



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

Barbosa Calderón, Sebastian Alejandro

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

Proaño Tuma, Karina Isabel Ph.D.

30 de agosto de 2022



Capítulos I, II, III, IV, V, VI, VII Mestomataceae.docx

Scanned on: 14:45 August 25, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	150
Words with Minor Changes	7
Paraphrased Words	85
Omitted Words	0



Escaneado electrónicamente por:
KARINA
ISABEL
FROANO TUMA



Website | Education | Businesses



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 Melastomataceae en Bosques Andinos del Ecuador”** fue realizado por el señor **Sebastian Alejandro Barbosa Calderón**; 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, 30 de agosto del 2022



Firmado electrónicamente por:

**KARINA
ISABEL**

.....
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, **Sebastian Alejandro Barbosa Calderón**, con cédula de ciudadanía n.º 0503709800, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Melastomataceae 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 y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 30 de agosto del 2022

.....
Sebastian Alejandro Barbosa Calderón

C.I.: 0503709800



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Sebastian Alejandro Barbosa Calderón**, con cédula de ciudadanía n.º 0503709800, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Caracterización morfológica y germinación de semillas de la familia Melastomataceae en Bosques Andinos del Ecuador** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 30 de agosto del 2022

Sebastian Alejandro Barbosa Calderón

C.I.: 0503709800

Dedicatoria

A mi núcleo familiar que me ha apoyado incondicionalmente incluso cuando la luz era
incierta, confiaban en mí cuando yo no lo hacía.

Agradecimientos

A mis tutoras María Claudia Segovia, PhD y Karina Isabel Proaño Tuma, PhD por su incansable vocación de docentes que me han inspirado a dar lo mejor de mí y son mis modelos a seguir. También a Gabriela Pazmiño que su ayuda fue crucial para el desarrollo del proyecto.

A mis colegas y amigos por brindarme su ayuda incondicional durante mi vida universitaria, que compartieron mis logros y me reconfortaron en mis fracasos.

Gracias a los proyectos BIO - GEEC y HANS-BANK, así como otras instituciones que me han dado su apoyo abriéndome las puertas de sus laboratorios como INABIO y Microbiología de los suelos. También a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE y la carrera de Biotecnología por darme la oportunidad de aportar al mundo científico con este proyecto de investigación.

Índice de Contenidos

Informe Copyleaks	2
Certificación	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de Contenidos	8
Índice de Tablas.....	11
Índice de Figuras	14
Resumen.....	15
Abstract.....	16
Capítulo I: Introducción.....	17
Planteamiento del Problema.....	17
Justificación del Problema	18
Objetivos:.....	19
<i>General:</i>	19
<i>Específicos:</i>	19
Hipótesis:.....	20
Capítulo II: Marco Teórico	21
Páramo Andino.....	21

Familia Melastomataceae	24
<i>Brachyotum alpinum</i> Cogn.	24
<i>Brachyotum ledifolium</i> (Desr.) Triana	26
<i>Miconia latifolia</i> (D. Don) Naudin.....	27
Descriptores Morfológicos (DM)	29
Germinación de Semillas	29
Factores de Germinación.....	30
Índice de Viabilidad	31
<i>Prueba de Tetrazolio (TZ)</i>	31
<i>Prueba de Índigo Carmín (IC)</i>	32
<i>Prueba de Germinación Estándar (PGE)</i>	32
Restauración Ecológica	32
Banco de Germoplasma	33
Capítulo III: Metodología.....	35
Recolección de Muestras.....	35
Análisis de Descriptores.....	35
Desinfección de Semillas	36
Índice de Viabilidad	37
<i>Prueba de Tetrazolio</i>	37
<i>Prueba de Índigo Carmín</i>	37
<i>Prueba de Germinación Estándar</i>	38

	10
Factores de Germinación.....	38
Banco de Germoplasma	38
Capítulo IV: Resultados	40
Descripción Morfológica de las Especies Estudiadas	40
<i>Registro de Muestras</i>	40
Descriptores Morfológicos (DM)	43
Desinfección de Semillas	48
Índice de Viabilidad	55
Factores de Germinación.....	59
Capítulo V: Discusión	64
Descripción Morfológica de las Especies Estudiadas	65
<i>Registro de Muestras</i>	65
<i>Descriptores Morfológicos</i>	66
Desinfección de Semillas	67
Índice de Viabilidad	68
Factores de Germinación.....	69
Capítulo VI: Conclusiones	71
Capítulo VII: Recomendaciones	74
Capítulo VIII: Bibliografía	75
Apéndices	82

Índice de Tablas

Tabla 1 Análisis estadístico de masa de semillas de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	44
Tabla 2 Análisis estadístico del tamaño de las semillas de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	44
Tabla 3 Análisis estadístico de hojas de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	45
Tabla 4 Análisis estadístico de semillas por cápsula o baya de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	46
Tabla 5 Análisis estadístico de bayas o cápsulas de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	47
Tabla 6 Análisis estadístico de bayas o cápsulas de las especies <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	49
Tabla 7 Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de <i>M. latifolia</i>	49
Tabla 8 Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de <i>M. latifolia</i>	50
Tabla 9 Análisis de la varianza de la germinación en semillas de <i>M. latifolia</i>	50
Tabla 10 Análisis de la varianza de la contaminación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	51
Tabla 11 Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	51
Tabla 12 Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	52
Tabla 13 Prueba de Duncan respecto a la concentración en la oxidación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	52
Tabla 14 Análisis de la varianza de la germinación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	52

Tabla 15 Análisis de la varianza de la contaminación en semillas de <i>B. alpinum</i>	53
Tabla 16 Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de <i>B. alpinum</i>	53
Tabla 17 Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de <i>B. alpinum</i>	54
Tabla 18 Prueba de Duncan respecto a la concentración en la oxidación en semillas de <i>B. alpinum</i>	54
Tabla 19 Análisis de la varianza de la germinación en semillas de <i>B. alpinum</i>	55
Tabla 20 Porcentajes de germinación de semillas de <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	55
Tabla 21 Porcentajes de tinción con índigo carmín de semillas de <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	56
Tabla 22 Porcentajes de tinción con tetrazolio de semillas de <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	57
Tabla 23 Porcentajes de viabilidad de semillas de <i>B. ledifolium</i> , <i>B. alpinum</i> y <i>M. latifolia</i>	58
Tabla 24 Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de <i>B. ledifolium</i>	60
Tabla 25 Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de <i>B. ledifolium</i>	60
Tabla 26 Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de <i>B. ledifolium</i>	60
Tabla 27 Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de <i>B. alpinum</i>	61
Tabla 28 Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de <i>B. alpinum</i>	61

Tabla 29 Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de <i>B. alpinum</i>	61
Tabla 30 Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de <i>M. latifolia</i>	62
Tabla 31 Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de <i>M. latifolia</i>	62
Tabla 32 Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de <i>M. latifolia</i>	62

Índice de Figuras

<i>Figura 1 Distribución de los páramos en Ecuador</i>	22
<i>Figura 2 Especie Brachyotum alpinum Cogn</i>	25
<i>Figura 3 Especie Brachyotum ledifolium (Desr.) Triana</i>	27
<i>Figura 4 Especie Miconia latifolia (D. Don) Naudin</i>	28
<i>Figura 5 Fichas de descripción general, morfológica y fisiológica de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	40
<i>Figura 6 Semillas de las especies B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	45
<i>Figura 7 Comparación de tamaños de hojas y semillas de las especies B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	46
<i>Figura 8 Cápsulas de las especies B. ledifolium, B. alpinum y la baya de M. latifolia</i>	47
<i>Figura 9 Contaminación de las especies B. alpinum con bacteria, B. ledifolium con hongo y M. latifolia con bacteria</i>	48
<i>Figura 10 Porcentaje de germinación en la PGE de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	56
<i>Figura 11 Semillas teñidas con índigo carmín de B. alpinum, B. ledifolium y M. latifolia</i>	56
<i>Figura 12 Porcentaje de semillas teñidas con índigo carmín de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	57
<i>Figura 13 Semillas teñidas con tetrazolio de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	58
<i>Figura 14 Porcentaje de semillas teñidas con tetrazolio de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	58
<i>Figura 15 Porcentaje de índice de viabilidad de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	59
<i>Figura 16 Semillas germinadas de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia</i>	63

Resumen

El páramo ecuatoriano es un ecosistema propio de la Cordillera de los Andes capaz de regular y almacenar agua atmosférica siendo clave para la diversidad biológica. Con la finalidad de caracterizar la morfología y germinar semillas de la familia Melastomataceae en Bosques Andinos del Ecuador se aplicaron dos fases en el proyecto. La primera inició con el muestreo y caracterización morfológica de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* en el Parque Nacional Cayambe Coca. Los descriptores morfológicos usados fueron la masa y dimensiones de las semillas, las dimensiones de las hojas, las dimensiones de las bayas y cápsulas y el conteo de semillas dentro de estas. En la siguiente fase se realizaron pruebas de viabilidad y germinación de semillas. Las pruebas de viabilidad aplicadas fueron germinación estándar, tinción con índigo carmín y tinción con tetrazolio. Las semillas fueron desinfectadas con diferentes concentraciones de NaClO a varios tiempos de inmersión. La germinación *in vitro* de las semillas se optimizó al probar tratamientos con diferentes concentraciones de GA₃ y temperaturas. Los resultados mostraron porcentajes de viabilidad entre 74 al 84 %. Las concentraciones óptimas de NaClO para *B. alpinum* fueron del 1 %, para *B. ledifolium* del 0.5 % y para *M. latifolia* fueron del 0.5 y 1 % con tiempos de inmersión de 5 min para todas las especies. Los tratamientos óptimos para *B. ledifolium* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃, para *B. alpinum* fue de 400 mg/L GA₃ y para *M. latifolia* fueron de 200 y 400 mg/L GA₃, todos a temperatura de 5 °C. Las semillas de las especies recolectadas tras ser caracterizadas morfológicamente, analizadas mediante pruebas de viabilidad y desinfectadas sin afectar su integridad ni su capacidad germinativa, se determinaron aptas para su almacenamiento en los bancos de germoplasma y su posterior uso en restauraciones ecológicas de bosques andinos en Ecuador.

Palabras clave: Melastomataceae, descriptores morfológicos, viabilidad, desinfección, germinación.

Abstract

The Ecuadorian paramo is an ecosystem from the Andes Mountains that can regulate and store atmospheric water being key for the biological diversity. To characterize morphology and germinate seeds belonging to Melastomataceae family in Ecuadorian Andean forests, two stages were applied in the project. The first one started with sampling and species morphological characterization of *B. ledifolium*, *B. alpinum* and *M. latifolia* at Cayambe Coca National Park. The morphological descriptors used were the mass and dimensions of the seeds, the leaves dimensions of the leaves, the dimensions of the berries and capsules and the count of seeds within them. On the next stage viability tests and seed germination were carried out. The viability tests applied were standard germination, indigo carmine staining and tetrazolium staining. The seeds were disinfected with different concentrations of NaClO at different immersion times. *In vitro* germination of seeds was optimized by testing several treatments with different concentrations of GA₃ and temperatures. The results showed percentages of viability of the species between 74 and 84%. The optimal concentrations of NaClO for *B. alpinum* was 1%, for *B. ledifolium* it was 0.5% and *M. latifolia* 0.5 and 1% with immersion times for all species of 5 min. The optimal treatments for *B. ledifolium* were at concentrations of 200 and 400 mg/L GA₃, for *B. alpinum* it was 400 mg/L GA₃, for *M. latifolia* they were at 200 and 400 mg/L GA₃, all at a temperature of 5 °C. The recollected seeds after being morphologically characterized, analysed by viability tests, disinfected without damaging their integrity nor germination capacity, were determined suitable for storage in gene banks and subsequent use in ecological restorations of Ecuadorian Andean forests.

Keywords: Melastomataceae, morphological descriptors, viability, disinfection, germination.

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del Problema

Ecuador es un país megadiverso con diferentes pisos altitudinales con una gran variedad de climas. Uno de estos pisos climáticos es el páramo andino que se encuentra comprendido entre los 3000 hasta los 4300 m s. n. m.. Los páramos son de vital importancia para la captación de agua atmosférica, ya que son fuente de agua para poblaciones a alturas inferiores. El ecosistema del páramo posee una gran biodiversidad de plantas, dentro de las cuales muchas de ellas son endémicas y de gran importancia (Ely *et al.*, 2005).

