5–10-costatos y vilano de aristas en varias series. En la figura 7 se muestra un ejemplar de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) (Romoleroux *et al.*, 2019b).

Figura 7

Ejemplar de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en la Reserva Ecológica Cayambe – Coca.



Nota: El gráfico muestra un ejemplar de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en la Reserva Ecológica Cayambe – Coca. Tomado por Guamán (2022)

Gynoxys acostae (Cuatrec.) generalmente habita en bosques montanos, piemontanos y páramos. Esta especie cumple funciones fundamentales en el páramo, permite evitar la erosión del suelo y es capaz de reforestar terrenos afectados, al ser una especie que antecede a la recuperación del bosque. En el Parque Nacional Cayambe – Coca es posible encontrarlos dentro parches extensos formando bosques de vegetación mixta. Se sabe que asentamientos cercanos utilizan su madera en la elaboración de postes y carbón (Minga *et al.*, 2016).

Descriptorios morfológicos

Los descriptorios morfológicos permiten reconocer y diferenciar taxonómicamente a las especies vegetales. La caracterización morfológica de recursos fitogenéticos es la determinación de un conjunto de caracteres en la planta de interés a partir de estos descriptorios.

En la caracterización morfológica se aplican descriptorios morfológicos generales propuestos por entidades como Bioersity, ECPGR (Programa Europeo de Cooperación para los Recursos Fitogenéticos) y UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) un descriptor es una característica que puede ser de forma, estructura o comportamiento cuya manifestación es fácil de medir (Franco *et al.*, 2003). Los descriptorios pueden ser detectados a simple vista y expresarse de igual manera en casi todos los ambientes.

Los descriptorios morfológicos pueden ser cualitativos o cuantitativos. Los caracteres cualitativos tienen la capacidad que pueden describirse, generalmente son fáciles de determinar y se expresan como factores discontinuos. Los descriptorios morfológicos cualitativos más representativos son: forma de la base de las hojas, forma del ápice de la hoja, densidad de la pubescencia del tallo, color del pedúnculo floral, densidad de ramificación, forma de la ramificación, profundidad de las incisiones del borde, margen de la hoja, presencia de antocianinas en el cáliz, meses de floración, hábito de crecimiento de los brotes y forma de la hoja (Aguirre, 2014).

Los caracteres cuantitativos tienen la característica de ser altamente heredables, observables con facilidad y con capacidad de expresarse de la misma manera en cualquier ambiente. Las características morfológicas se usan principalmente para estudiar la variabilidad genética, identificar diferentes especies de plantas pertenecientes a una misma familia y para

conservar los recursos genéticos. Los descriptores morfológicos cuantitativos más representativos son: diámetro del pedúnculo, ancho del pétalo, longitud de la inflorescencia, altura de la planta, ancho del peciolo, número de tallos por planta, número de entrenudos, longitud del pétalo, longitud de la hoja, ancho de la hoja, diámetro de los entrenudos, diámetro de los entrenudos, longitud del peciolo, diámetro del peciolo de la hoja y longitud del pedúnculo (Aguirre, 2014).

En general, los órganos más importantes para la descripción morfológica son aquellos que están menos influenciados por el ambiente como la flor y el fruto en relación a hojas, tronco, ramas, raíces y los tejidos celulares (Montoya Aramburu *et al.*, 2008). Por lo tanto, los descriptores morfológicos más representativos para analizar la familia Asteraceae son: peso de lotes de 100 semillas, longitud de aquenio, ancho de aquenio, longitud de vilano y la humedad relativa.

Viabilidad de semillas

La viabilidad de las semillas es la capacidad de producir plantas en condiciones ambientales adecuadas. La viabilidad se refiere a la potencia germinativa medida por el porcentaje de semillas que germinan (Vargas & Perez-Martinez, 2014). La facultad germinativa de las semillas es el conjunto de características y condiciones favorables que permiten el origen de plántulas normales (Álvarez Cisneros *et al.*, 2020). Existen diversos métodos para evaluar la viabilidad de las semillas, entre ellos se destacan los métodos colorimétricos, la radiografía con rayos X y las pruebas de germinación.

Métodos colorimétricos

Los métodos colorimétricos son pruebas bioquímicas utilizadas para evaluar la viabilidad de semillas mediante tinción (Benito-Matías & Sierra, 2004). Las pruebas

colorimétricas se basan en la presencia, condición o ausencia del embrión, el cual se detecta mediante un color específico determinado por el tipo de ensayo que se va a realizar.

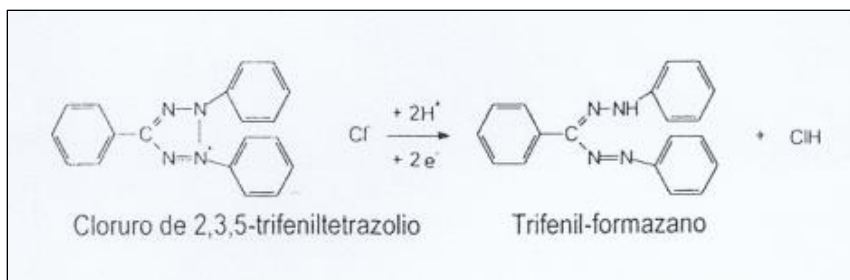
Prueba de coloración con tetrazolio

La prueba de coloración con tetrazolio se aprobó en 1980 por el ISTA (International Seed Testing Association) y se implementó en aproximadamente 650 especies agrícolas. Es un método rápido que permite la observación de la viabilidad en un periodo de tiempo menor a 48 horas (Benito-Matías & Sierra, 2004).

El fundamento del test se basa en un ensayo bioquímico donde intervienen las reacciones de oxidación-reducción que se dan en los diferentes tejidos hidratados de la semilla. En este test se activan las rutas metabólicas del embrión, donde las reacciones de oxidación liberan electrones (hidrógeno) que reducen ciertas sustancias químicas como la sal de tetrazolio, convirtiéndose en una solución indicadora. Por la actividad de las deshidrogenasas del ácido málico se reduce la sustancia indicadora (Cloruro de 2,3,5- trifeniltetrazolio) formando un compuesto insoluble y estable de color rojo conocido como formazán (Trifenil-formazano) (Figura 8) (Rodríguez-Quilon *et al.*, 2008); (Salazar & Delgado, 2018). La coloración permite diferenciar a las semillas por su actividad respiratoria. La sustancia indicadora, recomendada por el ISTA, es una solución acuosa al 1% de sal de tetrazolio que emplea comúnmente el 2,3,5-trifeniltetrazolio (Salazar & Delgado, 2018).

Figura 8

Formación de formazan (Trifenil- formazano) a partir de Cloruro de 2,3,5 - trifeniltetrazolio



Nota: La figura muestra la formación de formazán a partir de cloruro de 2,3,5 - trifeniltetrazolio. Recuperada de (Rodríguez-Quilon *et al.*, 2008).

Prueba del índigo-carmín

A partir de 1925 la prueba del índigo-carmín ha sido utilizada para la evaluación de viabilidad de semillas principalmente de especies forestales (Jyoti & Malik, 2013). La coloración con el índigo-carmín es una tinción diferencial de los tejidos muertos y de los vivos. Los tejidos muertos del embrión son expuestos al colorante por el aumento de la permeabilidad de la membrana, los cuales se tiñen de azul (Salazar Mercado & Gélvez Manrique, 2015). Los embriones viables permanecen del color de la semilla sin tinción.

Radiografía con rayos X

La técnica con rayos X es un ensayo no destructivo y preciso que evalúa las características internas de la semilla, lo que permite identificar y diferenciar entre semillas con embrión y sin embrión. El test de rayos X examina en detalle las regiones alteradas o algún tipo de daño, sea mecánico, por acción de insectos, humedad, entre otros (Pérez & Pita, 2016).

La radiografía obtenida de la estructura de la semilla se logra a través de la captación de diferentes dosis de rayos X por un sensor (Alzugaray *et al.*, 2006).

Ensayo de germinación

Los ensayos de germinación determinan la viabilidad de las semillas analizando el porcentaje de estas que son capaces de desarrollar una plántula normal dentro de un lote determinado (Moreno *et al.*, 2019). La semilla viable germinará en condiciones favorables de temperatura, humedad y luz, siendo capaces de reanudar la actividad metabólica y el crecimiento de germinación (Rodríguez-Quilon *et al.*, 2008).

Prueba de separación del embrión

La prueba de separación de embriones es un test para determinar la viabilidad de semillas con periodos de germinación largos o con latencia. El test consiste en remojar la semilla hasta que se hidrate lo suficiente para poder separar el embrión y efectuar la germinación (Barone *et al.*, 2016). La germinación del embrión se realiza utilizando cajas Petri con un substrato húmedo en papel secante o papel filtro. La duración de la etapa germinativa puede variar de tres días a tres semanas (Pérez & Pita, 2016); Rodríguez, 2008). La prueba de separación de embriones es un test para determinar la viabilidad de semillas con periodos de germinación largos o con latencia. El test consiste en remojar la semilla hasta que se hidrate lo suficiente para poder separar el embrión y efectuar la germinación (Barone *et al.*, 2016). La germinación del embrión se realiza utilizando cajas Petri con un substrato húmedo en papel secante o papel filtro. La duración de la etapa germinativa puede variar de tres días a tres semanas (Pérez & Pita, 2016); (Rodríguez-Quilon *et al.*, 2008).

Los embriones viables presentan desarrollo de la plántula y se mantienen macizos durante el tiempo de germinación. En cambio, los embriones no viables al cabo de dos a diez días toman un color café, se vuelven blandos y se deterioran (Poulsen, 2000).

Prueba de germinación estándar

La prueba de germinación estándar es una de más utilizadas para evaluar la viabilidad de las semillas, la cual se realiza a través del cálculo del porcentaje de plántulas normales (Rodríguez-Quilon *et al.*, 2008). La técnica consiste en colocar las semillas dentro de una caja Petri con un sustrato enriquecido que permita el desarrollo de la germinación, además de las condiciones favorables para la incubación (Moreno *et al.*, 2019). El tiempo de incubación también varía según las necesidades de la semilla (Poulsen, 2000). La temperatura es otra variable que oscila entre 10 a 35°C.

Luego del ensayo de germinación, se contabilizan las semillas que han germinado en base al crecimiento de la radícula. La radícula indica que el proceso metabólico se ha activado y continúa la división celular. La radícula debe alcanzar una longitud mayor de 3 mm para que se considere que la semilla ha germinado (International Rules for Seed Testing, 2022).

Estrategias de conservación de flora andina

La conservación *in situ* de la biodiversidad puede ser entendida como la mejor estrategia para asegurar la sostenibilidad ambiental de los diversos elementos que forman parte de los ecosistemas, así como los servicios ambientales que proveen (Moreno *et al.*, 2019). Es indispensable plantear estrategias de conservación en los espacios naturales, ya que pueden ser una alternativa para asegurar la perdurabilidad de la diversidad biológica en los ecosistemas alto andino. Entre las estrategias para la conservación de especies andinas se destacan los bancos de germoplasma, germinación *in vitro* de semillas, herbarios, entre otros.

Bancos de germoplasma

Los bancos de germoplasma nos permiten obtener un repositorio de recursos fitogenéticos de especies de interés o de especies que se encuentran en peligro de extinción.

La preservación de semillas, tejidos o plantas enteras permiten reducir los riesgos de pérdida y de contaminación física o genética de material vegetal con la finalidad de investigar, mejorar o incluso conservar *ex situ* dichas especies con fines de conservación (Condón & Rossi, 2018).

Germinación *in vitro* de semillas

La germinación *in vitro* es una técnica en la cual a partir de un medio nutritivo y en condiciones controladas en laboratorio se puede aumentar el porcentaje de germinación, así como muchos otros beneficios en comparación a la germinación convencional. Esta estrategia brinda amplias ventajas en comparación a la que se produce en condiciones naturales. La germinación *in vitro* puede solucionar casos de inhibición total, es capaz de permitir la germinación de semillas sin intermediario obligado, evita el aborto embrionario, permite aumentar la tasa de germinación reduciendo el tiempo requerido e inclusive permite sincronizar la germinación.

En el caso de las semillas pertenecientes a la familia Asteraceae, pese a la gran cantidad de mecanismos de dispersión que presentan, poseen un bajo porcentaje de viabilidad. Esto conlleva a la necesidad de implementar técnicas que mejoren los métodos convencionales de propagación. El emplear métodos como la germinación *in vitro* podría ser una solución para aumentar la tasa de germinación, especialmente mediante el uso de fitoreguladores como giberelinas (Castillo, 2014).

La germinación *in vitro* permite controlar parámetros como la temperatura, la luz y humedad, evitando que agentes externos desfavorables o plagas intervengan en la tasa de germinación (Pérez-Martínez & Castañeda-Garzón, 2017a). Este método permite obtener un mayor número de plantas en menor tiempo que con la utilización de métodos convencionales. Al igual que el banco de semillas este método de conservación *ex situ* permite la reintroducción de las especies a su medio en caso que las condiciones lo ameriten (Castillo, 2014).

Herbarios

Los herbarios son una colección de ejemplares vegetales completos con material que fue recolectado, secado, prensado y montado para su conservación. Este método se lo utiliza para estudios botánicos de plantas que tienen interés ecológico, socioeconómico, que se encuentran en peligro de extinción o son endémicas. Los Herbarios permiten estudiar la diversidad, textura, color y estructuras que poseen dichas plantas y a su vez tener un registro histórico en tiempo y espacio de las mismas. Al igual que el banco de germoplasma esta es una estrategia de conservación *ex situ* (Fernández, 2018).

Capítulo III: Metodología

Material vegetal

El material vegetal utilizado en cada uno de los ensayos fue recolectado en los meses de marzo a agosto del 2022 en el Parque Nacional Cayambe - Coca a una altura de 3000 a 4000 m.s.n.m. Se recolectó frutos maduros de tres especies de interés *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Los frutos recolectados se guardaron en bolsas de papel debidamente etiquetadas con el código fijado por el proyecto. Posteriormente, cada muestra fue transportada al Laboratorio de Investigación de INABIO (Instituto Nacional de Biodiversidad) y al Laboratorio de Conservación Ecológica en la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, donde se procedió a extraer las cipselas de cada una y se las secó a temperatura ambiente por aproximadamente entre 5 a 7 días. Finalmente, las cipselas fueron almacenadas en cajas Petri a 5°C por un periodo no mayor a 6 meses. Adicionalmente, se realizó una ficha técnica con formato definido por el proyecto y un registro fotográfico de cada especie (Masini *et al.*, 2016).

Descripción morfológica de las semillas

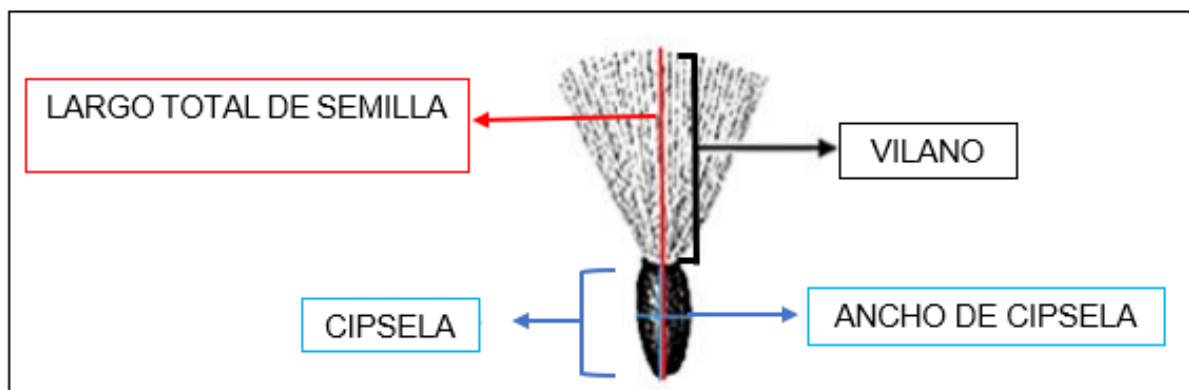
La descripción morfológica de las semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostegium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se realizó analizando los parámetros de tamaño, peso, cantidad, estado de madurez y humedad relativa de las semillas.

Tamaño de las semillas

El parámetro de tamaño de las semillas se realizó seleccionando y colocando en una caja Petri 100 semillas al azar de cada una de las especies. La medida de las semillas se obtuvo gracias a la visualización de las mismas sobre un papel milimetrado en un estereomicroscopio. El papel milimetrado se usó como referencia para la calibración en el programa MShotMain y así obtener las dimensiones de vilano, largo total de semilla, cipsela y ancho de cipsela. En la figura 9 se observa las partes de las semillas utilizadas para el análisis.

Figura 9

Descripción de las partes de la semilla de la familia Asteraceae.



Nota: El gráfico muestra el largo total de la semilla (rojo), el largo y ancho de la cipsela (azul) y el largo del vilano (negro).

Peso de las semillas

El parámetro de peso se realizó en base a 10 lotes de 100 semillas cada uno seleccionadas al azar. En primer lugar, se realizó el pesaje de la caja Petri vacía por medio de una balanza de precisión para posteriormente realizarlo con el lote de semillas dentro de la caja. El peso final de cada uno de los 10 lotes de semillas de cada especie se obtuvo mediante la diferencia entre las dos mediciones (caja Petri con semillas -caja Petri vacía = peso del lote semillas).

Cantidad de semillas presentes en cada flor

La cantidad de semillas presentes en cada flor se determinó mediante la recolección de 50 flores completas en el Parque Nacional Cayambe – Coca de cada una de las tres especies estudiadas. Las flores fueron llevadas al laboratorio donde se realizó el conteo individual de la cantidad de cipselas existentes en cada flor. Los datos obtenidos se utilizaron para realizar un análisis estadístico descriptivo.

Estado de madurez de las semillas

El estado de madurez de las semillas se realizó seleccionando al azar 100 semillas de cada especie. Las semillas se colocaron en cajas Petri y a partir de un estereomicroscopio se procedió a determinar el estado de madurez que presentaban. Uno de los principales indicadores de madurez fue el color que presentan las cipselas de las semillas, mostrando un color ligeramente café en el caso de semillas maduras.

Humedad relativa de las semillas

La humedad relativa se obtuvo a partir de 100 semillas seleccionadas al azar y colocadas en crisoles. En primer lugar, se realizó el pesaje de la muestra mediante la balanza

de precisión. Se obtuvo así el peso de las semillas antes de someterse al secado en la estufa de calentamiento. Luego, se procedió a colocar los crisoles dentro de la estufa a una temperatura de 130° C por un periodo de 2 horas. Posteriormente, se procedió a pesar nuevamente las muestras obtenidas y se calculó el porcentaje de humedad a través del peso que se pierde durante el secado. El valor del porcentaje de humedad se obtuvo al dividir la pérdida de peso de la muestra entre el peso original. El resultado se multiplicó por 100.

$$\text{Humedad relativa en \%} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} \times 100$$

Viabilidad de las semillas

La viabilidad de las semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostegium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se analizó a partir de seleccionar al azar 100 semillas de cada una de las tres especies y someterlas a pruebas bioquímicas específicas donde se evaluó la coloración que adoptan los embriones en las pruebas tanto con tetrazolio (rojo) como con índigo carmín (azul).

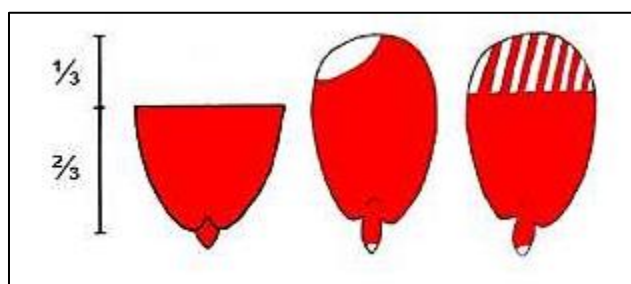
Prueba de coloración con tetrazolio

La prueba de coloración con tetrazolio requiere la preparación de una solución tampón. La solución tampón se preparó con 1.816g de ortofosfato dihidrógeno de potasio (KH₂PO₄) y 2.842g fosfato monobásico de sodio anhidro (NaH₂PO₄) con un pH de 6.7 en 500mL de agua destilada. A la solución se le adiciona 5g de 2, 3, 5-Trifenil-2H-Tetrazolio Cloruro (TZ) para obtener una solución al 1%. Previamente, las semillas seleccionadas se las colocó en imbibición en agua por 18 horas y se procedió a extraer los embriones que se encontraban dentro de la cpsela. Los embriones extraídos fueron colocados en la solución al 1% de 2, 3, 5-Trifenil-2H-Tetrazolio Cloruro (TZ) y se los incubó por tres horas a una temperatura de 30°C en una incubadora. Finalmente, luego de pasado el tiempo, se lavaron y se clasificaron según

las reglas internacionales para semillas publicadas en el 2016. En la Figura 10 se muestra los patrones de coloración para la determinación del tejido viable permitido, el cual solo puede ser $\frac{1}{3}$ de radícula medido desde su punta, $\frac{1}{2}$ del extremo distal de los cotiledones o $\frac{1}{3}$ del extremo distal de los cotiledones.

Figura 10

Patrón de coloración para la determinación de embriones viables en las especies.



Nota: El gráfico evidencia los patrones de coloración de tejido viable (en rojo) y el tejido no viable (en blanco) permitidos para determinar la viabilidad de las semillas. Tomado de International Rules for Seed Testing, 2022. Tomado de (International Rules for Seed Testing, 2022).

Prueba de coloración con Índigo carmín

La prueba de coloración con índigo carmín permite identificar tejido viable y no viable a partir de la coloración azul del tejido muerto. Esta prueba se realizó añadiendo 0,75 g de 3,3-dioxo-2,2-bi-indolilideno-5,5-disulfonato disódico en 500 mL de agua destilada para obtener una solución al 0.15% (International Seed Testing Association, 2022). La prueba de coloración con índigo carmín permite identificar tejido viable y no viable a partir de la coloración azul del tejido muerto. Esta prueba se realizó añadiendo 0,75 g de 3,3-dioxo-2,2-bi-indolilideno-5,5-disulfonato disódico en 500 mL de agua destilada para obtener una solución al 0.15% (International Rules for Seed Testing, 2022).

Se seleccionaron al azar 100 semillas maduras de cada especie de estudio y se las imbibió en agua destilada por 18h. Posteriormente, se extrajo el embrión de las semillas. Los embriones se sumergieron en la preparación durante 3 horas y se incubaron a una temperatura de 30 °C. Finalmente, se lavaron los embriones y se clasificaron en viables (blancos o con pocas manchas azules localizadas fuera de la radícula), de vitalidad limitada (embriones ligeramente coloreados) y no viables (zona de la radícula totalmente teñida o embrión teñido).

Desinfección de las semillas

La desinfección de las semillas se realizó a partir de 100 semillas maduras por especie, seleccionadas al azar. Las semillas se colocaron en tubos Falcon y se las lavó inicialmente con agua corriente. A continuación, las semillas se sumergieron en detergente al 1% con 10 gotas de Tween 20 y se las enjuagó con agua destilada. Luego, se realizó otro lavado con alcohol al 70% con 5 gotas de Tween 20 por 4 minutos y se las enjuagó nuevamente. Finalmente, se sumergió las semillas en hipoclorito de sodio al 3%, 5% y 7% respectivamente con dos gotas de Tween 20 por cinco minutos y se las lavó en agua estéril autoclavada, anteriormente colocada en luz UV por 30 minutos. Luego del proceso de desinfección, las semillas se sembraron dentro de una cámara de flujo laminar en condiciones asépticas en medio MS $\frac{1}{2}$ y fueron expuestas a condiciones normales de luz, temperatura y humedad. La toma de datos y reporte del número de semillas contaminadas, germinadas o necrosadas se lo realizó entre los 7 y 10 días posteriores a la siembra, tiempo promedio de aparecimiento de hongos y bacterias (Laguna-Ibarra *et al.*, 2019).

Ensayos de germinación de semillas

Los ensayos de germinación se realizaron luego de determinar el mejor protocolo de desinfección de las semillas. Se manejaron cinco repeticiones por tratamiento con un total de 400 semillas evaluadas por especie. Las semillas fueron sembradas en medio MS enriquecido

con diferentes concentraciones de ácido giberélico, dentro de una cámara de flujo laminar en condiciones asépticas. La composición del medio de cultivo se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2

Composición de los medios de cultivo utilizados para germinación in vitro.

Componente(g/L)	T1	T2	T3
Sales MS	4,40	4,40	4,40
Sacarosa	30	30	30
Ácido Giberélico	0	0,25	0,5
Bactogar	8	8	8
pH	5,6-5,8	5,6-5,8	5,6-5,8

Nota: La tabla muestra las concentraciones recomendadas para la elaboración de medios de cultivo. Recuperada de (International Rules for Seed Testing, 2022).

Las cajas Petri utilizadas fueron colocadas posteriormente en una cámara de germinación en condiciones ambientales controladas a 5 y 20°C con una humedad relativa aproximada de entre 55 y 70%. Se evaluó los resultados obtenidos por cada tratamiento cada 6 días y se reportó los resultados.

Análisis estadísticos

Estadística Descriptiva de la Caracterización morfológica

Para el peso, cantidad de semillas presentes por flor, estado de madurez humedad relativa y viabilidad se calculó la media y desviación estándar. Para el dimensionamiento se sacó el promedio y desviación estándar de 100 medidas de largo de semilla, largo de cipsela,

ancho de cipsela y largo del vilano para frutos y semillas. Los datos obtenidos a partir de cada uno de los ensayos realizados serán sometidos a pruebas estadísticas.

Para el análisis de los datos se determinará si los datos siguen una distribución normal. Se procedió a realizar un gráfico Q-Q (gráfico cuantil-cuantil) para verificar si los valores obtenidos se ajustan a una distribución normal. Posteriormente, se realizó una prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la homocedasticidad de la varianza. Si se cumplen estas dos pruebas de normalidad y homocedasticidad se utilizará la técnica de análisis de varianza “ANOVA” y la prueba de diferencia entre las medias será calculada por intermedio del software Infostat. Si no se cumplen, se realizará la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, con nivel de significancia del 95%. Las pruebas estadísticas se realizaron con el software para análisis estadístico Infostat.

Ensayo de desinfección

Se realizará un diseño experimental completamente al azar (DCA) donde el factor de interés es el porcentaje de concentración del hipoclorito de sodio (NaClO) con cuatro niveles según se muestra en la Tabla 3. La unidad experimental es una semilla sembrada en medio nutritivo. Las variables de respuesta son el número de semillas contaminadas y el número de semillas no contaminadas.

Tabla 3

Diseño experimental para el ensayo de desinfección

Tratamientos	[NaClO] (%)	Tiempo (min)	Repeticiones					Total
			1	2	3	4	5	
TD0	0.00	5	20	20	20	20	20	100

TD1	3.00	20	20	20	20	20	100
TD2	5.00	20	20	20	20	20	100
TD3	7.00	20	20	20	20	20	100
Total		80	80	80	80	80	400

Nota: La tabla muestra los tratamientos de desinfección y el número de repeticiones en cada uno.

Ensayo de germinación respuesta al AG3 y temperatura.

Se realizará un diseño factorial de 3x2, analizando la concentración de ácido giberélico (AG3) con cuatro niveles de concentración y dos temperaturas de exposición. Según se muestra en la Tabla 4. La unidad experimental es cada semilla sembrada. La variable de respuesta es el número de semillas germinadas con apareamiento de radícula.

Tabla 4

Diseño experimental para la germinación.

Tratamientos	[AG3] (mg/L)	Temperatura (°C)	Repeticiones					Total
			1	2	3	4	5	
TG1	0.00	10	20	20	20	20	20	100
TG2	2.50		20	20	20	20	20	100
TG3	5.00		20	20	20	20	20	100
TG4	0.00	20	20	20	20	20	20	100
TG5	2.50		20	20	20	20	20	100
TG6	5.00		20	20	20	20	20	100
Total			120	120	120	120	120	600

Nota: La tabla muestra los tratamientos de germinación realizados a 10°C y 20°C y el número de repeticiones en cada uno.

Capítulo IV: Resultados

Descriptores morfológicos de la familia Asteraceae

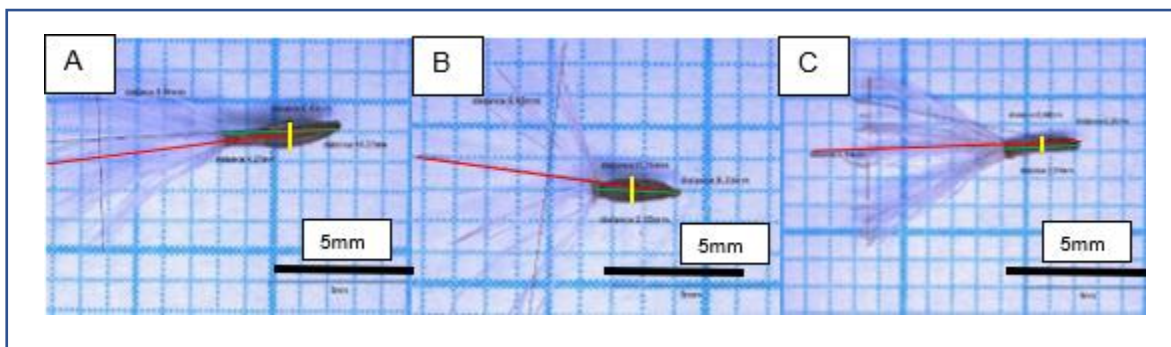
La descripción general de las especies de estudio se realizó a partir de observaciones realizadas en campo y datos bibliográficos. Los resultados se presentan a manera de fichas para las tres especies de estudio: *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en Anexo 1, *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) en Anexo 2 y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. en Anexo 3, donde se detalla información de forma de vida, hábitat, descripción morfológica y fisiológica de sus estructuras enfatizando las características de las semillas como forma, color, textura, dispersión y de distribución dentro del país. Adicionalmente, se realizó la descripción morfológica de las semillas analizando los parámetros de tamaño, peso, cantidad, estado de madurez y humedad relativa de las semillas.