Durante los últimos siglos, las actividades humanas han aumentado, alterando estos frágiles ecosistemas con actividades como la construcción de edificaciones y carreteras, cultivos, deforestación, pastoreo, turismo agresivo entre otros (Crespo *et al.*, 2010). El crecimiento de las urbes ha ido reduciendo notablemente las áreas verdes del país, a un ritmo vertiginoso que no brinda oportunidad al ecosistema para recuperarse ni hallar un punto de equilibrio. Así también, la construcción de redes viales ha ido reduciendo las áreas verdes creando un efecto isla, donde las plantas y animales pierden la capacidad de una recombinación genética y aumenta el problema de la endogamia. Este efecto las vuelve más susceptibles a enfermedades, provocando que se vayan reduciendo las poblaciones y se vuelvan especies amenazadas.

Otro problema, es la pérdida de uso de suelo para crear parcelas de tierra con cultivos productivos, ya sea para pequeñas familias o grandes empresas. De manera similar ocurre con el pastoreo y el turismo agresivo, que afectan al suelo y los organismos que viven en los sectores con este tipo de ganado, dejando el suelo inerte y sin protección vegetal alguna. Este problema es común con los incendios forestales, la industria maderera y similares, en los que

se intenta reforestar estas zonas carentes de vegetación con especies invasoras o exóticas que influyen negativamente en el ecosistema.

Es por estas razones, que la vegetación del páramo andino se está reduciendo cada vez más a pesar de jugar un papel clave en las cuencas hidrológicas del Ecuador. Es en los páramos donde se recolecta el agua atmosférica a través de las plantas que condensan el agua que requieren para su crecimiento, así como la movilización de esta al suelo. En este proceso se llega a formar ríos de agua dulce que es de vital importancia para el ser humano, así como al resto de seres vivos.

Todos estos problemas sumados a la escasa información que existe sobre las especies vegetales del páramo provocan que haya cada vez un menor volumen de agua proveniente de este ecosistema.

En los últimos años, el proyecto “BIO-GEEC: German-Ecuadorian Biodiversity Consortium” dentro del programa CoCiBio con el banco de semillas altoandinas HANS-BANK, han propuesto como meta realizar ensayos de laboratorio que permiten comprender mejor estas especies vegetales como su morfología, germinación y viabilidad.

Justificación del Problema

El páramo ecuatoriano es una de las principales fuentes de agua de las ciudades en altitudes menores, siendo capaz de regular y almacenar agua atmosférica. Por esta razón, ofrece varios servicios ecosistémicos como protección del suelo, captura de carbono además de ser clave para la diversidad biológica (Farley *et al.*, 2011).

A pesar de su importancia, el páramo se encuentra amenazado por el ser humano y sus actividades. Estos frágiles ecosistemas se han alterado por el levantamiento de obras civiles, creación de campos de cultivo, deforestación por la industria maderera, el pastoreo y el turismo

agresivo (Crespo *et al.*, 2010). A estos problemas se suma la poca información sobre las especies vegetales que se han descrito en esta área.

Razón por la cual, es un reto la conservación de este ecosistema y el desarrollo de bases de datos con información de especies vegetales del páramo, que permita tener un mayor entendimiento sobre este ecosistema. La optimización de los planes de conservación ecológicos para asegurar que se logren regenerar las poblaciones alteradas es de suma importancia (Peyre *et al.*, 2018).

Este estudio pretende profundizar sobre la familia Melastomataceae como una de las familias más distribuidas en el ecosistema del páramo en el Parque Nacional Cayambe Coca. Estas especies serán caracterizadas morfológicamente basados en descriptores morfológicos adecuados para esta familia, de esta forma estandarizar su identificación y poder realizar pruebas de viabilidad que permitirán aumentar la tasa de reproducción asistida de estas plantas. Así también, poder contar con un banco de germoplasma para aplicar esta información en planes de conservación.

Objetivos:

General:

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

Específicos:

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

- Determinar los parámetros de germinación de las semillas de la familia Melastomataceae.

Hipótesis:

Los tratamientos de laboratorio empleados en la investigación permiten la germinación de semillas de la familia Melastomataceae.

Capítulo II: Marco Teórico

Páramo Andino

El páramo andino es un ecosistema de montaña propio de la Cordillera de los Andes. Según Chunchu Morocho (2019) el páramo andino se encuentra distribuido entre las zonas neotropicales de altura. Estos ecosistemas frágiles se encuentran desde los 3000 hasta los 4300 m s.n.m. de forma discontinua desde Venezuela hasta el norte de Perú (Quintana *et al.*, 2017). El páramo andino se caracteriza por poseer un clima frío desde los 0 hasta los 10 °C en promedio que reduce la tasa de degradación de la materia, junto a una elevada humedad debido a la presencia de nubes, así como de luz solar. Las condiciones climáticas en esta zona suelen ser muy variables, la temperatura puede llegar a variar significativamente entre el aire y el suelo. Esta variación también se puede ver en las tasas de precipitación en los páramos andinos que se hallan entre 700 hasta 3000 mm por año (Gutiérrez-Salazar *et al.*, 2019).

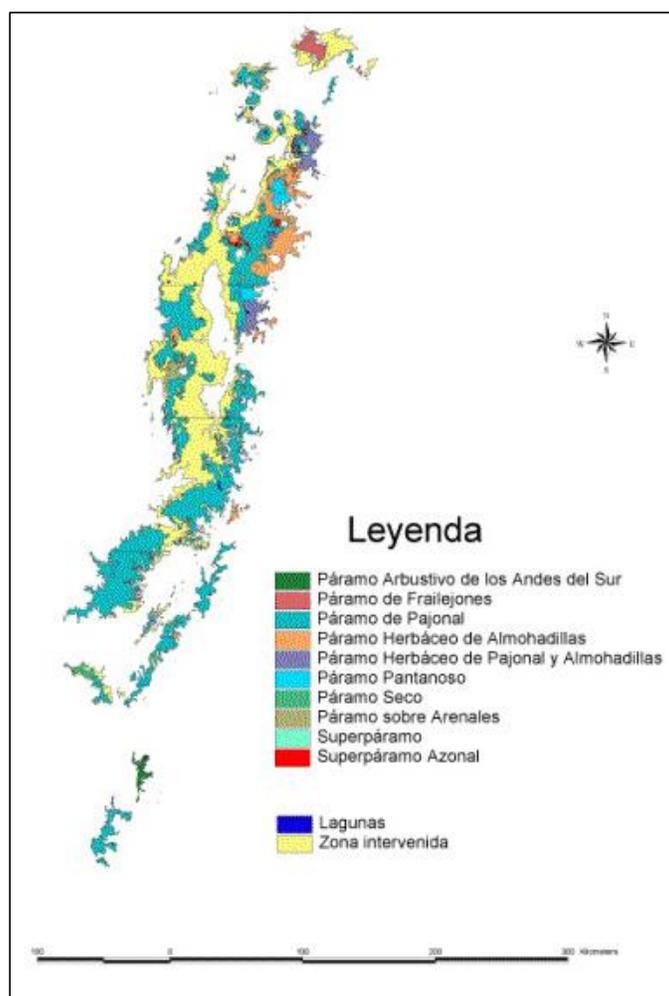
Existen otros ecosistemas en otras partes del mundo como al noroeste de Oceanía, África oriental y lugares elevados en Asia que guardan semejanza con los páramos, tanto por sus paisajes como por su fisiología (Mena Vásconez & Hofstede, 2006). Incluso la puna, que está ubicada al extremo sur de la Cordillera de los Andes es otra formación herbácea de altura, pero lo que hace único al páramo andino es que posee una mayor humedad relativa debido a precipitaciones en forma de lluvia o neblina de manera constante. Estas características hacen que la vegetación de la zona se vuelva más densa sobre el terreno de manera general, si lo comparamos con otros ecosistemas altoandinos (Camacho, 2014).

Los diferentes accidentes geográficos generan distintos microclimas, los cuales marcan tanto las características como la vegetación de los páramos ecuatorianos. En la figura 1 se muestra los diferentes tipos de páramo que se encuentran a lo largo de la cadena montañosa ecuatoriana. Se observa la distribución del páramo arbustivo de los Andes del sur, páramo de

frailejones, páramo de pajonal, páramo herbáceo de almohadillas, páramo pantanoso, páramo herbáceo de pajonal y almohadillas, páramo seco, páramo sobre arenales, superpáramo y superpáramo azonal.

Figura 1

Distribución de los páramos en Ecuador



Nota: Tomado de Los páramos ecuatorianos. (Mena Vásconez & Hofstede, 2006)

El páramo tipo pajonal es el más común, el cual está dominado por plantas de la familia Poaceae con árboles de *Polylepis* formando arboledas en las zonas con un drenaje pobre. Esto

ha generado una alta diversidad de especies vegetales, la más grande entre todos los ecosistemas de montaña alta del mundo (Hofstede & Llambí, 2020).

Ecuador es un punto de alta diversidad biológica debido a su ubicación única y a diversos fenómenos climáticos que convergen en este país. El choque de la corriente cálida del Niño desde el norte y la fría de Humboldt desde el sur, que se mezclan al llegar a las costas ecuatorianas, dan lugar a corrientes de aire. Estas corrientes cálidas desde el mar se desplazan hasta la parte continental, pero al entrar en contacto con la cordillera de los Andes, se condensan formando nubes y neblina que humedecen las montañas del Ecuador. Además, la posición latitudinal hace que en el Ecuador exista una mayor irradiación solar con fotoperiodos similares durante todo el año. Es por estas razones que se generan una gran cantidad de microclimas y hábitats permitiendo que las especies hayan desarrollado estrategias adaptativas para sobrevivir a diferentes condiciones. Esto explica además el elevado endemismo (Zamora Zhiminaicela & Zhiminaycela León, 2020).

La vegetación presente en los páramos es de vital importancia tanto biológica, ecológica y socioeconómica para estos ecosistemas. Su rol principal es la mantención, recolección, regulación y suministro de agua pura para el consumo humano así como para el riego de los cultivos (Madriñán, 2015).

El alto endemismo de este ecosistema se debe a las adaptaciones que han desarrollado las plantas para su supervivencia (Rodríguez Saltos & Bonaccorso, 2016). Las familias más diversas tanto en géneros como especies en los páramos ecuatorianos son Asteraceae, Poaceae, Orchidaceae, Scrophulariaceae, Melastomataceae, Leguminosae, Rubiaceae, Bromeliaceae, Piperaceae, y Solanaceae. Estas familias representan la mitad de la diversidad de la flora de los páramos ya que se adaptan de mejor manera a entornos superiores a los 2000 m s.n.m. (Hoorn *et al.*, 2010).

Familia Melastomataceae

El nombre de esta familia proviene del griego *melas* negro y *stoma* boca, de los frutos que tiñen y dejan la “boca negra” (Antonelli *et al.*, 2018). La familia Melastomataceae se encuentra difundida por las zonas tropicales del planeta. Esta comprende cerca de 180 géneros, de los cuales dos tercios de estos se encuentran en América (Fernández-Sánchez *et al.*, 2020). Abarcan más de 4500 especies, lo que la hace una de las familias más grande del orden de las Myrtales. En América tropical, los focos de diversidad de estas son los Andes, el bosque de la costa lluviosa brasileña y Guayana (Kessler-Rios & Kattan, 2012). La mayor parte de las especies se encuentran en Latinoamérica, siendo la quinta familia más diversa en los páramos andinos (Mena Vásconez & Medina, 2000).

La mayoría de los integrantes de las Melastomataceae son arbustos, hierbas y en raros casos árboles. Esta familia se caracteriza por tener hojas simples opuestas con nervación acródroma de 3 a 9 venas subparalelas. Sus flores bisexuales poseen pétalos libres, con estambres biseriados y dimorfos o también isomorfos. Las anteras suelen estar orientadas hacia un lado de la flor por la presión que ejercen los filamentos. Presentan inflorescencias en forma de cima. Sus frutos pueden ser bayas o cápsulas, con placentación axilar y el ovario inferior (Simpson, 2010).

La importancia económica de esta familia incluye a árboles madereros, plantas de frutales comestibles, colorantes y ornamentales (Simpson, 2010). En esta familia, las especies de *Brachyotum alpinum*, *Brachyotum ledifolium* y *Miconia latifolia*, son importantes a nivel ornamental y maderero, aunque presentan escasa información.

Brachyotum alpinum Cogn.

Esta especie vegetal perteneciente al género *Brachyotum* de la familia Melastomataceae, se encuentra desde los 2500 hasta 4000 m s.n.m. y es endémica del

Ecuador (Cotton & Pitman, 2004). Sus hábitats son los páramos arbustivos y húmedos montanos tropicales y subtropicales. En la sierra ecuatoriana se la puede encontrar en las áreas protegidas de Reserva Ecológica Cayambe Coca, Parque Nacional Sangay y Parque Nacional Llanganates. Esta especie vegetal puede hallarse en las provincias de Azuay, Pichincha, Chimborazo, Bolívar, Morona Santiago, Imbabura y Tungurahua. Aunque falta información para corroborar, podría también encontrarse en otros parques altoandinos de Perú (Penneys *et al.*, 2017).

Esta especie posee una forma de vida arbustiva, logrando alcanzar un tamaño no mayor a 2 m (Fig. 2). Sus flores presentan pétalos negros superpuestos en forma tubular. Presenta inflorescencias amento con cálices rojos y baja pubescencia. Sus hojas son ovaladas, pequeñas de 3 a 5 cm, con borde liso simple y venación acródroma. Las hojas presentan tricomas en los bordes y son cerosas. El tallo es leñoso en las zonas adultas y presenta baja pubescencia, en cambio en las zonas jóvenes el tallo es flexible y de color verde claro. Las flores fecundadas desarrollan cápsulas rojas a partir de los cálices, sin pétalos, lisos y correosos. Las semillas que se forman en el interior de las cápsulas son numerosas y pequeñas, menores a 1 mm, de color amarillo y sin recubrimiento adicional.

Figura 2

Especie *Brachyotum alpinum* Cogn.



Nota: Barbosa, 2022.

Brachyotum ledifolium (Desr.) Triana

Esta planta perteneciente al género *Brachyotum*, también llamada *Pucachaglla* o Arete de Inca, es de importancia económica por su uso ornamental además de alimenticio. Es nativa del páramo andino desde Colombia hasta Perú. Se encuentra en altitudes comprendidas entre 2700 a 4500 m s.n.m. Esta planta presenta una forma de vida arbustiva, no mayor a 2 metros (Fig. 3). Su distribución dentro del territorio ecuatoriano en las áreas protegidas se ve limitada a la Reserva Ecológica Cayambe Coca, Reserva Ecológica Illinizas, Parque Nacional Cotopaxi, Parque Nacional Sangay y Parque Nacional Llanganates.

Las flores de *B. ledifolium* presentan pétalos amarillos verdosos superpuestos en forma tubular. Presenta inflorescencias amento con cálices rosáceos y alta pubescencia. Las hojas son ovaladas, pequeñas de 3 a 5 cm, con borde liso simple, venación acródroma y con pubescencia. El tallo es leñoso en las zonas adultas y presenta pubescencia con tricomas de

menor tamaño, en cambio en las zonas jóvenes el tallo es de color verde pardo. Las flores fecundadas desarrollan cápsulas rosáceas a partir de los cálices, sin pétalos, pubescentes y duros al tacto. Las semillas que se forman en el interior de las cápsulas son numerosas y pequeñas, menores a 1 mm, de color amarillo y sin recubrimiento adicional (Romoleroux *et al.*, 2019).

Figura 3

Especie *Brachyotum ledifolium*



Nota: Barbosa, 2022.

Miconia latifolia (D. Don) Naudin

Miconia latifolia conocida como *Kullka*, es una planta de relevancia económica por su uso como leña y por sus frutos maduros comestibles. Se encuentra por excelencia en el páramo andino, en los bosques montanos orientales y occidentales y en las zonas húmedas

tropicales amazónicas. Su distribución geográfica dentro de Ecuador se limita a las provincias de Cañar, Carchi, Chimborazo, Imbabura, Napo, Pastaza, Pichincha, Morona Santiago, Sucumbíos y Loja. El rango de altitudes donde suele encontrarse con mayor frecuencia esta especie está entre 2500 a 4500 m s.n.m..

Esta planta alcanza una altura de 1 a 2 metros (Fig. 4). Los tallos son de color granate en teretes ascendentes con canales paralelos en su corteza. Las hojas son opuestas simples con borde dentado, lustrosas en el haz, glabras en el envés y presentan nervación acródroma. Las inflorescencias en panículas terminales dan lugar a botones florales de color marrón oscuro. Las flores son bisexuales, tetrámeras con cáliz verde al madurar y presentan cuatro sépalos. Las corolas son blancas con ocho a doce estambres. Las flores fecundadas desarrollan bayas suculentas, las cuales son duras al tacto. Las semillas son lisas, amarillas y con tamaños menores a 1 mm.

Figura 4

Especie *Miconia latifolia* (D. Don) Naudin



Nota: Barbosa, 2022.

Descriptores Morfológicos (DM)

Los descriptores morfológicos son características que permiten distinguir e identificar diferentes especies vegetales. Estas características expresadas son sencillas de medir y registrar, ya que se basan en el comportamiento, estructura o forma de la planta (Hernández Villarreal, 2013).

Los tipos de descriptores que se observan pueden ser cualitativos o cuantitativos (Aguirre Flores, 2014). Los descriptores para cada especie se encuentran regulados por la International union for the protection of new varieties of plants (UPOV, 2002). Los descriptores cualitativos más comunes son el color de hoja apical, el color del peciolo, el color externo del tallo, el color externo de la raíz y el color de la primera hoja central. Los descriptores cuantitativos más comunes son la relación de ancho/largo de tamaño de hoja, el diámetro del tallo, el largo del peciolo, el diámetro de raíces y la altura de la primera ramificación.

Siendo las características más comunes el tamaño de hojas y semillas, la cantidad de semillas por fruto y la masa de las semillas (Ramírez *et al.*, 2014). Algunas características se ven influenciadas por la humedad relativa, debido a la cantidad de agua que poseen los tejidos (Blanco-Valdes *et al.*, 2016).

Germinación de Semillas

Las semillas están constituidas principalmente por el embrión y componentes de reserva que le permiten alimentarse durante sus primeras etapas de vida. Las semillas que han sido almacenadas adecuadamente, poseen un alto índice de viabilidad, sin embargo, es necesario recrear las condiciones adecuadas para su germinación (Pita Villamil & Pérez García, 2014).

El proceso de germinación inicia con la hidratación de la semilla para aumentar su tasa metabólica, lo que se denomina imbibición. Una vez que la semilla ha absorbido suficiente agua

y activa su metabolismo inicia una serie de reacciones mediante la regulación de fitohormonas que detienen el estado de latencia.

La última etapa de la germinación se denomina crecimiento, donde aumenta la tasa metabólica y se forman estructuras como la radícula que es la primera estructura en salir de las cubiertas seminales para anclarse al medio. Cuando la radícula ha brotado, se empieza a agotar rápidamente las reservas de la semilla, por lo que es necesario que empiece a absorber nutrientes y producir su propia energía para el crecimiento de la plántula (Pita Villamil & Pérez García, 2014).

Factores de Germinación

La dificultad para germinar semillas silvestres en condiciones ambientales puede retrasar la producción de plántulas para diversos fines. Para varias especies andinas se debe considerar que son diferentes factores ambientales los que determinan la respuesta germinativa tales como las condiciones de luz, temperatura y humedad relativa. Se debe que tomar en cuenta, además, el estado de la semilla y manejo al que son sometidas (Pita Villamil & Pérez García, 2014).

La gran mayoría de especies andinas no se reproducen de forma vegetativa, por lo que la propagación por semillas juega un papel clave en los planes de remediación ecológica. Por este motivo, se emplean técnicas para determinar el índice de viabilidad de las semillas y también al modificar específicamente las condiciones de germinación, se trata de aumentar la tasa de germinación de las semillas y reducir el tiempo de germinación (Mayo-Mosqueda *et al.*, 2017). Las condiciones de germinación logran ser optimizadas mediante la aplicación de ecuaciones basadas en datos experimentales obtenidos y sus tratamientos estadísticos correspondientes.

Índice de Viabilidad

La viabilidad es el porcentaje de las semillas vivas que tienen la capacidad de germinar y producir plántulas sanas que pueden sobrevivir hasta la etapa adulta. Las condiciones ambientales como la temperatura, humedad, fotoperiodo, intensidad lumínica, entre otros, que se presentan durante el estado de latencia de las semillas, pueden disminuir o aumentar el metabolismo de las mismas. Es por ello, que las semillas se deben almacenar controlando dichas condiciones para asegurar una longevidad a bajas temperaturas y humedad relativa. Es importante conocer la viabilidad de las semillas ya que esto permitirá almacenar solamente las que presenten un alto porcentaje.

Existen diversas pruebas de laboratorio relativamente sencillas, que permiten medir el porcentaje de viabilidad de lotes de semillas, entre ellas las pruebas de germinación sobre papel o estándar (PGE), prueba de índigo carmín (IC) y la prueba de tetrazolio (TZ). Estas técnicas junto al proceso de germinación de semillas permiten realizar un análisis estadístico para calcular el índice de viabilidad de una población (Pérez-Bernal *et al.*, 2013).

Prueba de Tetrazolio (TZ)

Esta prueba se basa en la formación de trifenílformazán a partir de la reacción entre las sales incoloras de tetrazolio con los electrones liberados durante la respiración celular. La solución de trifenílformazán tiñe los tejidos vivos con un color rojo intenso. Esta prueba se realiza para observar la viabilidad de las semillas. Las semillas en latencia se encuentran con una baja humedad relativa y temperatura. Al hidratarlas, estas activan diferentes rutas metabólicas que aumentan la tasa de oxidación, lo que permite la tinción de sus estructuras. Al teñirse completamente o en su mayoría, la semilla es viable y dicho lote se puede almacenar durante cierto periodo de tiempo. Por el contrario, cuando se tiñe parcialmente esta posee tejidos muertos y la semilla no es viable (García Pérez & Pita Villamil, 2014).

Prueba de Índigo Carmín (IC)

La prueba de Índigo Carmín se fundamenta en el aumento de la permeabilidad de la membrana celular cuando las células mueren. La solución de índigo carmín ingresa en las células muertas ya que estas no logran regular el paso de sustancias a través de las membranas. Cuando la solución ingresa en la célula, tiñe todas las estructuras de color azul intenso. Tras la inmersión de las semillas en la solución durante al menos 3 horas a temperatura ambiente, se las debe enjuagar con agua destilada previa a su visualización en el microscopio. Las semillas que no presentan cambios o pocas manchas azules nunca cerca de la radícula se consideran viables y las que sí presentan tinción en la radícula o una coloración completa son semillas no viables. A pesar de que esta prueba no es está aceptada por la International Seed Testing Association (ISTA) es una de las pruebas comunes para analizar viabilidad debido a la facilidad para llevar a cabo y bajo costo (Salazar & Gélvez, 2015).

Prueba de Germinación Estándar (PGE)

La prueba de germinación estándar está fundamentada en la germinación de la semilla luego del estado de latencia. Por lo que la viabilidad de un lote será el porcentaje de semillas que presentan radículas. Este ensayo se realiza colocando las semillas sobre papel filtro humedecido con agua destilada dentro de cajas Petri. Estas placas se depositan en el interior de cámaras de germinación para recrear las condiciones adecuadas para su crecimiento. La presencia de la radícula es el criterio fundamental para determinar el porcentaje de viabilidad de las semillas (García Pérez & Pita Villamil, 2014).

Restauración Ecológica

Una restauración ecológica es un conjunto de acciones con base científica que permiten al ecosistema recuperarse de forma natural en menor tiempo, con relación al daño recibido. La reforestación en áreas afectadas permite activar la capacidad resiliente del ecosistema,

tratando de regenerar las condiciones ambientales, las especies vegetales y animales de la zona (Gann *et al.*, 2019).

Existe cada vez más una destrucción de los ecosistemas por actividades antropogénicas, por lo que es necesario llevar a cabo una restauración ecológica de las áreas afectadas. Para lograr este propósito, se debe seguir modelos específicos adaptados a cada ecosistema. Este proceso no es inmediato, sino que ocurre en diferentes fases y de manera progresiva. Se recomienda un diagnóstico ecológico inicial, una clara definición de objetivos, un plan de desarrollo y ejecución de estrategias, así como la evaluación del progreso de la restauración (Hobbs & Norton, 1996) . Para llevar a cabo la restauración ecológica se puede emplear técnicas como la propagación masiva y el cultivo *in vitro* que pueden culminar en la generación de bancos de germoplasma que son fundamentales en este proceso.