Tamaño de las semillas

Al medir el tamaño de las semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) (Figura 11), se consideró el largo total de la semilla, el largo del vilano, el largo de la cipsela y el ancho de cipsela. Los resultados determinaron que las semillas más grandes en todos los parámetros analizados fueron las semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. (Figura 11A). En *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) (Figura 11B) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) (Figura 11C) presentaron tamaños similares, siendo ligeramente mayor las medidas de esta última.

Figura 11

Tamaño de semillas de la familia Asteraceae.



Nota: Semillas de la familia Asteraceae observadas a través del estereomicroscopio a 2x. Se puede observar en color rojo el largo total de la semilla, en color verde el largo de la cipsela, en color amarillo el ancho de la cipsela. A) *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., B) *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y C) *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Los promedios del tamaño de las semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) con largo total de la semilla, el largo del vilano, el largo de la cipsela y el ancho de la cipsela se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5

Tamaño promedio de las semillas, cipsela y vilano en las especies estudiadas.

Especie	Largo total semilla (mm)	Largo cipsela (mm)	Ancho cipsela (mm)	Largo vilano (mm)
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	12.40±1.75	5.27±1.13	0.70±0.14	7.07±0.99
<i>Diplostephium hartwegii</i>	8.38±1.59	2.48±0.47	0.42±0.14	5.85±1.29
<i>Gynoxys acostae</i>	9.45±0.86	2.72±0.34	0.55±0.10	6.70±0.72

Peso de las semillas

El peso promedio se lo realizó en base a la selección de lotes de 100 semillas de cada una de las especies de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). En este ensayo se encontró que las semillas que poseen el mayor peso entre las tres especies estudiadas fueron las de *Dorobaea pimpinellifolia*

(Kunth) B. Nord. El valor del peso de estas semillas fue aproximadamente el doble de masa que *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) y el triple que *Diplostephium hartwegii* (Hieron.). En la Tabla 6 se muestra los pesos promedio de cada una de las especies.

Tabla 6

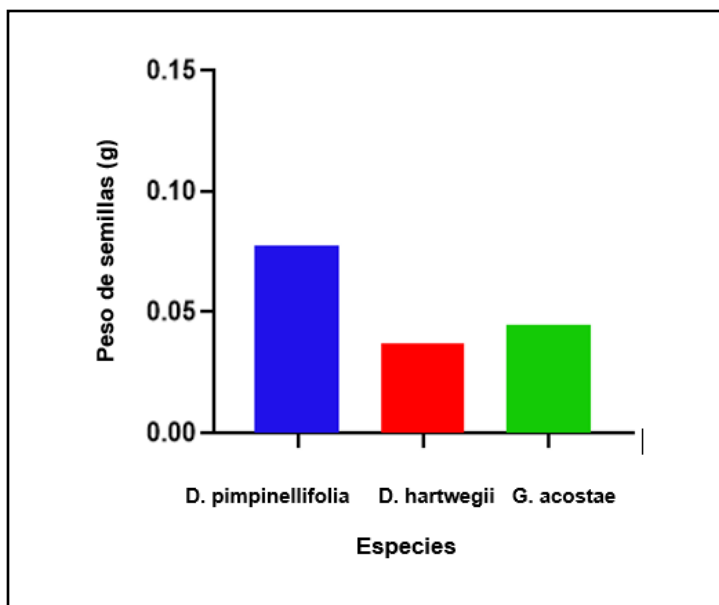
Peso promedio de los 10 lotes de 100 semillas de las especies estudiadas.

Especie	Peso promedio (g)
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	0.101±0.00448
<i>Diplostephium hartwegii</i>	0.03179±0.00139
<i>Gynoxys acostae</i>	0.04667±0.00494

Al realizar un análisis comparativo del peso promedio de las tres especies *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se obtuvo en resumen el siguiente diagrama de barras (Figura 12).

Figura 12

Comparación del peso de los lotes de 100 semillas de las especies estudiadas.



Nota: Gráfica comparativa de los pesos promedio de lotes de 100 semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Cantidad de semillas presentes en cada flor

La cantidad de semillas presentes en cada flor se analizó a partir del conteo individual de semillas de 50 flores en estado maduro de cada una de las especies de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). En este ensayo se determinó que la especie que mayor cantidad de semillas contenía era *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. Se debe destacar que esta especie presentó cuatro veces más semillas que *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y trece veces más semillas que *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). En la Tabla 7 se muestra la cantidad de semillas por flor de cada una de las especies.

Tabla 7

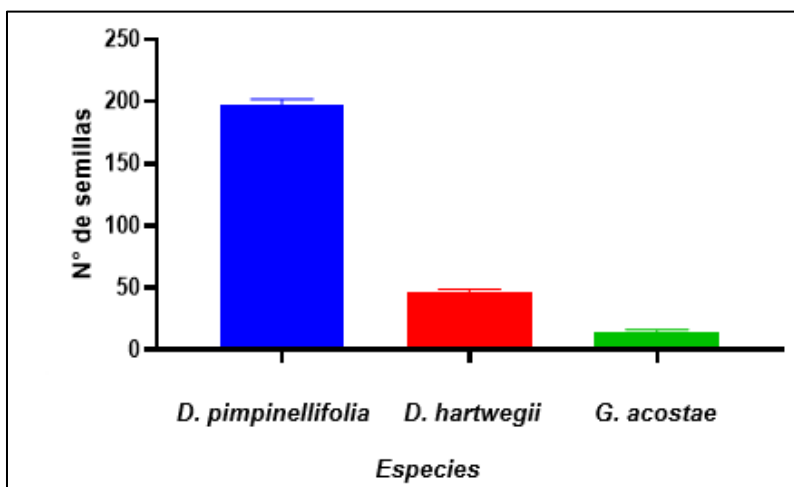
Cantidad promedio de semillas por flor de las tres especies de la familia Asteraceae.

Especie	Cantidad de semillas por flor
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	197.82±4.86
<i>Diplostephium hartwegii</i>	46.53±2.48
<i>Gynoxys acostae</i>	14.33±2.34

A partir de los datos promedio obtenidos en las especies de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se elaboró un diagrama de barras (Figura 13) comparativo para una mejor visualización.

Figura 13

Comparación de la cantidad de semillas que poseen las especies estudiadas.



Nota: Gráfica comparativa del número promedio de semillas de 50 flores maduras de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Estado de madurez de las semillas

El estado de madurez de las semillas se analizó a partir de muestras recolectadas entre los meses de marzo a agosto mediante la recolección de 100 flores por cada especie. Los

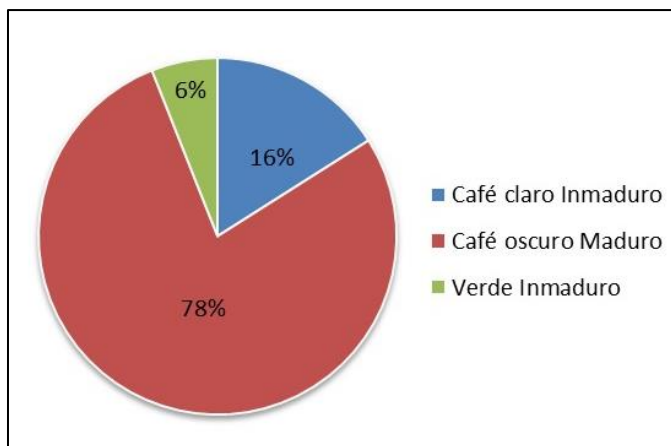
resultados obtenidos expresan el promedio de semillas maduras e inmaduras encontradas de acuerdo al color que presentaban el momento de realizar el ensayo. A continuación, se detalla el estado de madurez de cada una de las especies.

Diplostephium hartwegii (Hieron.)

En esta especie el 78% de las semillas se observaron en estado maduro, mostrando un color característico café oscuro. El 22% de las semillas presentó un color entre café claro a verde mostrando su estado inmaduro. Esto evidencia el tiempo adecuado de recolección de las flores para su análisis. En la Figura 14 se observa el porcentaje de semillas según los colores que presentaban el momento del ensayo.

Figura 14

Representación de semillas maduras e inmaduras en Diplostephium hartwegii (Hieron.).



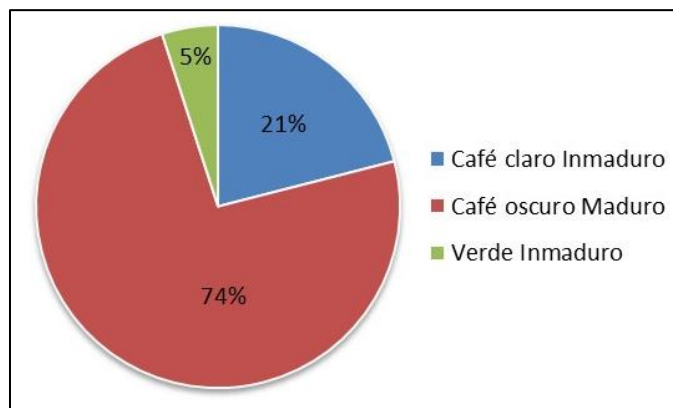
Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas maduras (color café), semillas inmaduras (color verde y color azul) en *Diplostephium hartwegii (Hieron.)*.

Gynoxys acostae (Cuatrec.)

En el caso de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) la mayoría de semillas se mostraron en estado maduro (74%), mostrando un color característico café oscuro. El 26% de las semillas presentó un color café claro o verde mostrando su estado de inmadurez. En este caso, al igual que *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) el momento de recolección de las flores para su análisis fue el adecuado. En la figura 15 se representa el porcentaje de semillas maduras e inmaduras en base al color que presentaban el momento del ensayo.

Figura 15

Representación de semillas maduras e inmaduras en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas maduras (color café), semillas inmaduras (color verde y color azul) en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

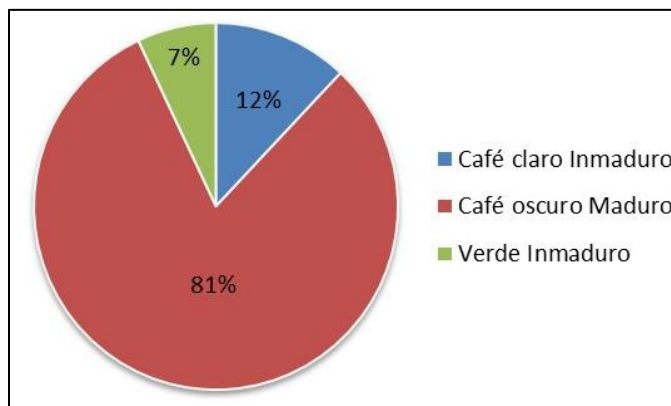
Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.

El ensayo de madurez de las semillas en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. mostró un alto porcentaje de semillas maduras (81%), de tonalidad café oscuro. Las semillas inmaduras representaron el 19% del total con una coloración verde o café claro. En esta especie al igual que las anteriores las flores se colectaron en el momento adecuado. En la

Figura 16 se representa el porcentaje de semillas maduras e inmaduras a partir del color que presentaban el momento de la recolección.

Figura 16

Representación de semillas maduras e inmaduras en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas maduras (color café), semillas inmaduras (color verde y color azul) en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.

Humedad relativa de las semillas

La humedad relativa se determinó mediante la pérdida de peso de las semillas al ser colocadas en la estufa de calentamiento por un periodo de tres horas, para calcular la cantidad de humedad que las semillas pueden llegar a perder. En el caso de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) se determinó una humedad relativa de 16.84%, en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. de 11.57% y en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) de 7.23%. Se observó que mientras mayor es la cantidad de humedad relativa de las semillas menor es el tiempo de longevidad, posiblemente debido a que serán más propensas al ataque de hongos, pestes o enfermedades, esto al igual que la reducción de la temperatura ayudan a mantener la semillas en un estado de latencia retardando la germinación. En la Tabla 8 se muestran los pesos y los porcentajes de humedad de cada una de las especies.

Tabla 8

Peso y porcentajes de humedad relativa de los lotes de 100 semillas de la familia Asteraceae.

<i>Especie</i>	<i>Peso antes del secado (g)</i>	<i>Peso después del secado (g)</i>	<i>Humedad relativa (%)</i>
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	0.107	0.0959	11.57
<i>Diplostephium hartwegii</i>	0.029	0.0248	16.94
<i>Gynoxys acostae</i>	0.0430	0.0401	7.23

Prueba de coloración con tetrazolio

La prueba de coloración con tetrazolio se utilizó para determinar la cantidad de tejido viable existente en los embriones. Los parámetros que se evaluaron en 100 semillas elegidas al azar fueron: la presencia o ausencia del embrión, así como la presencia de un embrión comprometido que muy probablemente en condiciones normales no logre formar una nueva planta (viabilidad limitada). Este ensayo evalúa la cantidad de tejido en la semilla que adquiere la coloración roja característica. A continuación, se detalla los resultados obtenidos en cada especie a partir de este ensayo.

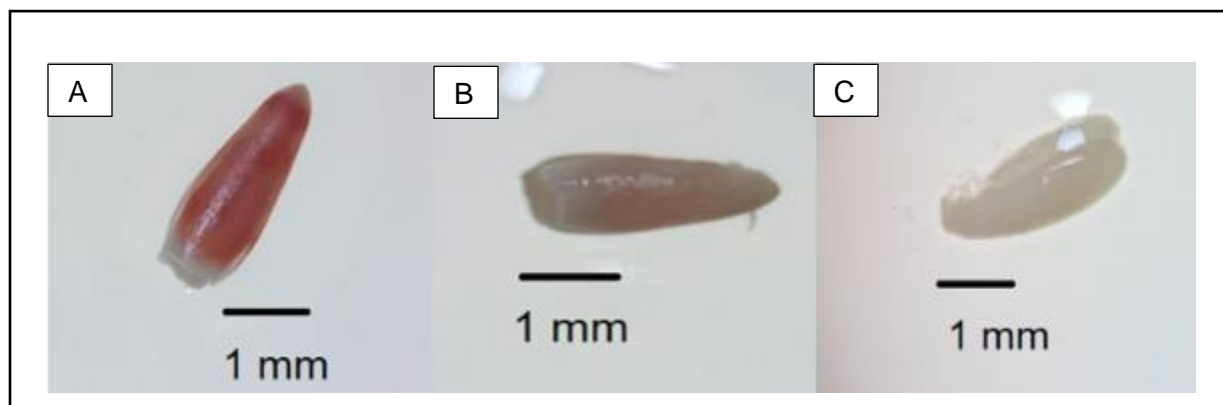
***Diplostephium hartwegii* (Hieron.)**

A partir de la extracción de los embriones de las cipselas, se pudo observar que 49 semillas se encontraban vacías. Por tal razón, se utilizaron únicamente las 51 semillas restantes que presentaron embriones. Los embriones fueron sometidos a la prueba de coloración con Tetrazolio (Figura 17). Se determinó que 25 embriones fueron viables al teñirse completamente de color rojo (Figura 17 A). Por otro lado, se observó que 6 semillas se tiñeron

levemente de rosa que se puede catalogar como viabilidad limitada (Figura 17 B). Finalmente, 20 semillas no se tiñeron y fueron consideradas como no viables (Figura 17 C).