Banco de Germoplasma

El banco de germoplasma es una técnica para la conservación de la diversidad genética de especies vegetales a largo plazo, donde se controlan estrictamente las condiciones ambientales a fin de asegurar un estado de latencia sin perder la viabilidad. En un banco de germoplasma se emplean semillas, tubérculos o raíces, dependiendo del modo de reproducción de la planta. Las principales variables que se controlan son la temperatura y la humedad relativa que deben ser bajas. Así mismo, la luz es otro factor que debe ser controlado, ya que el material vegetal almacenado es fotosensible y puede ocasionar daños irreversibles (Pérez-Bernal *et al.*, 2013).

Las condiciones del banco de germoplasma deben ser reguladas estrictamente. Una vez que se ha recolectado el material vegetal y verificado que es viable el lote a guardar, se tiene que asegurar que se encuentra libre de contaminación antes de proceder. El material vegetal se debe secar hasta alcanzar menos del 5 % del contenido de humedad. Luego se lo debe almacenar en un recipiente adecuado según sus características, debidamente etiquetado

y codificado, a una temperatura de -18 °C. Las muestras deben de ser reemplazadas periódicamente para que no disminuya su viabilidad con el tiempo, cerciorándose que se mantiene la misma calidad genética de la primera muestra (Bonner, 1990).

Existen cerca de seis millones de muestras vegetales almacenadas en 1300 bancos de germoplasma físicos distribuidos por todo el mundo. Algunos de estos se hallan en lugares remotos para evitar perturbaciones a las condiciones de almacenamiento. Otros se encuentran en centros de investigación concurridos para estudiar las especies en cuestión y coleccionar recursos genéticos (Weckwerth *et al.*, 2020).

Capítulo III: Metodología

Recolección de Muestras

La recolección de muestras de las especies *Miconia latifolia* (D. Don) Naudin, *Brachyotum alpinum* Cogn. y *Brachyotum ledifolium* se realizó en el Parque Nacional Cayambe Coca en tres áreas: en el Bosque de Polylepis, al borde del camino viejo a Pifo y el camino a la guardianía. El muestreo se realizó desde febrero hasta junio del 2022 de manera aleatoria en cada una de las zonas de colecta. Se tomaron fotografías de las plantas muestreadas con la aplicación Timestamp Camera v 1.210 para registrar datos como coordenadas geográficas, altitud, hora y fecha. Finalmente, cada muestra se almacenó de manera individual en bolsas de papel. Se etiquetó cada una de ellas con el lugar de recolección según la ficha técnica de recolección de BIOGEEC.

Las muestras de herbario, bayas y cápsulas de *M. latifolia*, *B. alpinum* y *B. ledifolium* se transportaron a los laboratorios de genética evolutiva y conservación de especies vegetales de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en la matriz Sangolquí y al laboratorio de INABIO en el sector el Inca, en Quito. Las muestras de las plantas recolectadas se identificaron en el Herbario Nacional del Ecuador.

Una vez en los laboratorios, las muestras de bayas y cápsulas se dejaron secar en papel absorbente sin presión adicional con *silica* gel y se almacenaron en refrigeración a 12°C. Las muestras de herbario se envolvieron en papel periódico y se colocaron ordenadamente en una prensa en ambiente fresco y seco.

Análisis de Descriptores

En el laboratorio de genética evolutiva y conservación de especies vegetales se registraron los descriptores morfológicos (DM) a partir de las muestras tomadas como: tamaño de hojas, tamaño, peso y número de las semillas. Los datos del tamaño de las hojas se

obtuvieron midiendo el largo y ancho de cada hoja mediante un calibrador. El promedio total del tamaño de la hoja se realizó en base a una muestra de 100 hojas.

El tamaño y el número de las semillas se realizó en cambio mediante un estereomicroscopio acoplado a una cámara con el programa MShot V1.1.6. Se midió el largo y ancho de cada semilla considerando los extremos más alejados y procurando que los ejes sean ortogonales entre sí por la irregularidad de su forma. El promedio del tamaño se obtuvo en base a una muestra de 100 semillas. El conteo del número de semillas se realizó por cada fruto y por triplicado.

El dato del peso de las semillas se obtuvo extrayendo las semillas de los frutos y realizando su conteo. Se colocaron 100 semillas por cada microtubo y se registró su peso. Este valor luego se dividió para 100 y se obtuvo la masa promedio de cada semilla por lote. Este proceso se repitió con 10 lotes.

Los datos se registraron en tablas para su posterior análisis estadístico. El análisis se realizó mediante RStudio para determinar el promedio, mediana, intervalos de confianza y desviación estándar.

Desinfección de Semillas

La desinfección de semillas se llevó a cabo en el laboratorio de INABIO en base al protocolo descrito por Chávez y sus colaboradores en el 2011 e Icaza-Chávez en 2013 con ciertas modificaciones. En primer lugar, se separó cada baya o cápsula del pedúnculo usando estereomicroscopio y pinzas dentro de una caja Petri. Se tomaron lotes de 100 semillas por tratamiento en microtubos etiquetados. Luego se lavaron las semillas en agua destilada, detergente y tween 20 al 1% para su posterior enjuague con agua destilada por 3 veces con la ayuda de pipetas.

A continuación, las semillas se sumergieron en diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio (0.5 y 1 %) y a diferentes tiempos de desinfección (3, 5 y 8 minutos). Las

unidades experimentales fueron cada tubo de ensayo por triplicado en el que se sembraron 5 semillas en su interior. Luego, las semillas se enjuagaron 3 veces con agua estéril y se registró el número de días que se tardaron en germinar, así como la presencia o ausencia de contaminación. Con esta información se realizó el análisis estadístico para evaluar la eficiencia de los tratamientos de desinfección.

Índice de Viabilidad

El índice de viabilidad se determinó mediante la aplicación de las pruebas de tetrazolio (TZ), índigo carmín (IC) y germinación estándar (PGE). Los datos de estas pruebas de TZ, IC y PGE se registraron en tablas para su posterior análisis estadístico. El análisis se realizó mediante RStudio para determinar el porcentaje de viabilidad, promedio, mediana, intervalos de confianza y desviación estándar.

Prueba de Tetrazolio

En esta prueba se tomaron 10 lotes de 5 semillas de cada cápsula o baya por muestra. Cada lote se cubrió con agua destilada por 24 horas en una placa Petri. Una vez hidratadas las semillas, se eliminó el agua restante. El cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio se preparó en solución al 1 % ajustado a un pH de 7 con KH_2PO_4 y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ para sumergir las semillas (Sánchez, 2017). Cada placa Petri se cubrió en papel aluminio e incubó a 100°C por 5 min. Luego se fotografió las semillas y se midió la viabilidad basada en el porcentaje de tinción usando el software ImageJ. La viabilidad se verificó mediante la tinción completa o al menos del 50 % del tejido. Se registraron los resultados como positivo para viables.

Prueba de Índigo Carmín

En esta prueba se tomaron 10 lotes de 5 semillas de cada cápsula o baya por muestra. Cada lote se cubrió con agua destilada por 24 horas en microtubos. Una vez hidratadas las semillas, se eliminó el agua restante. El índigo carmín se preparó en solución al 1.5 % para sumergir las semillas (Benito *et al.*, 2004). Las semillas sumergidas en la solución se cubrieron

con papel aluminio e incubaron a 25 °C por 3 horas. Luego se fotografió las semillas y se midió la viabilidad basada en el porcentaje de tinción usando el software ImageJ. La viabilidad se verificó mediante una tinción nula o a menor al 50 % del tejido. Se registraron los resultados como negativo para viables

Prueba de Germinación Estándar

En la prueba de germinación estándar se desinfectaron las semillas y se sembraron en tubos con medio MS para su posterior almacenamiento en oscuridad a 25 °C. Las unidades experimentales fueron cada tubo de ensayo por triplicado en el que se sembraron 5 semillas en su interior. Las semillas se revisaron diariamente durante 15 días para observar el apareamiento de radícula (Escobar & Cardoso, 2015).

Factores de Germinación

La germinación es un proceso muy importante para la semilla, la cual está influenciada por varios factores. En el análisis de factores de germinación se tomaron semillas viables, se sembraron en medio con diferentes concentraciones de ácido giberélico: 200 y 400 mg/L y se incubaron a diferentes temperaturas (5 y 20 °C). Se realizaron 3 repeticiones por tratamiento manteniendo el fotoperiodo de 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad. Las unidades experimentales fueron cada tubo de ensayo por triplicado en el que se sembraron 5 semillas en su interior. Se registró diariamente la aparición de la radícula. Los datos obtenidos sirvieron para realizar análisis estadísticos en RStudio para determinar mediante un ANOVA y prueba de Duncan si existió diferencia entre el control y las muestras añadidas.

Banco de Germoplasma

Las muestras viables se almacenaron en el banco de germoplasma del laboratorio de genética evolutiva y conservación de especies vegetales de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. En este paso se deben almacenar los lotes desinfectados con mayor índice de viabilidad. Las semillas se secaron sobre papel absorbente a temperatura ambiente, se

contabilizaron con la ayuda de un estereomicroscopio y se almacenaron 500 semillas por tubo. En cada tubo se coloca 1.5 g de *silica* gel, una torunda de algodón, semillas desinfectadas y secas para cubrirlas nuevamente con algodón. Se etiquetó cada tubo y almacenó a 12 °C y oscuridad.

Capítulo IV: Resultados

Descripción Morfológica de las Especies Estudiadas

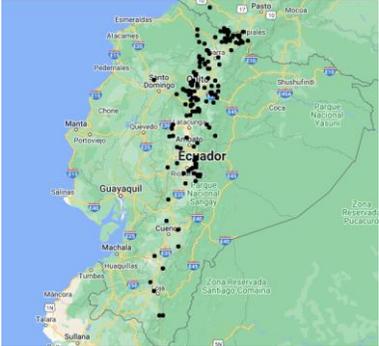
Registro de Muestras

Las muestras vegetales recolectadas se registraron en fichas con una descripción general de sus características según cada especie. Como se observa en la Figura 5 se incluyó información de su forma de vida, el hábitat, una breve descripción morfológica y fisiológica de sus estructuras, su distribución geográfica y datos adicionales de su estado de conservación. El énfasis de la descripción se centró en las características de las semillas como la forma, el color, la textura, la forma de dispersión, algunos datos adicionales y su distribución geográfica. Las fichas descriptivas de las especies muestreadas ofrecieron una guía práctica para facilitar posteriores recolecciones como se muestra en la Figura 5. La línea base sobre cada especie fue resumida en las fichas sirviendo para futuras búsquedas y también como material didáctico. La información sobre la distribución de las especies *M. latifolia* y *B. ledifolium* en el territorio ecuatoriano fue escasa ya que faltaron datos de avistamientos para asegurar una fidelidad.

Figura 5

Fichas de descripción general, morfológica y fisiológica de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

 <p>Foto: Barbosa, S.</p>		DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE	
		Nombre Científico: <i>Brachyotum ledifolium</i> (Desr.) Triana	
		Nombre Común: Pucachaglla o Arete de Inca	
		Familia: Melastomataceae	
		Rango altitudinal: 2500 hasta 4000 m s.n.m.	
		Forma de vida: Arbusto	
		Altura: Hasta 2 m	
MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LA ESPECIE			
Flor	Inflorescencias amento con cálices rosáceos con alta pubescencia y corola amarilla tubular		
Hojas	Ovaladas con borde liso simple, venación acródroma y con pubescencia		

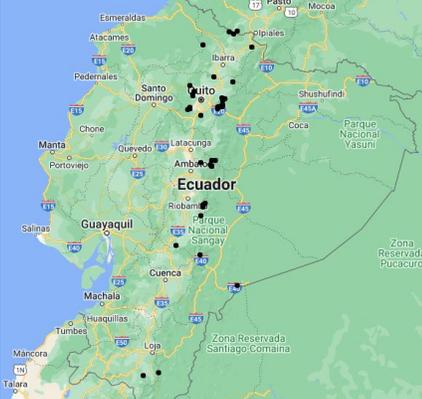
Tallo	Leñoso en las zonas adultas y presenta pubescencia con tricomas de menor tamaño, en cambio en las zonas jóvenes es de color verde pardo	
Fruto	Cápsulas rosáceas, sin pétalos, pubescentes y duras al tacto	
Semilla	Forma: Reniforme	
	Color: Blanca (Inmaduras) a anaranjada (madura)	
	Textura: Rugosa	
	Dispersión del fruto: Dispersión por viento cuando explotan las cápsulas	
DATOS ADICIONALES		DISTRIBUCIÓN
Estatus UICN: Ninguno	Colombia y en Ecuador se halla en la Reserva Ecológica Cayambe Coca, Reserva Ecológica Illinizas, Parque Nacional Cotopaxi, Parque Nacional Sangay y Parque Nacional Llanganates.	
Usos: Restauración ecológica, ornamental		
Propiedades: Antifúngico y antibacterial.		
Fuente: Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Eler, R., Navarrete, H. 2019. <i>Brachyotum ledifolium</i> En: Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi. Version 2019.0 https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Brachyotum%20ledifolium .		

	DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE	
	Nombre Científico: <i>Brachyotum alpinum</i> Cogniaux	
	Familia: Melastomataceae	
	Rango altitudinal: 2500 hasta 4000 m s.n.m.	
	Forma de vida: Arbusto	
Altura: Hasta 2 m		
MORFOLOGÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA ESPECIE		
Flor	Inflorescencias amento con cálices rojos con baja pubescencia y corola negra tubular	
Hojas	Ovaladas con borde liso simple, venación acródroma y con pubescencia	
Tallo	Leñoso en las zonas adultas y presenta pubescencia con tricomas de menor tamaño, en cambio en las zonas jóvenes es de color verde pardo	
Fruto	Cápsulas rosáceas, sin pétalos, correosas y duras al tacto	
Semilla	Forma: Reniforme	
	Color: Blanca (Inmaduras) a anaranjada (madura)	
	Textura: Rugosa	
	Dispersión del fruto: Dispersión por viento cuando explotan las cápsulas	

Foto: Barbosa, S.

DATOS ADICIONALES	DISTRIBUCIÓN	
<p>Estatus UICN: Preocupación menor</p> <p>Usos: Restauración ecológica, ornamental</p> <p>Propiedades: Antifúngico y antibacterial.</p>	<p>En las provincias de Azuay, Pichincha, Chimborazo, Bolívar, Morona Santiago, Imbabura y Tungurahua.</p>	
<p>Fuente: Penneys, D., Cotton, E., Tye, A., Ulloa-Ulloa, C. 2017. <i>Brachyotum alpinum</i>. En: León-Yáñez, S., R. Valencia, N. Pitmam, L. Endara, C. Ulloa Ulloa y H. Navarrete (Eds). Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador. Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Brachyotum%20alpinum</p>		

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE	
 <p>Foto: Barbosa, S.</p>	<p>Nombre Científico: <i>Miconia latifolia</i> (D. Don) Naudin</p>
	<p>Nombre Común: Antumu chinchak, Kullca o Yamu chukchu</p>
	<p>Familia: Melastomataceae</p>
	<p>Rango altitudinal: 2500 hasta 4500 m s.n.m.</p>
	<p>Forma de vida: Arbusto</p>
	<p>Altura: De 1 a 2 m</p>
MORFOLOGÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA ESPECIE	
<p>Flor</p>	<p>Inflorescencias en panículas terminales que dan lugar a botones florales de color marrón oscuro con corolas son blancas</p>
<p>Hojas</p>	<p>Opuestas simples con borde dentado, lustrosas en el haz, glabras en el envés y presentan nervación acródroma</p>
<p>Tallo</p>	<p>De color granate en teretes ascendentes con canales paralelos en su corteza</p>
<p>Fruto</p>	<p>Bayas suculentas de color marrón, las cuales son duras al tacto</p>
<p>Semilla</p>	<p>Forma: Esférica</p> <p>Color: Blanca (Inmaduras) a anaranjada (madura)</p> <p>Textura: Rugosa</p> <p>Dispersión del fruto: Dispersión por animales vectores que incluyen estas bayas en su dieta</p>
DATOS ADICIONALES	DISTRIBUCIÓN

<p>Estatus UICN: Ninguno</p> <p>Usos: Restauración ecológica, maderera, alimenticia.</p> <p>Propiedades: Antifúngico.</p>	<p>En las provincias de Cañar, Carchi, Chimborazo, Imbabura, Napo, Pastaza, Pichincha, Morona Santiago, Sucumbios y Loja.</p>	
<p>Fuente: Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Erler, R., Navarrete, H. 2019. <i>Miconia latifolia</i> En: Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi. Version 2019.0.</p>		

Descriptorios Morfológicos (DM)

En la caracterización de especies vegetales se emplean descriptorios morfológicos (DM) para la identificación de las plantas que se estudian. Los DM empleados deben ser muy evidentes y únicos de dicha especie para evitar confusiones. Durante la caracterización de las especies, se emplearon DM como tamaños de hojas, semillas y cápsulas o bayas, masa, número de semillas por baya o cápsula.

En la Tabla 1 se resumen los datos obtenidos de las masas de las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*. Las semillas se midieron en lotes de 100 en la balanza analítica debido a que esta no lograba registrar la masa individual de cada una. El protocolo que se llevó a cabo fue masar los microtubos etiquetados vacíos y contrastar su masa con los microtubos que contenían las 100 semillas. La diferencia de masa entre microtubos llenos y vacíos representó la masa de 100 semillas. Los datos sobre masas de semillas resumidas en la Tabla 1 refleja que las semillas de *B. alpinum* fueron más pesadas en promedio comparadas con la otra especie del mismo género dentro del estudio. La desviación estándar de *B. alpinum* fue menor y el intervalo de confianza era más estrecho que su especie homóloga dentro del género. Las semillas *M. latifolia* en promedio fueron las más pesadas del estudio y su intervalo de confianza fue más estrecho que las otras dos especies caracterizadas.

Tabla 1

Análisis estadístico de masa de semillas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Estadístico	Valor [g]		
	<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
Promedio	1.490E-05	1.830E-05	5.440E-05
Mediana	1.400E-05	1.800E-05	5.000E-05
Desviación estándar	3.645E-06	3.523E-06	3.451E-05
Intervalo de confianza	2.259E-07	2.183E-07	2.139E-06

En la Tabla 2 se resumen los datos obtenidos de longitudes y anchos de las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*. Se analizaron estadísticamente por separado la longitud y el ancho de las semillas de todas las especies. La Tabla 2 muestra que las semillas de *Brachyotum ledifolium* eran más grandes que las de *Brachyotum alpinum* y las más grandes de todas las especies fueron las de *Miconia latifolia* en promedio. Las medidas de las semillas de longitud de *B. alpinum* fueron las menos variables mientras que las que presentaron mayor variabilidad fueron las de *M. latifolia*.

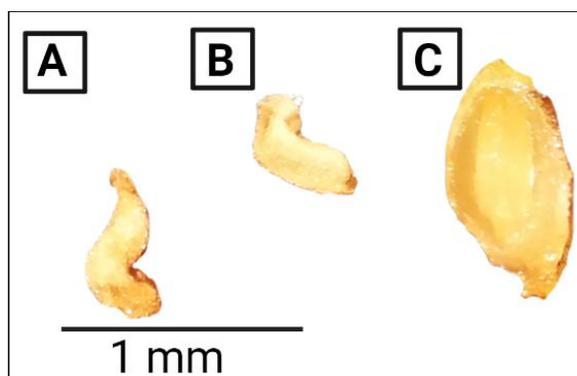
Tabla 2

Análisis estadístico del tamaño de las semillas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Estadístico	Valor [mm]		
	<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
Promedio	6.49E-01	5.060E-01	8.639E-01
Mediana	6.05E-05	4.700E-01	8.800E-01
Longitud Desviación estándar	1.79E-01	1.513E-01	1.922E-01
Intervalo de confianza	1.11E-02	9.379E-03	1.192E-02
Promedio	4.03E-01	2.287E-01	5.347E-01
Mediana	3.90E-01	2.050E-01	5.500E-01
Ancho Desviación estándar	1.10E-01	1.094E-01	1.186E-01
Intervalo de confianza	2.16E-02	2.145E-02	2.325E-02

Figura 6

Semillas de las especies *B. ledifolium* (A), *B. alpinum* (B) y *M. latifolia* (C)



La Tabla 3 muestra los datos analizados estadísticamente de las longitudes y los anchos de las hojas de las tres especies caracterizadas. Las dimensiones se analizaron estadísticamente por separado la longitud y el ancho de las hojas de cada especie. En la Tabla 3 se observa que las hojas de *B. ledifolium* presentaron un mayor tamaño en relación con la otra especie del mismo género en el estudio y poseían una mayor pubescencia. Las hojas de *B. alpinum* presentaron un color verde más oscuro en relación con la otra especie del mismo género en el estudio. Las hojas de *M. latifolia* presentaron un revestimiento ceroso en el haz de la hoja y una pubescencia ligera en su envés además que fueron las más grandes de todas las especies estudiadas.

Tabla 3

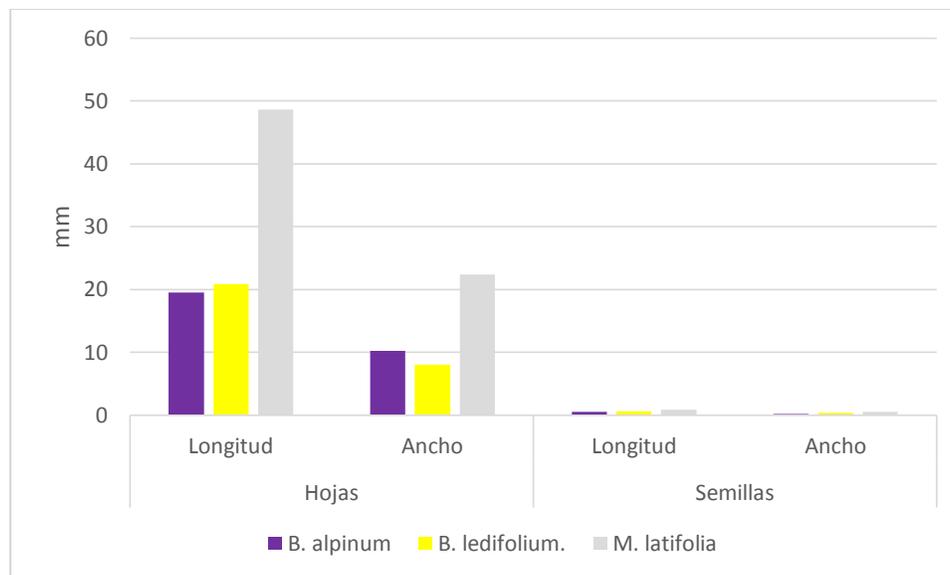
Análisis estadístico de hojas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Estadístico		Valor [mm]		
		<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
Longitud	Promedio	2.084E01	1.951E01	4.865E01
	Mediana	2.085E01	2.030E01	4.695E01
	Desviación estándar	2.463E00	5.554E00	7.124E00
	Intervalo de confianza	1.527E-01	3.442E-01	4.415E-01
Ancho	Promedio	8.024E00	1.027E01	2.249E01
	Mediana	8.150E00	1.100E01	2.048E01
	Desviación estándar	1.001E00	3.271E00	5.265E00

Intervalo de confianza 1.962E-01 6.411E-01 1.032E00

Figura 7

Comparación de tamaños de hojas y semillas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*



La Tabla 4 muestra los datos analizados estadísticamente de la cantidad de semillas contenidas en las cápsulas o bayas de las tres especies caracterizadas. El análisis estadístico del conteo de semillas presentado en la Tabla 4 muestra que *M. latifolia* tuvo un intervalo de confianza más estrecho que el resto de las especies y el más amplio fue el de *B. alpinum*. La especie *B. ledifolium* registró en promedio un mayor número de semillas que todas las especies, seguida por *B. alpinum* y *M. latifolia* presentó la menor cantidad de semillas por baya. La variabilidad del conteo de semillas fue mayor en *M. latifolia* seguido de *B. alpinum* y la más homogénea fue *B. ledifolium*.