Figura 17

Semillas de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) al finalizar los ensayos de viabilidad.

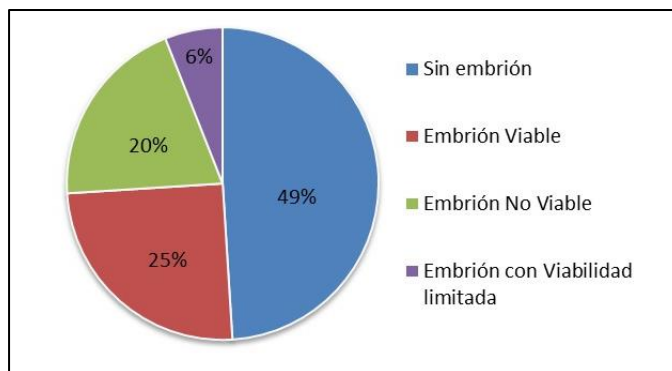


Nota: Se muestran las semillas *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) luego de aplicada la prueba de viabilidad con tetrazolio. Se puede observar en: A) semillas viables color rojo, B) semillas con viabilidad limitada y C) semillas no viables.

Al concluir este ensayo, se puede observar en la Figura 18 los porcentajes de viabilidad de las semillas de esta especie. Los embriones de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) presentaron embriones viables con un 25%, embriones no viables con un 20%, embriones con viabilidad limitada un 6% y semillas sin embrión en un 49%. Se observó un alto porcentaje de semillas sin embrión.

Figura 18

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.).



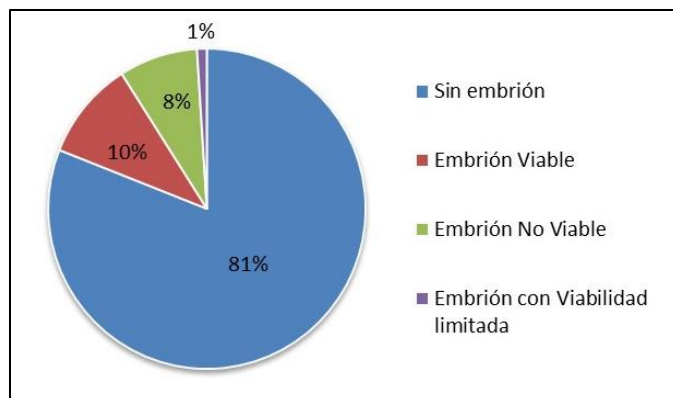
Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.).

Gynoxys acostae (Cuatrec.)

La extracción de los embriones de las cipselas permitió determinar que 81 semillas se encontraban vacías. Los 19 embriones encontrados fueron sometidos a la prueba de coloración con Tetrazolio. Se determinó que el 10% de embriones fueron viables al teñirse completamente de color rojo. El 1% de los embriones se tiñó de color rosa, siendo considerado con viabilidad limitada. Finalmente, el 8% de los embriones no se tiñeron siendo catalogadas como no viables (Figura 19). Se observó un alto porcentaje de cerca de 81 semillas sin embrión.

Figura 19

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en Gynoxys acostae (Cuatrec.).



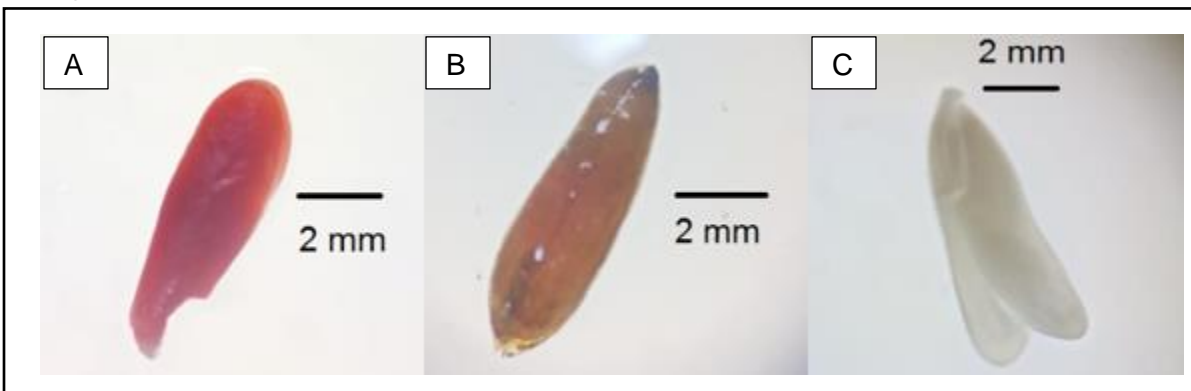
Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

***Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.**

La extracción de los embriones de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. permitió determinar que 30 semillas se encontraban vacías. Los 70 embriones encontrados fueron sometidos a la prueba de coloración con Tetrazolio (Figura 20). Se determinó que 55 embriones fueron viables debido a que se tiñeron de color rojo (Figura 20A). De igual manera, 5 embriones presentaron viabilidad limitada al tornarse de color rosa (Figura 20B). Finalmente, 10 embriones fueron considerados como no viables ya que no se tiñeron (Figura 20C).

Figura 20

*Resultados obtenidos en ensayos de viabilidad en embriones de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.*

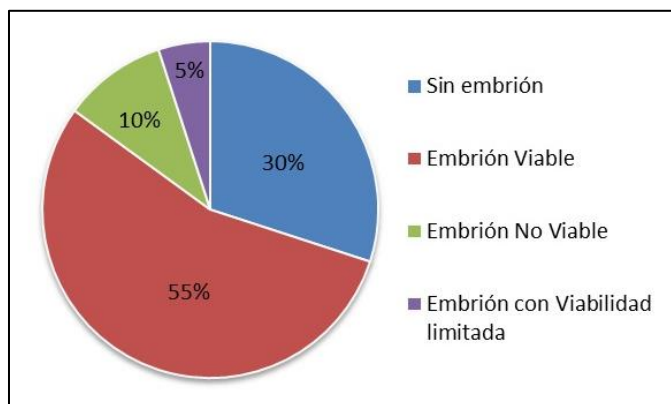


Nota: Se muestran las semillas *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord luego de aplicada la prueba de viabilidad con tetrazolio. Se puede observar en: A) semillas viables color rojo, B) semillas con viabilidad limitada y C) semillas no viables.

Al finalizar el ensayo, se puede observar en la Figura 21 los porcentajes de viabilidad de las semillas de esta especie. Los embriones de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. presentaron embriones viables con un 55%, embriones no viables con un 10%, embriones con viabilidad limitada un 5% y semillas sin embrión en un 30%.

Figura 21

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia de embrión, ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.

Prueba de coloración con Índigo carmín

La prueba de coloración a partir de índigo carmín se utilizó para determinar la cantidad de tejido no viable existente en los embriones. Los parámetros que se evaluaron en 100 semillas elegidas al azar fueron: la presencia o ausencia de embrión, la presencia de un embrión con exceso de tejido comprometido o muerto con viabilidad limitada. Este ensayo

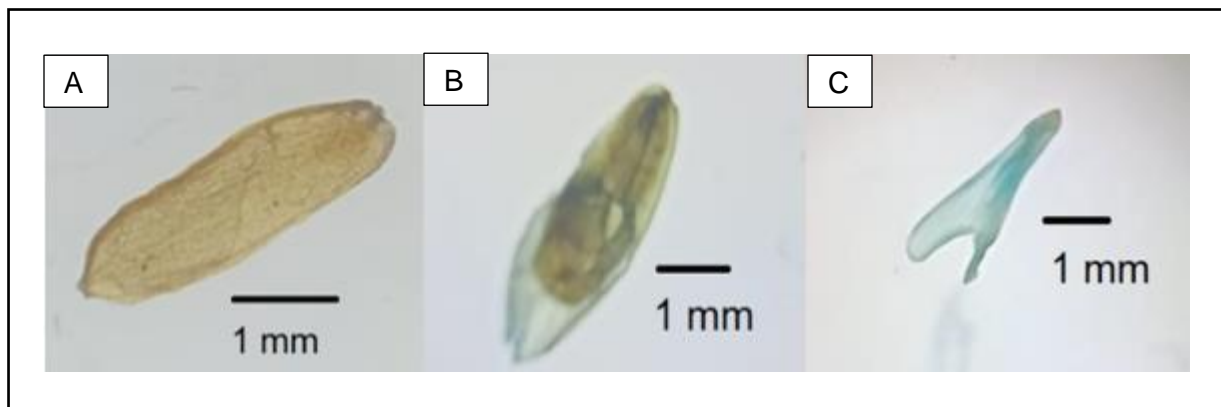
evalúa la coloración azul que adquiere el embrión que representa tejido no viable. A continuación, se detallan los resultados obtenidos en cada especie a partir de este ensayo.

Diplostephium hartwegii (Hieron.)

Los embriones fueron extraídos de las cipselas, observando que 53 semillas se encontraban sin embrión. Las 47 semillas restantes fueron sometidas a la prueba con índigo carmín (Figura 22). Se determinó que 22 embriones no se tiñeron de azul o presentaron un porcentaje mínimo para ser considerados viables (Figura 22A). Por otro lado, 4 embriones presentaron manchas azules o se tiñeron completamente de un tono azul ligero mostrando una viabilidad limitada (Figura 22B). Finalmente 20 embriones se tiñeron completamente de azul siendo considerados como no viables (Figura 22C).

Figura 22

Resultados obtenidos en ensayos de viabilidad en embriones de Diplostephium hartwegii (Hieron.) a partir de índigo carmín.



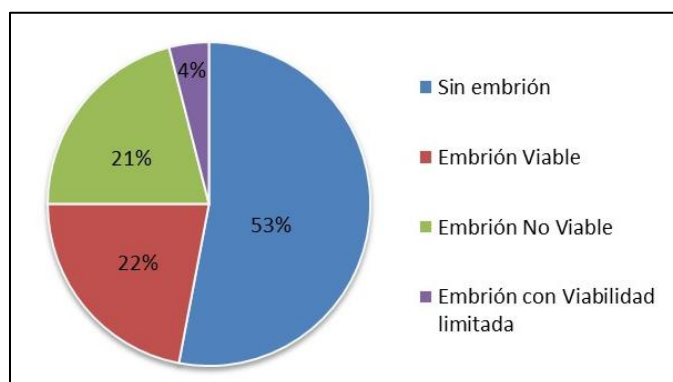
Nota: Se muestran las semillas *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) luego de aplicada la prueba de viabilidad con índigo carmín. Se puede observar en: A) semillas viables sin coloración, B) semillas con viabilidad limitada y C) semillas no viables.

Al finalizar el ensayo, se puede observar un resumen en la Figura 23 de los porcentajes de viabilidad de las semillas de esta especie. Los embriones de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) presentaron embriones viables con un 22%, embriones no viables con un 21%,

embriones con viabilidad limitada un 4% y semillas sin embrión en un 53%. Se observó un alto porcentaje de semillas sin embrión.

Figura 23

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada a partir del ensayo con índigo carmín de la especie *Diplostephium hartwegii* (Hieron.).



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.).

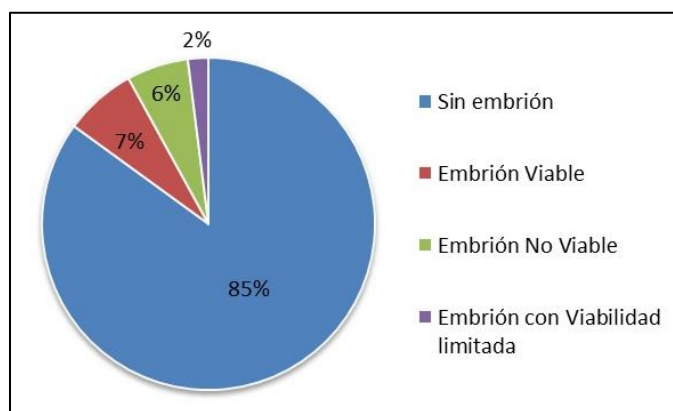
Gynoxys acostae (Cuatrec.)

Los embriones de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) fueron extraídos de las cipselas para determinar que 85 semillas se encontraban vacías. Los 15 embriones encontrados fueron sometidos a la prueba con índigo carmín. Se determinó que el 7% embriones no se tiñeron de azul o presentaron una tinción mínima para ser considerados viables. El 2% de los embriones presentaron manchas azules mostrando viabilidad limitada. Finalmente, el 6% de los embriones se tiñeron completamente de azul evidenciando tejido muerto que muestra ausencia de respiración celular siendo catalogadas como no viables (Figura 24). Los embriones de *Gynoxys*

acostae (Cuatrec.) al concluir el ensayo presentaron una viabilidad del 7%. Se observó un alto porcentaje de cerca de 85% semillas sin embrión.

Figura 24

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada a partir del ensayo con índigo carmín de la especie *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

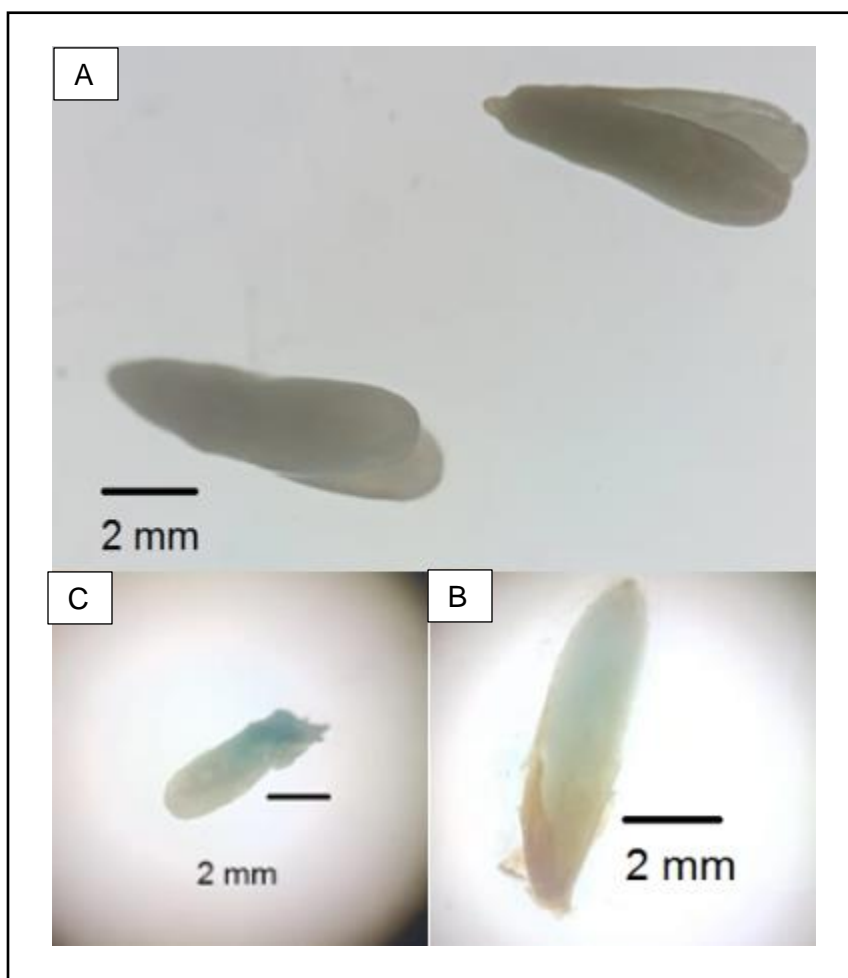
Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.

La extracción del embrión de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. permitió determinar que 30 semillas no presentaban embrión. Los embriones fueron sometidos a la prueba con índigo carmín (Figura 25). Se determinó que 55 embriones fueron viables debido a que no sufrieron tinción (Figura 25A). Por otro lado, 5 embriones presentaron viabilidad limitada al mostrar manchas de color azul (Figura 25B). Finalmente, 10 embriones se tiñeron completamente de azul siendo consideradas como no viables (Figura 25C).

Figura 25

Resultados de los ensayos de viabilidad en índigo carmín en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth)

B. Nord.

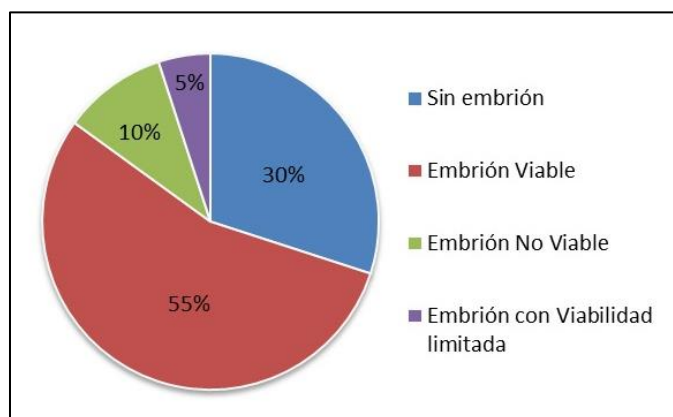


Nota: Se muestran las semillas *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord luego de aplicada la prueba de viabilidad con tetrazolio. Se puede observar en: A) semillas viables, B) semillas con viabilidad limitada y C) semillas no viables.

Al finalizar el ensayo, se puede observar en la figura 26 los porcentajes de viabilidad de las semillas de esta especie. Los embriones de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. presentaron embriones viables con un 55%, embriones no viables con un 10%, embriones con viabilidad limitada un 5% y semillas sin embrión en un 30%.

Figura 26

Representación en un diagrama del porcentaje de semillas con presencia de embrión o ausencia de embrión, viables, no viables y con viabilidad limitada en *Índigo carmín* de la especie *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.



Nota: Representación gráfica del porcentaje de semillas sin embrión (color azul), embriones viables (color rojo), embriones con viabilidad limitada (color morado) y embriones no viables (color verde) en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.

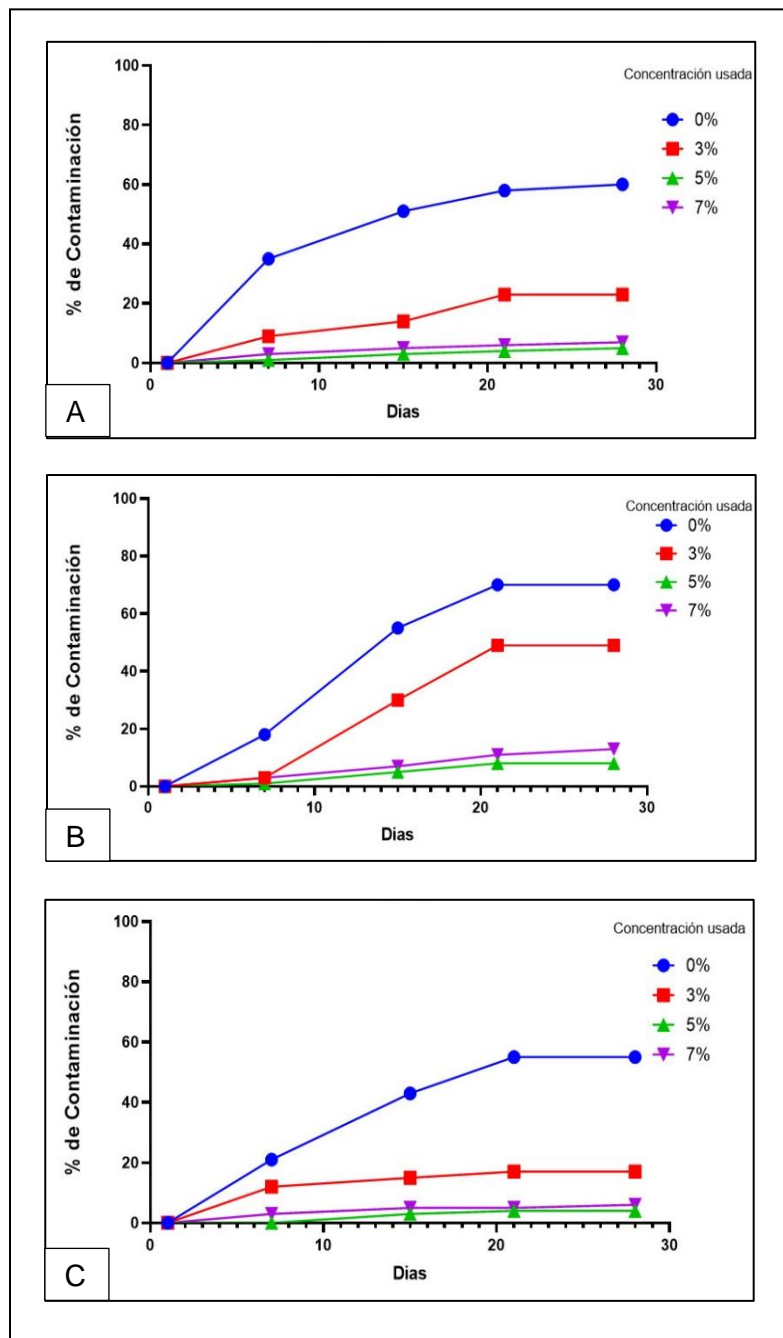
Desinfección de las semillas

En el ensayo de desinfección se trataron las semillas con una solución de detergente al 2% y una solución de alcohol al 70%. Luego de realizar los lavados, se probaron 4 tratamientos con hipoclorito de sodio al 0%(TD0), 3%(TD1), 5%(TD2) y 7%(TD3). En este ensayo se evaluó la presencia de agentes contaminantes en semillas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Con la finalidad de determinar el mejor tratamiento de desinfección para cada una de las especies se obtuvo los porcentajes de contaminación cada 6 días durante todo el ensayo. Los porcentajes de contaminación obtenidos para cada especie durante los días 1,7, 15, 21 y 28 se muestran en la Figura 27.

Figura 27

Porcentaje de contaminación de semillas de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.



Nota: Representación del porcentaje de contaminación según los días transcurridos. Se muestra cada uno de los tratamientos utilizados TD0 a NaClO 0% (color azul), TD1 a NaClO 3% (color rojo), TD2 a NaClO 5% (color verde) y TD3 a NaClO 7% (color morado) en: A) *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), B) *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) y C) *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.

En la figura 27 (A, B y C) se observa en el día 1 un 0% de contaminación en todas las concentraciones de hipoclorito de sodio ensayadas. A partir de este día con el tratamiento de 0% de NaClO la contaminación se incrementa entre un 55 y 70% hasta el día 28 en las 3 especies analizadas. En el tratamiento con el 3% de NaClO se observa una disminución de la contaminación en relación al tratamiento anterior, pero con una contaminación de entre 17 y 49% para las 3 especies. Los tratamientos con el 5 y 7% de NaClO reducen la contaminación entre un 8 y 13% respectivamente para las 3 especies. En esta figura se puede observar que los mejores tratamientos de desinfección son TD2 y TD3 con el 5 y 7% de NaClO.

A partir de los porcentajes de contaminación obtenidos en los días 1,7,15,21 y 28 se realizó un análisis estadístico. De igual manera se tomó en cuenta el porcentaje de explantes necrosados que se generó en cada uno de los tratamientos para la elección del mejor tratamiento de desinfección.

Los datos obtenidos en los días de análisis fueron sometidos a la prueba de Shapiro – Wilk y se graficaron en un Q-Q plot donde se determinó que los datos no siguieron una distribución normal. Posteriormente, se analizaron los datos a partir de la prueba de Kruskal – Wallis donde se busca determinar si existen diferencias entre al menos uno de los tratamientos aplicados. Se presenta los resultados obtenidos en la Tabla 9.

Tabla 9

Valores promedio de semillas contaminadas en Diplostephium hartwegii (Hieron.), Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord. y Gynoxys acostae (Cuatrec.) en cada uno de los tratamientos.

Tratamiento concentraciones de NaClO					
Especie	Valor p	TD0	TD1	TD2	TD3
<i>Diplostephium hartwegii</i>	0.84	5.00 e	2.30 cde	0.50 abc	0.70 abcd
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	0.79	5.50 d	1.70 bcd	0.40 ab	0.60 abc
<i>Gynoxys acostae</i>	0.84	7.00 f	1.70 bcd	0.40 ab	0.60 abc

Nota: La tabla muestra cada uno de los tratamientos utilizados en las tres especies de interés donde TD0= 0% NaClO, TD1= 3% NaClO, TD2= 5% NaClO y TD3= 7% NaClO.

Los resultados se analizaron a partir de la prueba de Kruskal – Wallis donde se encontró que para *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) el tratamiento TD0 presentó el mayor porcentaje de contaminación en cada especie, los cuales fueron 50%, 55% y 75% respectivamente. En *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. TD0 fue significativamente diferente a TD2 y TD3, pero no presentó diferencias significativas respecto a TD1. Por otra parte, en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento TD0 con los tratamientos TD, TD2 y TD3, pero a su vez TD2 y TD3 no presentaron diferencias significativas entre sí.

Con el objetivo de determinar el mejor tratamiento de desinfección para cada especie, se calcularon los porcentajes de semillas contaminadas en cada uno de los tratamientos. Se determinó que en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en TD2 produjo porcentajes de contaminación de 5%, 4% y 4% respectivamente. En la Tabla 10 se muestran los porcentajes de semillas contaminadas en cada uno de los tratamientos.

Tabla 10

Porcentaje de semillas contaminadas en Diplosteghium hartwegii (Hieron.), Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord. y Gynoxys acostae (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos.

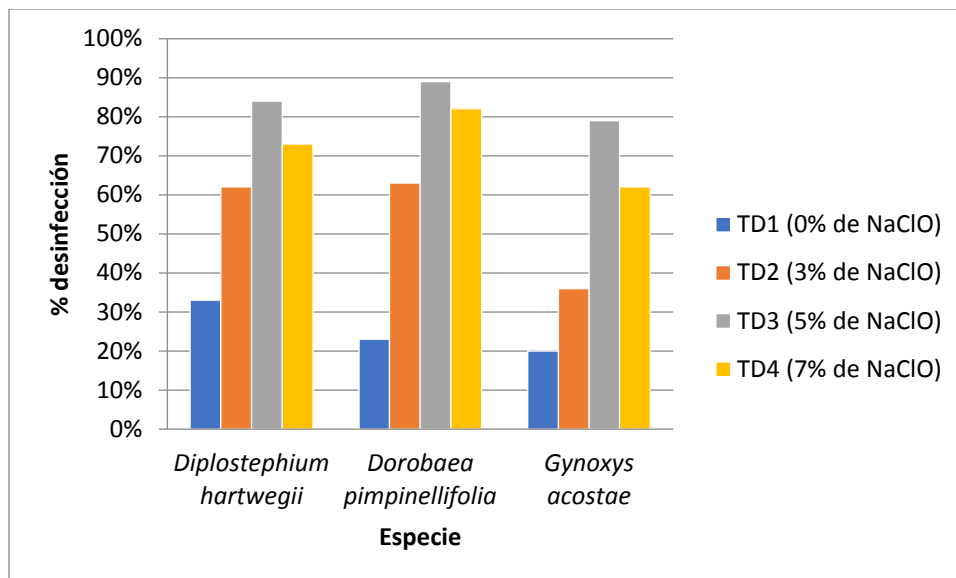
Especie	Semillas contaminadas (%)			
	TD0	TD1	TD2	TD3
<i>Diplosteghium hartwegii</i>	50	23	5	7
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	55	17	4	6
<i>Gynoxys acostae</i>	70	17	8	6

Nota: La tabla muestra el porcentaje de semillas contaminadas en cada uno de los tratamientos utilizados en *Diplosteghium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) donde TD0 a 0% NaClO, TD1 a 3% NaClO, TD2 a 5% NaClO y TD3 a 7% NaClO.

Se determinó a partir de un diagrama de barras el mejor tratamiento para la desinfección de las semillas de *Diplosteghium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). En la figura 28 se observan los porcentajes de desinfección obtenidos en TD0, TD1, TD2 y TD3.

Figura 28

Diagrama de barras de los porcentajes de desinfección en las especies de Diplosteghium hartwegii (Hieron.), Gynoxys acostae (Cuatrec.) y Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.



Nota: Gráfica comparativa de los porcentajes de desinfección TD0 a 0% NaClO, TD1 a 3% NaClO, TD2 a 5% NaClO y TD3 a 7%

NaClO en: *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Se determinó que el mejor tratamiento de desinfección fue TD2, ya que desinfectó las semillas de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en un 84%, 89% y 79% respectivamente. Estos resultados muestran que el mejor tratamiento fue a partir de hipoclorito de sodio al 5%. Adicionalmente, este fue el ensayo que presentó la menor cantidad de semillas necrosadas.