Tabla 4

Análisis estadístico de semillas por cápsula o baya de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Estadístico	Valor [semillas]		
	<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
Promedio	1.372E03	8.208E02	4.190E01
Mediana	3.578E01	6.581E01	9.502E00
Desviación estándar	1.385E03	8.045E02	4.250E01
Intervalo de confianza	2.218E00	4.079E00	5.889E-01

La Tabla 5 muestra los datos analizados estadísticamente de las longitudes y los anchos de las cápsulas y bayas de las tres especies caracterizadas. Las dimensiones se analizaron estadísticamente por separado, la longitud y el ancho de las cápsulas o bayas de cada especie. Las cápsulas de *B. ledifolium* presentaron una mayor longitud y ancho mientras que las bayas de *M. latifolia* destacaron por su mayor longitud entre las tres especies caracterizadas. Las bayas de esta última especie presentaron menor variación de tamaño entre todas las especies medidas. Estas medidas presentadas en la Tabla 5 se analizaron estadísticamente y *M. latifolia* presentó menor variabilidad en longitud y ancho.

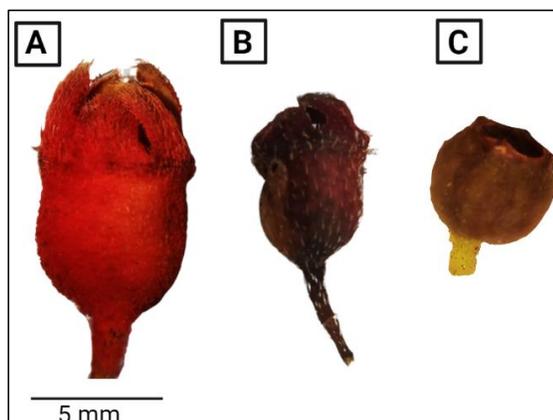
Tabla 5

Análisis estadístico de bayas o cápsulas de las especies B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia

Estadístico	Valor [mm]			
	<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>	
Longitud	Promedio	1.340E01	1.072E01	6.416E00
	Mediana	1.859E00	1.059E00	3.527E-01
	Desviación estándar	1.360E01	1.110E01	6.350E00
	Intervalo de confianza	1.152E-01	6.564E-02	2.186E-02
Ancho	Promedio	7.610E00	6.330E00	4.615E00
	Mediana	3.780E-01	5.330E-01	6.356E-01
	Desviación estándar	7.700E00	6.250E00	4.500E00
	Intervalo de confianza	2.343E-02	3.304E-02	3.940E-02

Figura 8

Cápsulas de las especies B. ledifolium (A), B. alpinum (B) y la baya de M. latifolia (C)



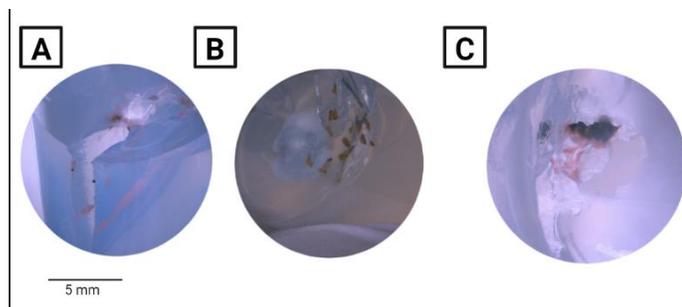
Desinfección de Semillas

La desinfección de semillas es un protocolo importante ya que permite eliminar fuentes de contaminación que pueden echar a perder el material vegetal. Dependiendo de la naturaleza de la muestra, el protocolo de desinfección puede ser más agresivo sin comprometer la integridad de los tejidos internos. El estado de los tejidos determinará la capacidad de germinación de las semillas tratadas por lo que se debe evitar una oxidación excesiva.

Los tratamientos que se emplearon para desinfectar las semillas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* fueron lavado con agua y detergente, seguido de inmersión en hipoclorito de sodio. Las concentraciones del NaClO fueron de 0.5 y 1 %, además de los tiempos de inmersión fueron de 3, 5 y 8 minutos.

Figura 9

Contaminación de las especies *B. alpinum* con bacteria (A), *B. ledifolium* con hongo (B) y *M. latifolia* con bacteria (C)



En la Tabla 6 se muestra el ANOVA de la contaminación de las unidades experimentales de *M. latifolia* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La concentración tuvo un p-valor inferior al nivel de significancia 0.05 por lo que los resultados son estadísticamente significativos y se rechazó la hipótesis nula. La desinfección de las semillas de *M. latifolia* se vio analizado estadísticamente en la Tabla 6 respecto a la contaminación.

Tabla 6

Análisis de la varianza de la contaminación en semillas de M. latifolia

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12.44	4	3.11	7.00	0.0430
Concentración	11.56	2	5.78	13.00	0.0178
Tiempo	0.89	2	0.44	1.00	0.4444
Error	1.78	4	0.44		
Total	14.22	8			

En la Tabla 7 se observa la comparación por concentraciones de hipoclorito de sodio y su efecto en la contaminación. Para verificar la diferencia entre medias de la concentración se llevó a cabo el Duncan test donde las mejores concentraciones fueron 0.5 y 1 % como se observa en la Tabla 7.

Tabla 7

Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de M. latifolia

Concentración [%]	Medias	n	E.E.	Grupo
1.0	0.33	3	0.38	A
0.5	1.00	3	0.38	A

0.0 3.00 3 0.38 B

En la Tabla 8 se muestra el ANOVA de la oxidación de las unidades experimentales de *M. latifolia* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La tabla ANOVA muestra que todos los p-valores eran mayores que el nivel de significancia 0.05 por lo que se mantiene la hipótesis nula. En el ANOVA de la Tabla 8 al mantenerse la hipótesis nula quiere decir que los datos no eran estadísticamente significativos.

Tabla 8

Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de M. latifolia

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9.78	4	2.44	2.59	0.1897
Concentración	6.89	2	3.44	3.65	0.1254
Tiempo	2.89	2	1.44	1.53	0.3211
Error	3.78	4	0.94		
Total	13.56	8			

En la Tabla 9 se muestra el ANOVA de la germinación de las unidades experimentales de *M. latifolia* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. Los p-valores de los tratamientos del ANOVA fueron mayores que el nivel de significancia 0.05 por lo que se mantiene la hipótesis nula. En la Tabla 9 como se mantiene la hipótesis nula, los tratamientos no tienen variaciones estadísticamente significativas.

Tabla 9

Análisis de la varianza de la germinación en semillas de M. latifolia

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.44	4	0.61	1.38	0.3826
Concentración	1.56	2	0.78	1.75	0.2844
Tiempo	0.89	2	0.44	1.00	0.4444
Error	1.78	4	0.44		
Total	4.22	8			

En la Tabla 10 se muestra el ANOVA de la contaminación de las unidades experimentales de *B. ledifolium* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La tabla ANOVA muestra que todos los p-valores eran mayores que el nivel de significancia 0.05 por lo que se mantiene la hipótesis nula. El protocolo de desinfección de las semillas de *B. ledifolium* se vio analizado estadísticamente en la Tabla 10 respecto a la contaminación y cómo se mantiene la hipótesis nula, los tratamientos no tuvieron variaciones estadísticamente significativas.

Tabla 10

Análisis de la varianza de la contaminación en semillas de B. ledifolium

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.67	4	0.67	2.00	0.2593
Concentración	2.67	2	1.33	4.00	0.1111
Tiempo	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Error	1.33	4	0.33		
Total	4.00	8			

En la Tabla 11 se observa la comparación por concentraciones de hipoclorito de sodio y su efecto en la contaminación. Para verificar la diferencia entre medias de la concentración se llevó a cabo la prueba de Duncan donde las mejores concentraciones fueron 0.5 y 1 % como se observa en la Tabla 11.

Tabla 11

Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de B. ledifolium

Concentración [%]	Medias	n	E.E.	Grupo
1.00	0.00	3	0.19	A
0.50	0.67	3	0.19	A
0.00	3.00	3	0.19	B

En la Tabla 12 se muestra el ANOVA de la oxidación de las unidades experimentales de *B. ledifolium* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. En el ANOVA de la Tabla 12 al aceptarse la hipótesis alterna quiere decir los

datos sí eran estadísticamente significativos por lo que se analizó su variación con una prueba de Duncan resumida en la Tabla 13.

Tabla 12

Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de B. ledifolium

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.78	4	0.94	8.50	0.0309
Concentración	3.56	2	1.78	16.00	0.0123
Tiempo	0.22	2	0.11	1.00	0.4444
Error	0.44	4	0.11		
Total	4.22	8			

En la Tabla 13 se observa la comparación por concentraciones de hipoclorito de sodio y su efecto en la oxidación.

Tabla 13

Prueba de Duncan respecto a la concentración en la oxidación en semillas de B. ledifolium

Concentración [%]	Medias	n	E.E.	Grupo
0.50	0.00	3	0.19	A
0.00	0.00	3	0.19	A
1.00	1.33	3	0.19	B

En la Tabla 14 se muestra el ANOVA de la germinación de las unidades experimentales de *B. ledifolium* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La tabla ANOVA muestra que todos los p-valores eran mayores que el nivel de significancia 0.05 por lo que se mantiene la hipótesis nula. Las concentraciones de 0 y 0.5 fueron las que presentaron un mejor desempeño en los experimentos con menor oxidación para *B. ledifolium*. El ANOVA de la germinación resumido en la Tabla 14 presentaron p-valores mayores todo a 0.05 por lo que no eran estadísticamente diferentes los tratamientos y se mantuvo la hipótesis nula.

Tabla 14

Análisis de la varianza de la germinación en semillas de B. ledifolium

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.67	4	0.67	2.00	0.2593
Concentración	2.67	2	1.33	4.00	0.1111
Tiempo	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Error	1.33	4	0.33		
Total	4.00	8			

En la Tabla 15 se muestra el ANOVA de la contaminación de las unidades experimentales de *B. alpinum* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La desinfección de las semillas de *B. alpinum* se analizó estadísticamente en la Tabla 15 respecto a la contaminación y se aceptó la hipótesis alterna ya que los tratamientos tuvieron variaciones estadísticamente significativas.

Tabla 15

Análisis de la varianza de la contaminación en semillas de B. alpinum

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15.11	4	3.78	4.86	0.0775
Concentración	13.56	2	6.78	8.71	0.0348
Tiempo	1.56	2	0.78	1.00	0.4444
Error	3.11	4	0.78		
Total	18.22	8			

En la Tabla 16 se observa la comparación por concentraciones de hipoclorito de sodio y su efecto en la contaminación. Para verificar la diferencia entre medias de la concentración se llevó a cabo la prueba de Duncan donde la mejor concentración fue al 1 % como se observa en la Tabla 16.

Tabla 16

Prueba de Duncan respecto a la concentración en la contaminación en semillas de B. alpinum

Concentración [%]	Medias	n	E.E.	Grupo
1.00	0.00	3	0.51	A
0.50	1.67	3	0.51	A B
0.00	3.00	3	0.51	B

En la Tabla 17 se muestra el ANOVA de la oxidación de las unidades experimentales de *B. alpinum* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. En el ANOVA de la Tabla 17 al aceptarse la hipótesis alterna para la concentración de NaClO porque los datos eran estadísticamente significativos.

Tabla 17

Análisis de la varianza de la oxidación en semillas de B. alpinum

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10.44	4	2.61	23.50	0.0049
Concentración	9.56	2	4.78	43.00	0.0020
Tiempo	0.89	2	0.44	4.00	0.1111
Error	0.44	4	0.11		
Total	10.89	8			

En la Tabla 18 se observa la comparación por concentraciones de hipoclorito de sodio y su efecto en la oxidación. En la Tabla 18 se resumió la prueba de Duncan donde las mejores concentraciones fueron 0 y 0.5 % para tener una menor oxidación en las semillas desinfectadas.

Tabla 18

Prueba de Duncan respecto a la concentración en la oxidación en semillas de B. alpinum

Concentración [%]	Medias	n	E.E.	Grupo
0.00	0.00	3	0.19	A
0.50	0.33	3	0.19	A
1.00	2.33	3	0.19	B

En la Tabla 19 se muestra el ANOVA de la germinación de las unidades experimentales de *B. alpinum* a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones de NaClO a diferentes concentraciones. La tabla ANOVA muestra que todos los p-valores eran mayores que el nivel de significancia 0.05 por lo que se mantiene la hipótesis nula. El ANOVA para la germinación resumido en la Tabla 19 presentaron p-valores mayores todo a 0.05 por lo que no eran estadísticamente diferentes los tratamientos y se mantuvo la hipótesis nula.

Tabla 19

Análisis de la varianza de la germinación en semillas de B. alpinum

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.44	4	0.61	1.38	0.3826
Concentración	1.56	2	0.78	1.75	0.2844
Tiempo	0.89	2	0.44	1.00	0.4444
Error	1.78	4	0.44		
Total	4.22	8			

Índice de Viabilidad

En el índice de viabilidad es importante determinar el porcentaje de semillas que podrán germinar para que puedan ser almacenadas en bancos de germoplasma o aprovechadas inmediatamente.