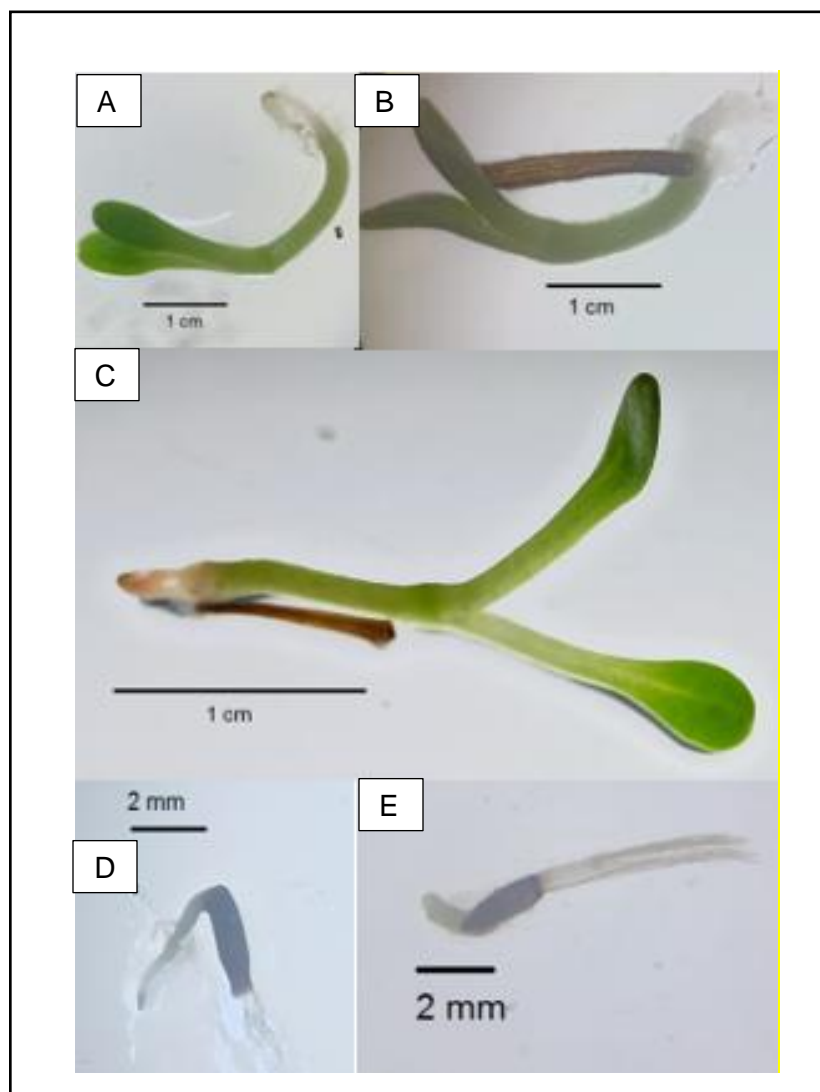
Ensayo de germinación de semillas

Las semillas luego de ser desinfectadas se sembraron en un medio nutritivo Murashige & Skoog (MS) en condiciones asépticas. A continuación, se establecieron las condiciones adecuadas para la germinación basadas en literatura científica a partir de diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG3) a 0, 2.5 y 5mg/L evaluados a 10°C (TG1, TG2 y TG3) y 20°C (TG4, TG5 y TG6).

En la figura 29 se muestran semillas germinadas de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). En el ensayo de germinación se evaluó además el crecimiento de radícula de al menos 2mm.

Figura 29

Semillas germinadas con crecimiento de radícula de al menos 2mm.

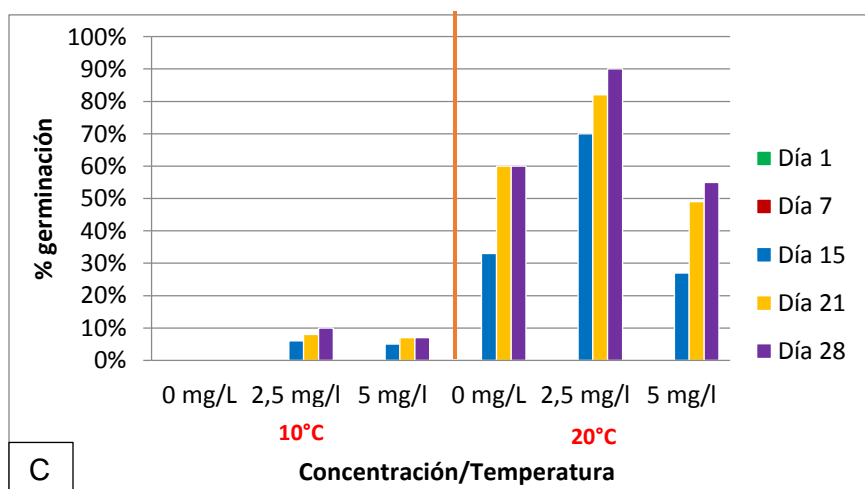
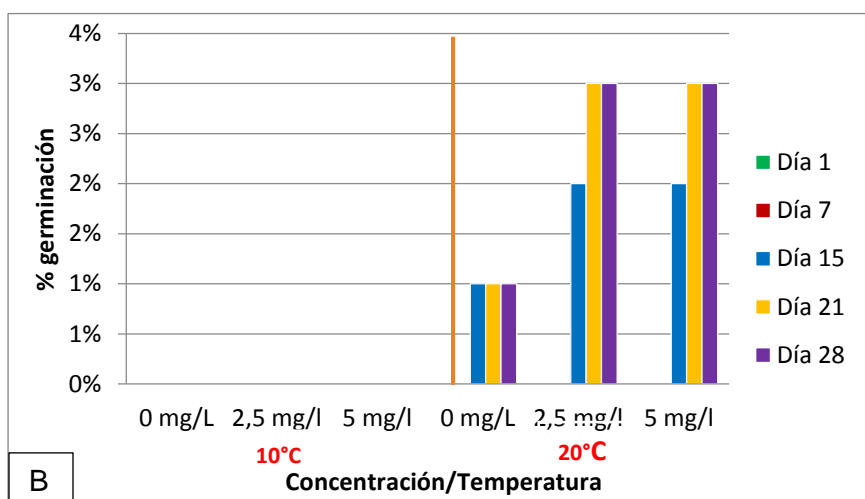
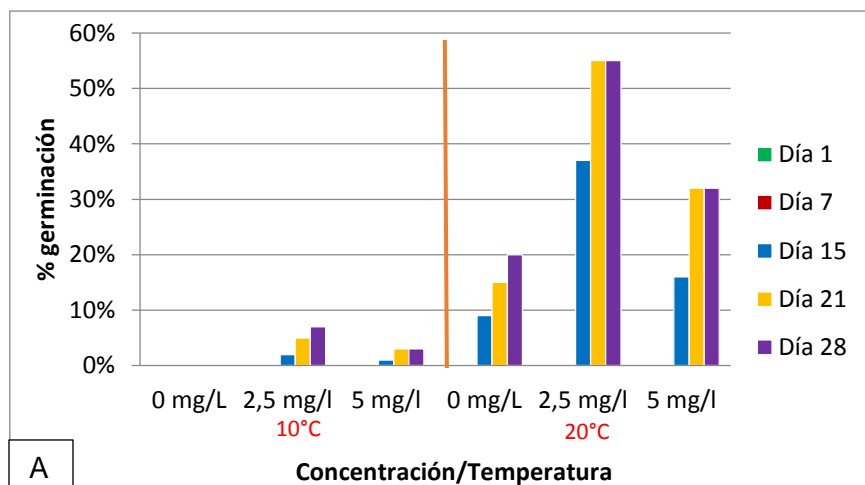


Nota: Se muestra semillas germinadas de las especies estudiadas *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.)

Con el objetivo de determinar el mejor tratamiento de germinación para cada una de las especies, se determinó los porcentajes de contaminación cada 6 días durante todo el ensayo. Los porcentajes de germinación obtenidos para cada especie durante los días 1,7, 15, 21 y 28 se muestran en la Figura 30.

Figura 30

Porcentaje de germinación evaluado a diferentes concentraciones y temperaturas en las especies Diplostephium hartwegii (Hieron.), Gynoxys acostae (Cuatrec.) y Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.



Nota: Representación en barras del porcentaje de germinación en función de la concentración (0, 2.5 y 5 mg/L de AG3) y las temperaturas (10°C y 20°C) según los días transcurridos. Los días están representados así: día 1 (color verde), día 7 (color rojo), día 15 (color azul), día 21 (amarillo) y día 28 (morado). A) *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), B) *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) y C) *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord.

En la figura 30 (A, B y C) se puede observar que existió una baja germinación en los tratamientos realizados a 10°C (TG1, TG2 y TG3) para todas las especies estudiadas. En cambio, en los ensayos realizados a 20°C fue posible observar que la germinación se empezó a presentar a partir de los 15 días de análisis. En *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) entre el 9 y 37%, *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) entre el 1 y 2% y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. entre el 27 y 70%. A partir del día 21 el porcentaje de germinación se mantiene constante hasta el día 28. En *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) entre el 15 y 55%, *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) entre el 1 y 3% y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. entre el 55 y 90%. En resumen, en esta figura se puede observar que los mejores tratamientos de desinfección son TG5 y TG6 con el 2.5 y 5 mg/L de ácido giberélico respectivamente para las 3 especies.

Con el objetivo de determinar el mejor tratamiento de germinación para cada una de las especies se realizó un análisis estadístico a partir de los porcentajes de germinación obtenidos en los días 1,7,15,21 y 28. En este análisis se tomó en consideración el porcentaje de explantes necrosados que se generaron en cada uno de los tratamientos.

Los datos obtenidos en los días de análisis fueron sometidos a la prueba de Shapiro – Wilk y se graficaron en un Q-Q plot donde se determinó que los datos no siguieron una distribución normal. Posteriormente, se analizaron los datos a partir de una prueba de Kruskal – Wallis donde se buscó determinar si existen diferencias entre al menos uno de los tratamientos aplicados. Se presenta los resultados obtenidos en la Tabla 11.

Tabla 11

Valores promedio de semillas germinadas en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos.

Temperatura 10°C	Tratamiento concentraciones de AG3		
Especie	TG1	TG2	TG3
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	0.00 a	1.00 abcd	0.70 abc
<i>Diplostephium hartwegii</i>	0.00 a	0.70 bcd	0.30 abc
<i>Gynoxys acostae</i>	0.00 NA	0.00 NA	0.00 NA
Temperatura 20°C	TG4	TG5	TG6
<i>Gynoxys acostae</i>	0.10 NA	0.30 NA	0.30 NA
<i>Diplostephium hartwegii</i>	2.00 cd	5.50 d	3.20 d
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	6.00 bcde	9.00 e	5.50 de

Nota: La tabla muestra cada uno de los tratamientos utilizados en las tres especies de interés donde (TG1 a 0% AG3, TG2 a 2.5% AG3 y TG3 a 5%) a 10°C de AG3 y (TG4 a 0% AG3, TG5 a 2.5% AG3 y TG6 a 5%) a 20°C de AG3 en cada una de las especies

Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord., *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).

Se analizaron los resultados obtenidos a partir de Kruskal – Wallis donde se encontró que para *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) los tratamientos realizados a la temperatura de 10°C presentaron un porcentaje de germinación del 0% en el tratamiento TG1, TG2 y TG3. En cambio, en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. solo en el tratamiento TG1 los porcentajes de germinación fueron del 0%, mientras que a la temperatura de 10°C los tratamientos TG2 y TG3 no presentaron diferencias significativas.

En el caso de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) a la temperatura de 20°C no se pudo obtener datos suficientes que permitan realizar un análisis estadístico debido a que los porcentajes de

germinación fueron muy bajos 1%, 3% y 3% en los tratamientos TG4, TG5 y TG6 respectivamente. Finalmente, en el caso de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. TG4 y TG6 no presentaron diferencias significativas, pero en el caso de TG5 si se pudo evidenciar diferencias significativas con los tratamientos TG4 y TG6.

Finalmente, para determinar el mejor tratamiento para cada especie, se calculó el porcentaje de semillas germinadas en cada uno de los tratamientos. Se determinó que a la temperatura de 20°C el tratamiento TG5 mostró los mejores porcentajes de germinación de 55%, 90% y 3% para *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) respectivamente. En la Tabla 12 se muestran los porcentajes de semillas germinadas en cada uno de los tratamientos.

Tabla 12

Porcentaje de semillas germinadas en Diplostephium hartwegii (Hieron.), Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord. y Gynoxys acostae (Cuatrec.) cada uno de los tratamientos.

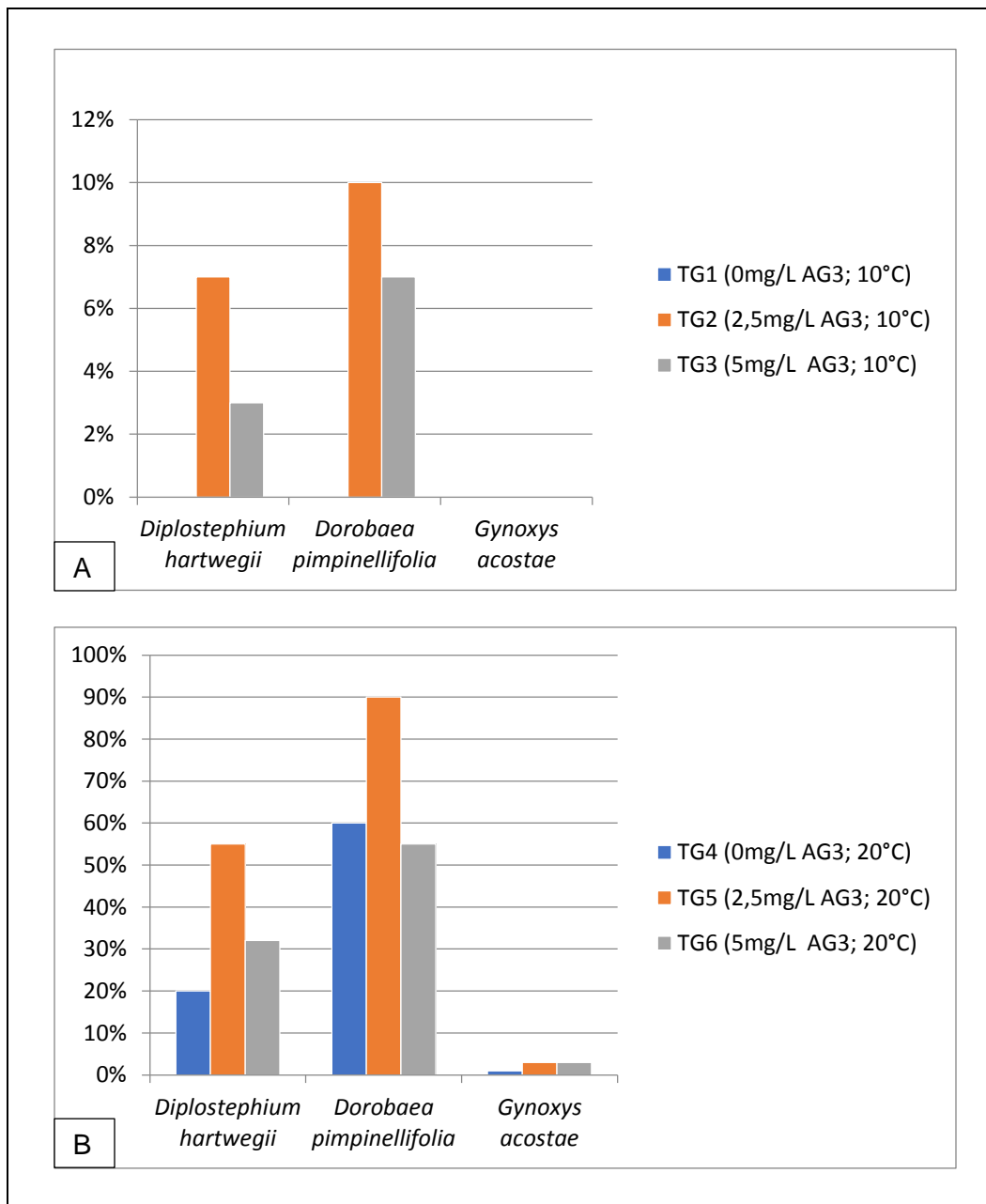
Temperatura 10°C		Semillas germinadas (%)		
Especie	TG1	TG2	TG3	
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	0	10	7	
<i>Diplostephium hartwegii</i>	0	7	3	
<i>Gynoxys acostae</i>	0	0	0	
Temperatura 20°C		TG4	TG5	TG6
<i>Gynoxys acostae</i>	1	3	3	
<i>Diplostephium hartwegii</i>	20	55	32	
<i>Dorobaea pimpinellifolia</i>	60	90	55	

Nota: La tabla muestra el porcentaje de semillas germinadas en cada uno de los tratamientos utilizados en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) donde TG1 a 0mg/L AG3-10°C, TG2 a 2.50mg/L AG3-10°C, TG3 a 5mg/L AG3-10°C, TG4 a 0mg/L AG3-20°C, TG5 a 2.50mg/L AG3-20°C, TG6 a 5mg/L AG3-20°C.

Los resultados de los tratamientos de germinación (TG1, TG2, TG3, TG4, TG5 y TG6) de las semillas *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) se muestran en la figura 31 a manera de gráfico de barras.

Figura 31

Porcentajes de desinfección en las especies de Diplostephium hartwegii (Hieron.), Gynoxys acostae (Cuatrec.) y Dorobaea pimpinellifolia (Kunth) B. Nord.



Nota: Gráfica de barras comparativa de los porcentajes de germinación a 10°C y 20°C en las especies de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) donde A) Ensayo realizado a 10°C y B) Ensayo realizado a 20°C.

En la figura 31 se evidencia que el mejor tratamiento de germinación es el tratamiento TG5 (2.5 mg/L AG3) ya que germinó las semillas de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) en un 55%, 90% y 3%

respectivamente. Es importante mencionar que este tratamiento presentó la menor cantidad de semillas necrosadas.

Capítulo V: Discusión

Descripción morfológica de las semillas

La familia Asteraceae se encuentra ampliamente distribuida alrededor de todo el mundo, sin importar el clima o las condiciones a las que son sometidas. Los páramos no son la diferencia, en estos lugares las especies vegetales se han visto obligadas a desarrollar estrategias que faciliten la dispersión de sus semillas. Según (Torices, 2014), las plantas presentan una adaptación distinta dependiendo del lugar donde se vayan a desarrollar, esto permite que algunas especies produzcan varios tipos de frutos o semillas con diferentes estrategias de dispersión. Es así, el caso de la familia Asteraceae, que a través de un análisis morfológico se ha podido determinar que esta familia ha desarrollado vilanos de diferentes tamaños, formas y con características únicas que les permite propagarse a través del agua, aire o incluso ser transportadas por insectos, aves o herbívoros pequeños facilitando su supervivencia.

Según Martínez y colaboradores (2009), las semillas pesadas y grandes tendrán como síndrome de dispersión la barocoria, que se define como la dispersión de frutos y semillas por medio de la gravedad. Desde la antigüedad se conoce la importancia de la dispersión de semillas a largas distancias, se ha reportado semillas capaces de viajar en agua entre 12 a 40 km. En la actualidad se conoce especies capaces de desplazarse hasta 600 km por acción del agua, animales e incluso por las corrientes de viento. Los beneficios pueden ser diversos como colonizar nuevos sitios, encontrar mejores condiciones ambientales donde mejorar su desarrollo o mantener la diversidad de una comunidad. Según (Vallés & Cespedosa, 2017), algunas especies presentan frutos con alas o vilanos para aumentar su distancia de dispersión.

En el presente estudio se pudo evidenciar la diferencia de tamaño de las semillas estudiadas. Las semillas más grandes fueron las de la especie *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. con un largo total de 12.40 ± 1.75 mm, así mismo presentó el vilano más largo con 7.07 ± 0.99 mm. Posiblemente, estas características permitan que esta especie se encuentre distribuida alrededor del callejón interandino ecuatoriano, expandiéndose incluso a países vecinos como Colombia y Perú. Al contrario de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) que presenta un largo de semilla de 9.45 ± 0.86 mm y largo de vilano de 6.70 ± 0.72 mm, es endémica y se encuentra distribuida en las provincias de Napo, Pichincha y Tungurahua.

El peso también es otro factor que favorece la dispersión de las semillas. Según Martínez y colaboradores (2009), el peso de las semillas juega un papel fundamental en la dispersión, ya que puede facilitar o comprometer este proceso. La especie *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) presentó el peso más bajo de la semilla 0.03179 ± 0.00139 g. En este caso, es posible que esta característica le permita a esta especie incrementar su capacidad de dispersión tomando en cuenta que presenta una distribución a lo largo de la región Sierra y en la frontera con Colombia. La dispersión de semillas es un proceso muy importante en el ciclo de vida de las plantas, además de ser un elemento clave que permite comprender los patrones de distribución y abundancia de cada especie (Velázquez-Escamilla et al., 2019).

Según Valdez-Eleuterio y colaboradores (2015), el tamaño de la semilla de una especie influye tanto en la germinación como en la expresión del vigor de la plántula. Esta característica se ve influenciada por la cantidad de reservas alimenticias que puede proveer para el desarrollo del embrión. Por ende, semillas con cipselas más grandes tienden a contener un embrión de mayor tamaño. Así, se pone en evidencia la relación del tamaño de la cipsela con el tamaño del embrión. El largo de la cipsela en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. fue en promedio mayor (5.27 ± 1.13) al de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) (2.72 ± 0.34) y al de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) (2.48 ± 0.47). Los datos obtenidos muestran que *Dorobaea pimpinellifolia*

(Kunth) B. Nord. posee la cipsela de un mayor tamaño, lo que implica un embrión de mayor tamaño, con mayor cantidad de endospermo y con altas probabilidades de germinar de mejor manera que las otras las otras dos especies.

Los páramos poseen una gran variedad de especies de la familia Asteraceae, lo que podría deberse a las estrategias ecológicas de supervivencia r y k que han desarrollado. Según (Paleologos & Sarandón, 2014), la mayoría de las especies para sobrevivir han desarrollado una combinación de ambas estrategias. Se cree que en el caso específico de la familia Asteraceae han desarrollado ambas estrategias dependiendo la especie y las condiciones a las que se encuentren sometidas. Las especies que desarrollan gran cantidad de semillas en este caso estarían utilizando la estrategia r y en el caso de presentar menor cantidad de semillas estarían generando embriones más grandes y viables.

En relación al número de semillas se pudo evidenciar que *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. posee un mayor número que va entre 197.82 ± 4.86 semillas en comparación con *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) que posee 46.53 ± 2.48 semillas y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) que presenta 14.33 ± 2.34 semillas. Se puede evidenciar una diferencia bastante significativa en la cantidad de semillas que posee cada especie. Posiblemente, esto se produzca por las estrategias ecológicas que utiliza cada especie en base a la supervivencia, tamaño o forma que se presenta en cada una de las inflorescencias de estas especies. En el caso de *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) es de tipo capítulos solitarios, en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) es de tipo capítulos radiados y en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. es de tipo capítulos solitarios (Minga *et al.*, 2016).

La humedad relativa a la que se encuentran sometidas las semillas es un parámetro fundamental a tomar en cuenta en el proceso de germinación de una semilla. Según (García, 2016), las condiciones a la que es sometida una semilla, como la disminución de la temperatura

de almacenamiento y la temperatura de desecación de las semillas son factores importantes. Las temperaturas extremadamente bajas tienden a proliferar la formación de hielo intracelular mientras que la disminución del contenido de humedad por debajo del 2-3 % afecta la cantidad de agua a partir de la cual están constituidas las estructuras y orgánulos celulares. Esto posiblemente provoca un deterioro irreversible de los tejidos de la semilla y por consiguiente un bajo índice de germinación. Las semillas son capaces de almacenar diferentes porcentajes de agua lo cual depende de su composición, forma, tamaño, entre otras características. Se ha evidenciado que el porcentaje de humedad de las semillas utilizadas en el presente estudio no necesariamente se encuentra regulado por el tamaño de la semilla. Esto debido principalmente a que las semillas que presentan el mayor tamaño y peso no son las que más humedad pierden al ser sometidas al ensayo. En este estudio los porcentajes de humedad perdidos fueron *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) 16.94%, *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. 11.57% y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) 7.23%, lo que sugiere que la pérdida de humedad se debe más bien a la composición de la cipsela y su capacidad de retención de agua

Viabilidad de semillas

Se conoce que especies de la familia Asteraceae, Cyperaceae y Poaceae producen gran cantidad de semillas vacías, además de que sus semillas sufren daños por insectos (Liu *et al.*, 2020). En este estudio se ha encontrado un gran porcentaje de semillas vacías entre las tres especies. *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) presentó de 49% a 53% de semillas vacías, mientras que en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) de 81% a 85% y en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. de 30% a 37%.

En el caso particular de la familia Asteraceae se conoce que pueden llegar a presentar al menos un 20% de semillas vacías, llegando a alcanzar porcentajes mayores al 60% en algunos casos (Liu *et al.*, 2020). La producción de semillas vacías se atribuye a procesos de

apomixis. La apomixis se describe como la producción de semillas que no han sufrido la fertilización del óvulo.

Actualmente se conoce que el 75% de las especies confirmadas con apomixis pertenecen a tres familias: Asteraceae, Rosaceae y Poaceae (Zappacosta, 2009). En la apomixis las semillas sufren una reproducción clonal, es decir, replican el genoma exacto de la planta madre, de igual manera cuando la polinización y la fertilización logran el desarrollo del ovario, este óvulo/embrión producido se aborta sin llegar a producir semilla madura (Villacrés, 2022).

En el caso de los ensayos de viabilidad para las tres especies, se obtuvieron porcentajes similares tanto para los ensayos que se realizaron con tetrazolio como con índigo carmín. La viabilidad en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) fue de entre el 22 al 25%, en el caso de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. el porcentaje de viabilidad fue del 55% y para *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) fue entre el 7 y 10% a partir de Tetrazolio y un 7% mediante Índigo carmín. Según (Vargas & Perez-Martinez, 2014) las semillas de ecosistemas altoandinos y de páramo tienden a poseer a tener muy baja viabilidad, lo que se confirma con los resultados obtenidos con esta investigación.

Finalmente, vale destacar que según West (2012), las plantas son capaces de alterar sus patrones reproductivos y fenológicos para enfrentar a los depredadores. Estos eventos fueron evidenciados en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.), *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) al determinar la presencia de larvas dentro de las inflorescencias. Adicionalmente, se determinó que las semillas de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) tienden a ser más atacadas por insectos y sufrir de manera constante perforaciones en la cipsela. Este daño se le puede atribuir al bajo porcentaje de viabilidad que presenta.

Desinfección y germinación de semillas de la familia Asteraceae

En los últimos años se ha visto en aumento la utilización del cultivo *in vitro* debido a las ventajas que presenta, como, por ejemplo, obtener un mayor número de plántulas en un menor tiempo; ya que es posible exponer al explante a condiciones óptimas de humedad, luz, temperatura y nutrientes (Castillo, 2014). Debido a que este proceso se da en condiciones asépticas, es indispensable el establecimiento de un protocolo de desinfección que elimine cualquier tipo de contaminación que pueda afectar el correcto proceso de germinación de la semilla. En este caso en particular, las semillas se colectaron directamente en campo y al ser especies silvestres sin ningún tipo de tratamiento previo el riesgo de contaminación aumenta de manera exponencial.

El desinfectante más a utilizado a nivel de cultivo *in vitro* es el hipoclorito de sodio (NaClO), debido a la actividad bactericida, fungicida, esporicida y bajo costo (Pérez-Martínez & Castañeda-Garzón, 2017b). En la desinfección de semillas de la familia Asteraceae la utilización de 5% de hipoclorito de sodio (NaClO) y un tiempo de inmersión de 5 minutos redujo la contaminación de las muestras. De manera similar, Cardona (2019), reportó que la utilización de 5% de hipoclorito de sodio durante 15 minutos redujo la contaminación fúngica y bacteriana en un 100% en la familia Asteraceae. El tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio recomendado es entre 5 y 15 minutos debido a que tiempos mayores pueden causar que los explantes se necrosen. El hipoclorito de sodio en concentraciones adecuadas es un eficaz escarificante, pero en concentraciones excesivas puede llegar a ser un potente oxidante. El desinfectante más a utilizado a nivel de cultivo *in vitro* es el hipoclorito de sodio (NaClO), debido a la actividad bactericida, fungicida, esporicida y bajo costo (Pérez-Martínez & Castañeda-Garzón, 2017b). En la desinfección de semillas de la familia Asteraceae la utilización de 5% de hipoclorito de sodio (NaClO) y un tiempo de inmersión de 5 minutos redujo la contaminación de las muestras. De manera similar, Cardona (2019), reportó que la utilización

de 5% de hipoclorito de sodio durante 15 minutos redujo la contaminación fúngica y bacteriana en un 100% en la familia Asteraceae. El tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio recomendado es entre 5 y 15 minutos debido a que tiempos mayores pueden causar que los explantes se necrosen. El hipoclorito de sodio en concentraciones adecuadas es un eficaz escarificante, pero en concentraciones excesivas puede llegar a ser un potente oxidante.

La germinación de las semillas es importante para la selección de plantas en futuros programas de conservación mediante bancos de germoplasma (Engels & Visser, 2007). En la germinación es importante la adición de ácido giberélico, hormona que incrementa el porcentaje de germinación de las semillas.

En las especies *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) la utilización de ácido giberélico mostró un efecto positivo en la germinación. Los mejores porcentajes de germinación se obtuvieron a partir de la utilización de 2.5 mg/L de ácido giberélico (AG3) ya que se obtuvo 90% de germinación en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y 55% de germinación en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) a la temperatura de 20°C. En estudios realizados por (N. A. Beltrán, 2022). En estudios realizados por (N. A. Beltrán, 2022), se determina que la influencia del ácido giberélico en el medio de cultivo genera un aumento del porcentaje de germinación, reduce la dormancia y acelera el desarrollo vegetal en especies de la familia Asteraceae. Los tratamientos realizados a la temperatura de 10°C mostraron porcentajes muy bajos de germinación, 10% en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord., 7% en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y 0% en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.), posiblemente debido a que las semillas tienden a entrar en estado de latencia mientras menor es la temperatura a la que son sometidas. Adicionalmente, al ser especies silvestres estas semillas utilizan el estado de latencia para evitar la competencia y asegurar su sobrevivencia. Según Avendaño y colaboradores (2015), la latencia en semillas, es la propiedad de inhibir la germinación durante un determinado periodo de tiempo, esto permite a la semilla evitar la competencia entre

individuos y asegurar su sobrevivencia a periodos inadecuados para el desarrollo de la planta. Esto se considera un rasgo fuertemente influenciado por las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrollan las plantas progenitoras. Finalmente, *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) presentó porcentajes de germinación bajos o nulos de germinación esto posiblemente se deba al alto porcentaje de semillas vacías y no viables que presentó. Así como, al ataque de insectos y plagas en el proceso de germinación.

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar semillas de la familia Asteraceae en bosques andinos del Ecuador. Es uno de los primeros levantamientos de información que se realiza en caracterización morfológica, viabilidad y germinación de las especies *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth.) B. Nord, *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.). Se espera que los resultados obtenidos sean la base de futuras investigaciones de especies andinas del páramo ecuatoriano.