La capacidad de germinación de las semillas se mide mediante el índice de viabilidad. El índice permite determinar si un lote de semillas es apto para almacenamiento en los bancos de germoplasma o su aprovechamiento inmediato.

Existen diversas pruebas de laboratorio relativamente sencillas, que permiten medir el porcentaje de viabilidad de lotes de semillas, entre ellas las pruebas de germinación sobre papel o estándar (PGE), prueba de índigo carmín (IC) y la prueba de tetrazolio (TZ). Estas técnicas junto al proceso de germinación de semillas permiten realizar un análisis estadístico para calcular el índice de viabilidad de una población.

En la prueba de germinación estándar se siembran las semillas en un medio simple como papel toalla humedecido o medio MS a la mitad de su concentración y se contarán como positivo las semillas que desarrollen radículas. En la Tabla 20 se muestran los porcentajes de germinación de las semillas por PGE donde todas las especies tenían un alto índice.

Tabla 20

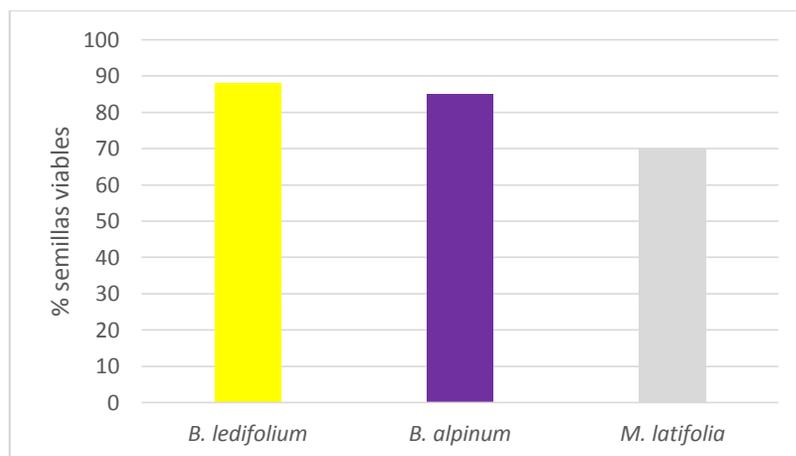
Porcentajes de germinación de semillas de B. ledifolium, B. alpinum y M. latifolia

Porcentaje de germinación [%]

<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
88	85	70

Figura 10

Porcentaje de germinación en la PGE de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*



En la prueba de índigo carmín se sumergen las semillas en una solución al 1.5 % de este reactivo y se tiñen los tejidos muertos de las semillas. En la Tabla 21 se muestran los porcentajes de viabilidad basado en la tinción con índigo carmín al 1.5 %. El porcentaje de tinción de las semillas en la prueba IC fue bajo lo que significa que la mayoría de estas se encontraban vivas y podían mantener la solución fuera de sus células como se ve en la Tabla 21.

Tabla 21

Porcentajes de tinción con índigo carmín de semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Porcentaje de tinción [%]		
<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
27	14	23

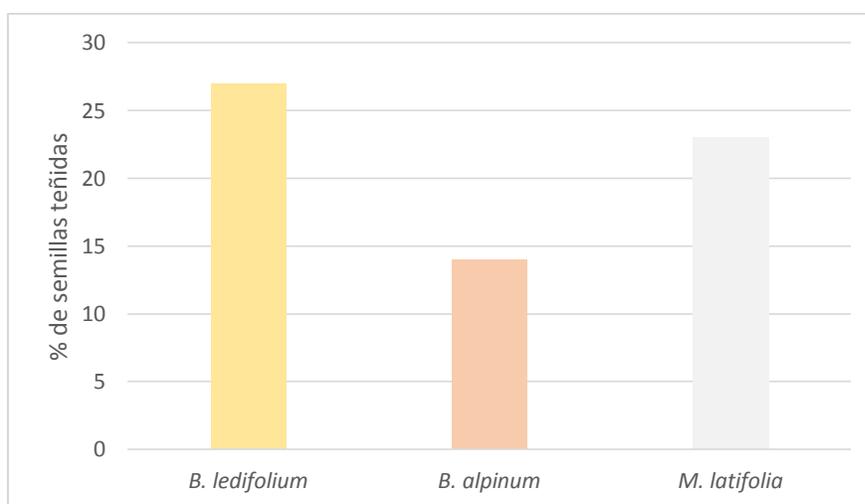
Figura 11

Semillas teñidas con índigo carmín de *B. alpinum* (A), *B. ledifolium* (B) y *M. latifolia* (C)



Figura 12

Porcentaje de semillas teñidas con índigo carmín de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*



En la prueba de tetrazolio se sumergen las semillas en una solución al 1 % de este reactivo y se tiñen los tejidos vivos de las semillas. En la Tabla 22 se muestran los porcentajes de viabilidad basado en la tinción con tetrazolio al 1 %. El porcentaje de la tinción por TZ en la Tabla 22 alto ya que la mayoría de las semillas se encontraban metabólicamente activas y reaccionaron con las sales adquiriendo su tono rojo.

Tabla 22

Porcentajes de tinción con tetrazolio de semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

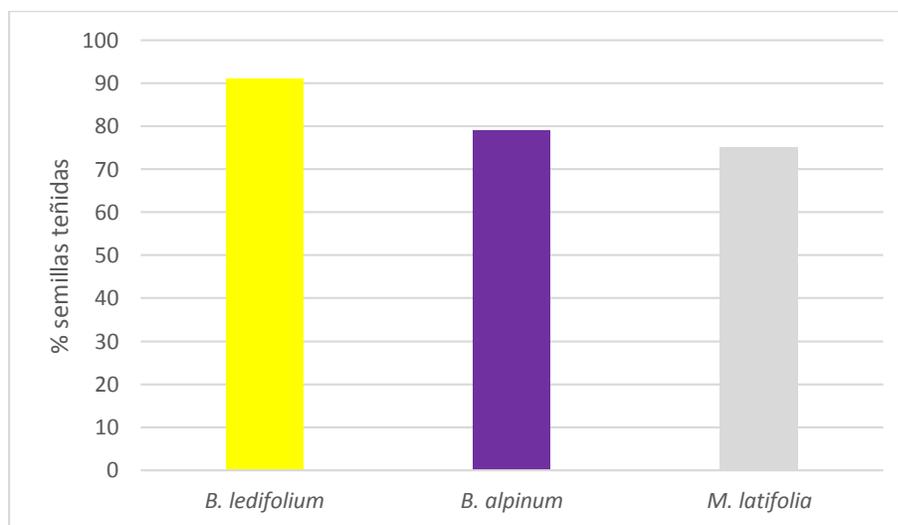
Porcentaje de tinción [%]		
<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
91	79	75

Figura 13

Semillas teñidas con tetrazolio de *B. alpinum* (A), *B. ledifolium* (B) y *M. latifolia* (C)

**Figura 14**

Porcentaje de semillas teñidas con tetrazolio de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*



En la Tabla 23 se resumen los promedios de los porcentajes de viabilidad entre las tres pruebas aplicadas como TZ, IC y PGE aplicado a las 3 especies estudiadas. Al promediar los porcentajes de viabilidad se resumieron en la Tabla 23 donde las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* fueron idóneas para entrar al banco de germoplasma.

Tabla 23

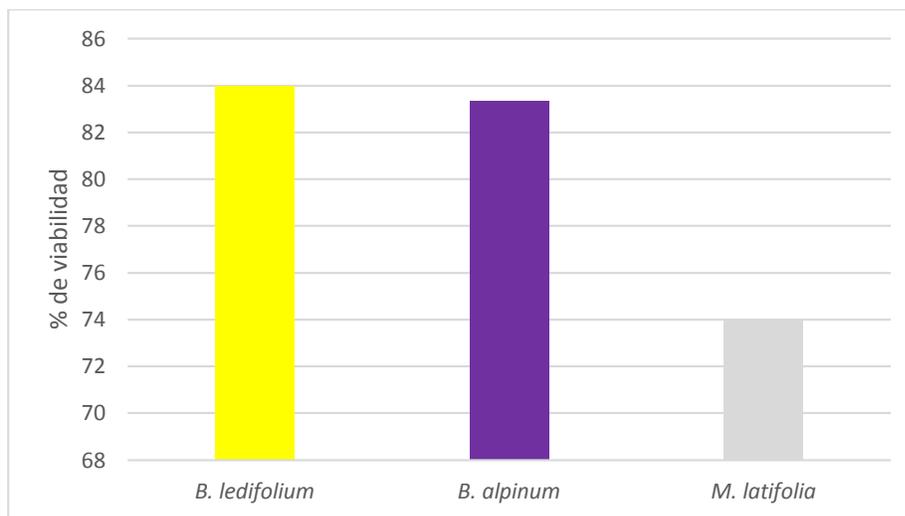
Porcentajes de viabilidad de semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*

Porcentaje de viabilidad [%]

<i>B. ledifolium</i>	<i>B. alpinum</i>	<i>M. latifolia</i>
84	83.34	74

Figura 15

Porcentaje de índice de viabilidad de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia*



Factores de Germinación

El tiempo de germinación de las semillas puede ser acortado mediante la modificación de las condiciones ambientales en las que se encuentran.

Se analizaron los datos con la prueba de Shapiro - Wilks para comprobar su normalidad y su p-valor fue mayor que el nivel de significancia, por lo que tienen una distribución normal.

En la Tabla 24 se muestra el ANOVA de los datos obtenidos del DECA de los factores de germinación para las semillas de *B. ledifolium*. Los p-valores de la temperatura y de la concentración son menores a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y al menos una variedad presenta distinto rendimiento al resto de tratamientos. A continuación, se realiza la prueba de Duncan para saber cuál tratamiento es el que presenta mejor comportamiento como se observa en las Tablas 25 y 26. En la Tabla 24 se resume el ANOVA para *B. ledifolium* y todos los tratamientos tenían datos estadísticamente distintos. La temperatura óptima para reducir el tiempo de germinación fue 5 °C en esta especie como se ve en la prueba de Duncan

de la Tabla 25. Las concentraciones de GA₃ óptimas para *B. ledifolium* fueron de 200 y 400 mg/L como se aprecia en la Tabla 26. Los tratamientos óptimos para *B. ledifolium* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C.

Tabla 24

Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de B. ledifolium

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	44	3	14.67	12	0.0004
Temperatura	14.22	1	14.22	11.64	0.0042
Concentración	29.78	2	14.89	12.18	0.0009
Error	17.11	14	1.22		
Total	61.11	17			

Tabla 25

Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de B. ledifolium

Temperatura [°C]	Medias	n	E.E.	Grupo
5	7.33	9	0.37	A
10-20	9.11	9	0.37	B

Tabla 26

Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de B. ledifolium

Concentración [mg/L]	Medias	n	E.E.	Grupo
400	7.00	6	0.45	A
200	7.67	6	0.45	A
0	10.00	6	0.45	B

Se analizaron los datos con la prueba de Shapiro -Wilks para comprobar su normalidad y su p-valor fue mayor que el nivel de significancia, por lo que tienen una distribución normal.

En la Tabla 27 se muestra el ANOVA de los datos obtenidos del DECA de los factores de germinación para las semillas de *B. alpinum*. Los p-valores de la temperatura y de la concentración son menores a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y al menos una variedad presenta distinto rendimiento al resto de tratamientos. A continuación, se realiza la

prueba de Duncan para saber cuál tratamiento es el que presenta mejor comportamiento como se observa en las Tablas 28 y 29. En la Tabla 27 se resume el ANOVA para *B. alpinum* y todos los tratamientos tenían datos estadísticamente distintos. La temperatura óptima para reducir el tiempo de germinación fue 5 °C en esta especie como se ve en la prueba de Duncan de la Tabla 28. La concentración de giberelinas óptima para *B. alpinum* fue de 400 mg/L como se aprecia en la Tabla 29. El tratamiento óptimo para *B. alpinum* fue a una concentración 400 mg/L GA₃ en una temperatura de 5 °C.