Capítulo VI: Conclusiones

La presente investigación permitió llegar a las siguientes conclusiones:

- La recolección en campo de las especies de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth.) B. Nord, *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) permitió obtener información y realizar fichas técnicas de la forma de vida, hábitat, descripción morfológica y fisiológica de sus estructuras en especial de las semillas como forma, color, textura, dispersión y distribución en los páramos andinos del Ecuador.
- El tamaño del vilano y el peso de las semillas es fundamental en la distribución de las especies de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. y *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) que se encuentran ampliamente distribuidas en el callejón interandino. Así como de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) que es endémica y se encuentra restringida a ciertas provincias del Ecuador.

- En este estudio el tamaño de la cipsela determina el porcentaje de germinación de las semillas influenciando el tamaño del embrión y la cantidad de reservas alimenticias que contiene.
- El ensayo de vialidad en *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth.) B. Nord, *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) y *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) permitió determinar un alto número de semillas vacías, corroborando la importancia del cultivo *in vitro* en estas especies.
- El tratamiento de desinfección más eficiente para las semillas fue a partir de 5% de hipoclorito de sodio durante 5 minutos. En *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. se obtuvo un 89%, en *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) un 84% y en *Gynoxys acostae* (Cuatrec.) un 79% de explantes libres de agentes contaminantes.
- El medio MS suplementado con 2.5mg/L de ácido giberélico a una temperatura de 20°C fue el mejor tratamiento para el establecimiento *in vitro* de *Dorobaea pimpinellifolia* (Kunth) B. Nord. (90%) y *Diplostephium hartwegii* (Hieron.) (55%).

Capítulo VII: Recomendaciones

- Al encontrar un alto porcentaje de semillas vacías, se recomienda aislar embriones viables para realizar cultivo *in vitro* que incremente el porcentaje de obtención de plántulas para futuros planes de germinación en especial de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.).
- Es importante continuar los estudios de *Gynoxys acostae* (Cuatrec.), ya que es una planta endémica del Ecuador y sobre todo es una de las especies que presentó el menor porcentaje de viabilidad y germinación.
- Se sugiere en la fase de campo almacenar las semillas recolectadas a una temperatura de 4°C y libres de humedad, para aumentar su longevidad y evitar alterar sus porcentajes de germinación.

- En la fase de desinfección se sugiere analizar el efecto del hipoclorito de sodio a menores concentraciones por un tiempo más prolongado, para evitar causar necrosamiento en los explantes.

Capítulo VIII: Bibliografía

- Aguilar, M. (2013). *Maleza de la familia Asteraceae en el área urbana de Torreón, Coahuila* [Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7031/MOISES%20AGUILAR%20HERNANDEZ%2C%20ING.%20AGRONOMO%20GENERAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aguirre, Á. D. (2014). *COLECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA DIVERSIDAD DE PLANTAS MEDICINALES DE LAS PROVINCIAS DE LOJA Y COTOPAXI*. 181.
- Álvarez Cisneros, O., Pérez-Reyes, C. M., & Bonilla-Vichot, M. (2020). *Evaluación de la viabilidad en semillas de Pinus tropicales Morelet con diferente tiempo de almacenamiento*. 22(1), 1-9.
- Alzugaray, C., Salinas, A., & Carnevale, N. (2006). *Aplicación de la técnica de rayos x en la evaluación de calidad de semillas forestales nativas: Schinopsis balansae engl. y Aspidosperma quebracho-blanco schlecht*.
- Avendaño, N., Padilla-Garcia, J., Sanchez - Martinez, J., Arellano, L., & Quintana, M. (2015). *EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA INDUCCION DE LATENCIA*.pdf. 6.
- Barone, J., Duarte, E., Luna, C., Barone, J., Duarte, E., & Luna, C. (2016). Determinación de la eficacia de métodos de evaluación de calidad de semillas de especies forestales nativas de la Selva Atlántica. *Quebracho (Santiago del Estero)*, 24(2), 70-71.

- Beltrán, K., Salgado, S., Cuesta, F., León-Yáñez, S., Romoleroux, K., Ortiz, E., Cárdenas, A., & Velástegui, A. (2009). *Distribución espacial, sistemas ecológicos y caracterización florística de los páramos en el Ecuador*. 147.
- Beltrán, N. A. (2022). *RESPUESTA DE PROPAGACIÓN IN VITRO EN HIERON-RESISTEOVEJAS (Chromolaena leivensis) ASTERACEAE ESPECIE SILVESTRE ANDINA*. 44.
- Benito-Matías, L. F., & Sierra, N. H. (2004). *APLICACIÓN DE MÉTODOS COLORIMÉTRICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD EN SEMILLAS DE PINUS PINEA: TEST DE TETRAZOLIO E ÍNDIGO CARMÍN*. 6.
- Bravo, E. (2014). *La Biodiversidad.pdf*. Don Bosco.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf>
- Camacho, M. (2014). Los páramos ecuatorianos: Caracterización y consideraciones para su conservación y aprovechamiento sostenible. *Revista Anales*, 1(372), 77-92.
<https://doi.org/10.29166/anales.v1i372.1241>
- Cardona Torres, B. N. (2019). *GERMINACIÓN IN VITRO Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE COSMOS SULPHUREUS CAV. A PARTIR DE SEMILLAS*. [Universidad Abierta y a Distancia de México].
http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/193/PT2_2091-1_ES1521202370.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Carrillo-Rojas, G., Silva, B., Rollenbeck, R., Céleri, R., & Bendix, J. (2019). The breathing of the Andean highlands: Net ecosystem exchange and evapotranspiration over the páramo of southern Ecuador. *Agricultural and Forest Meteorology*, 265, 30-47.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.11.006>
- Castillo, A. (2014). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: Una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo.pdf*.
<http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf>

- Chuncho-Morocho, & Chuncho, G. (2019). Páramos del Ecuador, importancia y afectaciones: Una revisión. *Bosques Latitud Cero*, 9(2), 71-83.
- Condón, F., & Rossi, C. (2018). *BANCO DE GERMOPLASMA INIA: conservando la diversidad de nuestras plantas*. 52, 52-55.
- Diazgranados, M., Tovar, C., Etherington, T., Rodríguez-Zorro, P., Castellanos-Castro, C., Galvis, M., & Flantua, S. (2021). Ecosystem services show variable responses to future climate conditions in the Colombian páramos [PeerJ]. *Boyacá-Colombia*. <https://peerj.com/articles/11370/>
- Engels, J., & Visser, L. (2007). *Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma—Manuales de Bioersivity para Bancos de Germoplasma No. 6*. Bioersivity International.
- Fernández, D. (2018). *Plantas de los Páramos del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador*. Carmen Ulloa Ulloa. http://inabio.biodiversidad.gob.ec/wp-content/uploads/2018/12/P15_PlantasdelsPramosdelDMQ_vers.pdf
- Franco, T. L., Hidalgo, R., & International Plant Genetic Resources Institute. (2003). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos.
- García, F. P. (2016). *VIABILIDAD, VIGOR, LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS*. 16.
- GREENPACE. (2013). *Páramos en Peligro*. <http://greenpeace.co/pdf/paramos/Informe%20P%C3%A1ramos%20en%20peligro.pdf>
- Hofstede, R., Segarra, P., & Mena, P. (2003). *Los Páramos del Mundo*. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos.
- International Rules for Seed Testing. (2022). Chapter 7: Seed health testing. *International Rules for Seed Testing*, 2022(1), i-7-6. <https://doi.org/10.15258/istarules.2022.07>
- Isch, E. (2012). *El cambio climático y la gestión de páramos* (CAMAREN / AVSF, Agrónomos y Veterinarios Sin Fronteras).

- Jyoti, C., & Malik, P. (2013). *Seed Deterioration: A Review*. 2(3), 374-385.
- Laguna-Ibarra, Y., Cueva-López, J., Tamariz-Angeles, C., & Olivera-Gonzales, P. (2019). Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de senecio calvus (Asteraceae), planta medicinal altoandina, endémica del Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(2), 111-121. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.455>
- Lasso, G. (2009). *GUIÓN TURÍSTICO DE LA RESERVA ECOLÓGICA CAYAMBE - COCA* (p. 78). <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/07/Parque-Nacional-Cayambe-Coca.pdf>
- Liu, U., Cossu, T. A., Davies, R. M., Forest, F., Dickie, J. B., & Breman, E. (2020). Conserving orthodox seeds of globally threatened plants *ex situ* in the Millennium Seed Bank, Royal Botanic Gardens, Kew, UK: The status of seed collections. *Biodiversity and Conservation*, 29(9), 2901-2949. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-02005-6>
- Llambí, L. D., Soto-W., A., Céleri, R., & Bièvre, B. de (Eds.). (2012). *Ecología, hidrología y suelos de páramos: Proyecto Páramo Andino*. Proyecto Páramo Andino.
- Martinez, Y., Castillo, S., & Guardarrama, P. (2009, diciembre). *La dispersión de frutos y semillas.pdf*. 38-41.
- Masini, A. C. A., Rovere, A. E., & Pirk, G. I. (2016). Germinación de *Gutierrezia solbrigii* y *Senecio subulatus*, asteráceas endémicas de Argentina. *Phyton (Buenos Aires)*, 85(2), 314-323.
- Minga, D., Ansaloni, R., Verdugo, A., & Ulloa Ulloa, C. (2016). *Flora del páramo del Cajas*.
- Montoya Aramburu, M. A., Rodríguez, N., Pérez-Almeida, I., & Marín, C. (2008). Identificación de descriptores morfológicos relevantes para la distinción de variedades y líneas élites de arroz venezolano con fines de protección intelectual. *Agronomía Tropical*, 58(3), 223-232.
- Montúfar, M. (2008). Reserva Ecologica Cayambe-Coca. *Cotopaxi Magazine*, 56-59.

- Morales-Betancourt, J. A., & Estévez-Varón, J. V. (2006). *EL PÁRAMO: ¿ECOSISTEMA EN VÍA DE EXTINCIÓN?* 22(1), 39-51.
- Moreno, L., Andrade, G., & Gómez, M. (2019). *BIODIVERSIDAD 2018. Estado y tendencias de la biodiversidad continental de Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Paleologos & Sarandón. (2014). *Capítulo 9 Ecología de poblaciones.pdf*.
https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/20439/mod_resource/content/1/Capitulo%209%20Ecologia%20de%20poblaciones.pdf
- Pérez, F., & Pita, J. (2016). *VIABILIDAD, VIGOR, LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS*. 2112, 16.
- Pérez-Martínez, B. A., & Castañeda-Garzón, S. L. (2017a). Establecimiento *in vitro* de compuestas nativas silvestres a partir del cultivo de semillas. *Foresta Veracruzana*, 19(2), 1-8.
- Pérez-Martínez, B. A., & Castañeda-Garzón, S. L. (2017b). *Establecimiento in vitro de compuestas nativas silvestres a partir del cultivo de semillas*. 19, 11.
- Poulsen, K. (2000). *Análisis de Semillas*. <http://www.bio-nica.info/biblioteca/PoulsenAnalysisSemillas.pdf>
- Rivera Lazo, D. R. (2019). *Germinación de semillas y crecimiento inicial de cuatro especies forestales nativas del bosque de Nero, provincia del Azuay*.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/31737>
- Rivero-Guerra, A. O. (2020). Diversidad y distribución de los endemismos de *Asteraceae* (Compositae) en la Flora del Ecuador. *Collectanea Botanica*, 39, e001-e001.
<https://doi.org/10.3989/collectbot.2020.v39.001>
- Rodríguez-Quilon, I., Adam, G., & Altisent, J. (2008). *Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas* (Vol. 78).

- Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Erler, R., & Navarrete, H. (2019a). *Diplostephium hartwegii* En: *Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi*.
<https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Diplostephium%20hartwegii>
- Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Erler, R., & Navarrete, H. (2019b). *Gynoxys acostae* En: *Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi*.
<https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Gynoxys%20acostae>
- Ropero, S. (2020). PÁRAMO: Características, Flora y Fauna. *Ecosistemas*.
<https://www.ecologiaverde.com/paramo-caracteristicas-flora-y-fauna-2546.html>
- Salazar Mercado, S. A., & Gélvez Manrique, J. D. (2015). Determinación de la viabilidad de semillas de orquídeas utilizando la prueba de Tetrazolio e Índigo Carmín. *Revista de Ciencias*, 19(2), 59-69.
- Salazar, S. A., & Delgado, E. A. B. (2018). Viabilidad de semillas de glycine max (l.) Utilizando la prueba de tetrazolio. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(2), 89-98.
<https://doi.org/10.22490/21456453.2270>
- Sánchez-Chiang, N., & Jiménez, V. M. (2010). Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. *Agronomía Mesoamericana*, 21(1), 193-205.
- Tapia, J. L. (2010). LA FAMILIA ASTERACEAE. *Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales*, 3. https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2010/2010-12-16-Tapia-Asteraceae.pdf
- Torices, R. (2014). La ecología reproductiva de las plantas: Estrategias reproductivas, fuerzas ecológicas y evolutivas. *Ecosistemas*, 23(3), 1-5. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-3.01>
- Valdez-Eleuterio, G., Uscanga-Mortera, E., Kohashi-Shibata, J., García-Nava, R., Martínez-Moreno, D., Torres-García, J., & García-Esteva, A. (2015). Tamaño de semilla,

- granulometría del sustrato y profundidad de siembra en el vigor de semilla y plántula de dos malezas. *Agrociencia*, 49(8), 899-915.
- Vallés, A. G., & Cespedosa, A. M. (2017). *Estimando el potencial dispersivo de sámaras mediante modelos de regresión*. 17.
- Vargas, O., & Perez-Martinez, L. (2014). *Semillas_de_plantas_de_paramo_ecologia_y.pdf*. Universidad Nacional de Colombia. https://www.academia.edu/41275943/Semillas_de_plantas_de_páramo_ecología_y_métodos_de_germinación_aplicados_a_la_restauración_ecológica
- Velázquez-Escamilla, T. L., Díaz-Castelazo, C., Ruiz-Guerra, B., & Velázquez-Rosas, N. (2019). Síndromes de dispersión de semillas en comunidades de bosque mesófilo de montaña, en la región centro de Veracruz, México. *Botanical Sciences*, 97(4), 568-578. <https://doi.org/10.17129/botsci.2095>
- Villacrés, T. (2022). *Evaluación del fotoperíodo y de la temperatura en la germinación in vitro de tres especies presentes en el Parque Nacional Cayambe-Coca: Werneria pygmaea Gillies ex Hook. & Arn., Werneria nubigena Kunth. Y Senecio chionogeton Wedd. (Asteraceae)* [Universidad e las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/28835>
- Vitto, L., & Petenatti, E. (2009). *ASTERÁCEAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA Y AMBIENTAL. PRIMERA PARTE. SINOPSIS MORFOLÓGICA Y TAXONÓMICA, IMPORTANCIA ECOLÓGICA Y PLANTAS DE INTERÉS INDUSTRIAL*. 18, 87-115.
- West, N. M. (2012). Herbivory affects patterns of plant reproductive effort and seed production. *SEED PRODUCTION*, 156.
- Zappacosta, D. C. (2009). *Contribución al conocimiento de la taxonomía y del modo reproductivo del pasto llorón Eragrostis curvula (Schrad.) Nees (p. 173)*. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/2084/Zappacosta.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Capítulo IX: Apéndices