Tabla 27

Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de B. alpinum

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	29.83	3	9.94	8.82	0.0016
Concentración	23.11	2	11.56	10.25	0.0018
Temperatura	6.72	1	6.72	5.96	0.0285
Error	15.78	14	1.13		
Total	45.61	17			

Tabla 28

Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de B. alpinum

Temperatura [°C]	Medias	n	E.E.	Grupo
5	9.11	9	0.35	A
10-20	10.33	9	0.35	B

Tabla 29

Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de B. alpinum

Concentración [mg/L]	Medias	n	E.E.	Grupo
400	8.17	6	0.43	A
200	10.17	6	0.43	B
0	10.83	6	0.43	B

Se analizaron los datos con la prueba de Shapiro -Wilks para comprobar su normalidad y su p-valor fue mayor que el nivel de significancia, por lo que tienen una distribución normal.

En la Tabla 30 se muestra el ANOVA de los datos obtenidos del DECA de los factores de germinación para las semillas de *M. latifolia*. Los p-valores de la temperatura y de la concentración son menores a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y al menos una variedad presenta distinto rendimiento al resto de tratamientos. A continuación, se realiza la prueba de Duncan para saber cuál tratamiento es el que presenta mejor comportamiento como se observa en las Tablas 31 y 32. En la Tabla 30 se resume el ANOVA para *M. latifolia* y todos los tratamientos tenían datos estadísticamente distintos. La temperatura óptima para reducir el tiempo de germinación fue 5 °C en esta especie como se ve en la prueba de Duncan de la Tabla 31. Las concentraciones de GA₃ óptimas para *M. latifolia* fueron de 200 y 400 mg/L como se aprecia en la Tabla 32. Los tratamientos óptimos para *M. latifolia* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C.

Tabla 30

Análisis de la varianza de los factores de germinación en semillas de M. latifolia

Factor de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	61.83	3	20.61	12.49	0.0003
Concentración	45.78	2	22.89	13.87	0.0005
Temperatura	16.06	1	16.06	9.73	0.0075
Error	23.11	14	1.65		
Total	84.94	17			

Tabla 31

Prueba de Duncan respecto a la temperatura en semillas de M. latifolia

Temperatura [°C]	Medias	n	E.E.	Grupo
5	8.00	9	0.43	A
10-20	9.89	9	0.43	B

Tabla 32

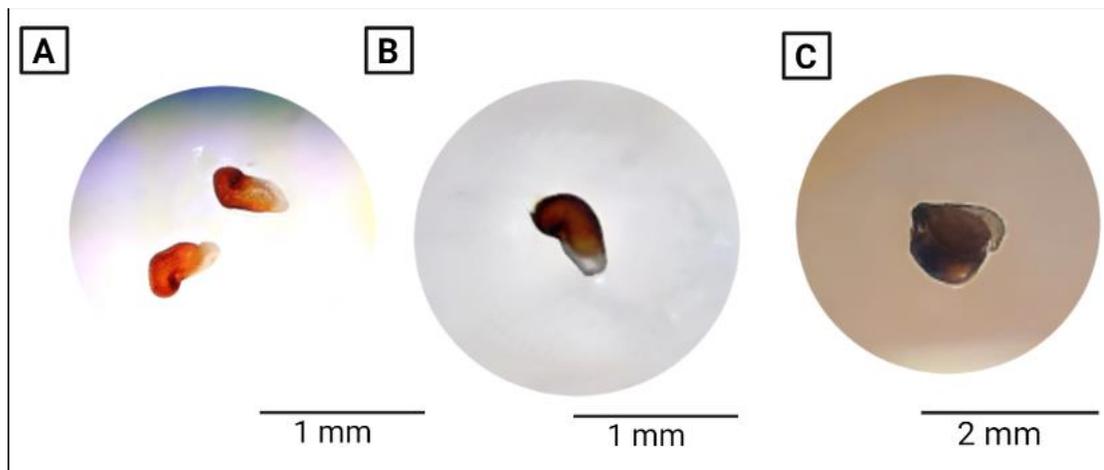
Prueba de Duncan respecto a la concentración de giberelinas en semillas de M. latifolia

Concentración [mg/L]	Medias	n	E.E.	Grupo
400	7.50	6	0.52	A

200	8.17	6	0.52	A
0	11.17	6	0.52	B

Figura 16

Semillas germinadas de *B. alpinum* (A), *B. ledifolium* (B) y *M. latifolia* (C)



Capítulo V: Discusión

La Cordillera de los Andes posee una gran variedad de ecosistemas. Uno de estos ecosistemas de montaña alta es el páramo andino comprendido entre los 3000 hasta los 4300 m s. n. m. y se encuentra en las zonas neotropicales (Rodríguez Saltos & Bonaccorso, 2016). El páramo tiene varias funciones hídricas sirviendo como fuente de agua para ciudades en altitudes menores, además es capaz de regular y almacenar agua atmosférica. Los servicios ecosistémicos que ofrece son la protección del suelo, captura de carbono además de ser clave para la diversidad biológica (Avellaneda-Torres *et al.*, 2018).

El páramo es un ecosistema frágil y debe ser cuidado de las actividades antropogénicas como la creación de campos de cultivo, la deforestación de sus bosques, la edificación de obras civiles, el sobrepastoreo y un turismo agresivo (Crespo *et al.*, 2010). El cambio climático ha acentuado el impacto del ser humano en este ecosistema por lo que se han llevado a cabo restauraciones ecológicas a largo plazo (Hobbs & Norton, 1996). En Ecuador a raíz de la erradicación de especies exóticas en las islas Galápagos en los 1980's se exhorta a la preservación de los bosques andinos teniendo en cuenta las actividades económicas que realizan las personas que viven ahí (López Tarabochia, 2017).

El páramo ecuatoriano se diferencia del resto debido a una mayor humedad relativa por precipitaciones en forma de lluvia o neblina frecuentes. Dichas características hacen que la vegetación de la zona se vuelva más densa sobre el terreno de manera general si se lo compara con otros ecosistemas altoandinos. La posición geográfica ha inducido un alto endemismo en la zona (Zamora Zhiminaicela & Zhiminaycela León, 2020). Las familias más diversas en los páramos con mayor cantidad de especies únicas son Asteraceae, Poaceae, Orchidaceae, Scrophulariaceae, Melastomataceae, Leguminosae, Rubiaceae, Bromeliaceae, Piperaceae, y Solanaceae. Las Melastomataceae presentan cerca de 180 géneros y dos tercios de estos se hallan en América (Fernández-Sánchez *et al.*, 2020). La mayoría de las

especies de esta familia poseen importancia económica por ser plantas frutales comestibles, colorantes y ornamentales. El género *Brachyotum* destaca por ser ornamental mientras que especies del género *Miconia* destacan por ser usadas como leña y sus bayas ser comestibles desde tiempos preincaicos (Montesinos, 2018). Las especies de los géneros *Brachyotum* y *Miconia* son de especial interés en la restauración ecológica en Ecuador ya poseen especies frecuentes en los bosques andinos. Las acciones que forman parte de una restauración ecológica como la creación de bancos de germoplasma se enfocan en activar la capacidad resiliente del ecosistema con especies vegetales de la zona (Gann *et al.*, 2019).

Los parámetros que deben evaluarse en el material vegetal que será almacenado en bancos de germoplasma son la caracterización fenotípica, pruebas de viabilidad y reactivación (Pérez-Bernal *et al.*, 2013). Basado en los parámetros mencionados que son necesarios para el banco de germoplasma, el presente trabajo caracteriza las semillas de las especies *B. alpinum*, *B. ledifolium* y *M. latifolia*. La optimización de los factores de germinación es un valor agregado para futuras restauraciones que permita acortar el tiempo de obtención de plántulas.

Descripción Morfológica de las Especies Estudiadas

La descripción morfológica de las especies es un paso importante para la confirmación de las plantas con las que se trabajará. Este proceso se basa en la observación de características fenotípicas fáciles de reconocer y medir en la planta (Hernández Villarreal, 2013).

Registro de Muestras

Las fichas descriptivas de las especies muestreadas sirven para detallar las características de la planta, así como de su entorno. La información anotada sirve como herramienta para transmitir la información resumida y útil para un estudio que varía según la finalidad del tema tratado (Jacoboski *et al.*, 2019). La información recolectada mediante las fichas técnicas (Fig. 5) sobre las especies *B. alpinum*, *B. ledifolium* y *M. latifolia* mostraron ser

de gran utilidad para facilitar posteriores recolecciones. La línea base sobre cada especie fue resumida en las fichas, sirviendo para futuras búsquedas y también como material didáctico. Se debe poner énfasis en estudios relacionados de *M. latifolia* y *B. ledifolium* ya que los datos son insuficientes para corroborar la información sobre la distribución de estas especies (León-Yáñez *et al.*, 2017).

Descriptores Morfológicos

Los descriptores cuantitativos que se emplean con mayor frecuencia son el tamaño de las semillas y hojas, el diámetro del tallo y raíces, el largo del peciolo y la altura de la primera ramificación (Ramírez *et al.*, 2014). Las especies andinas se caracterizan por ser plantas enjutas y desarrollar adaptaciones a las bajas temperaturas. Las hojas suelen ser pequeñas y pubescentes de acuerdo a Penneys (2017) como en el caso de *B. alpinum* y *B. ledifolium* que se corroboró con los hallazgos hechos en el presente trabajo. Las hojas de *M. latifolia* miden 3 a 5 cm de longitud lo cual concuerda con las mediciones realizadas (Romoleroux *et al.*, 2019).

La caracterización de las semillas es de vital importancia para la creación de bancos de germoplasma puesto que serán el material genético a preservar a largo plazo (Weckwerth *et al.*, 2020). Las características que presentan las semillas como su tamaño, color, textura y conteo por fruto hablan de cuan saludable es el material genético que poseen (Berding & Roach, 1987). Las semillas del género *Brachyotum* son pequeñas y numerosas ya que emplean las especies de este género la estrategia de reproducción R (Kessler-Rios & Kattan, 2012). El número promedio de semillas por cápsula fue de 1372 y 820 en *B. ledifolium* y *B. alpinum* respectivamente. En un trabajo por Meyer y sus colaboradores (Meyer *et al.*, 2021) se observó que el promedio de las semillas por cápsula del género *Brachyotum* y similares poseen en promedio cerca de 1000 semillas. En el caso de *Miconia* el conteo de semillas por baya es mucho menor debido a que la planta emplea más recursos en volver al fruto carnoso y apetecible para que las semillas sean dispersadas por animales vectores (Messeder *et al.*,

2021). El promedio de semillas por baya hallado en este estudio fue de 42 lo cual concuerda con lo hallado en bibliografía.

La cantidad de semillas por fruto también se ve reflejado en las características que estas presentan como su tamaño y masa. En el caso de *Brachyotum* las semillas suelen presentar longitudes inferiores a 1 mm y su ancho es al menos la mitad de esta (Veranso-Libalah *et al.*, 2022). Dicha relación se comprobó con las medidas tomadas de las semillas en las especies *B. alpinum* y *B. ledifolium* que tenían 0.51 mm y 0.65 mm de longitud respectivamente y en ancho 0.23 mm y 0.40 mm respectivamente. En el género *Miconia*, la relación entre longitud y ancho es similar, aunque las semillas presentan forma esférica a diferencia de *Brachyotum* que son reniformes. Las medidas halladas en *M. latifolia* fueron en promedio 0.86 mm de longitud y 0.54 mm en ancho que corrobora los hallazgos de Zaldívar-Riverón (2018).

La masa de las semillas de Melastomataceae son generalmente menores a 0.01 g según lo reporta Silveira (2013). Esto se refleja en los valores hallados que en promedio la masa de *B. alpinum*, *B. ledifolium* y *M. latifolia* fueron 1.83×10^{-5} g, 1.49×10^{-5} g y 5.44×10^{-5} g respectivamente.

Desinfección de Semillas

La desinfección de semillas es un protocolo muy importante ya que permite eliminar fuentes de contaminación que pueden echar a perder el material vegetal. Dependiendo de la naturaleza de la muestra, el protocolo de desinfección puede ser más agresivo sin comprometer la integridad de los tejidos internos. El estado de los tejidos determinará la capacidad de germinación de las semillas tratadas por lo que se debe evitar una oxidación excesiva (Lazo-Javalera *et al.*, 2016). El tratamiento de desinfección óptimo dependerá de las características del explante. El protocolo habitual en Melastomataceae es lavar las semillas en agua destilada con detergente neutro y luego enjuagarlo solo para reducir la incidencia fúngica

en los cultivos (Anny Alves de Carvalho Farias & França Dantas, 2022). La desinfección adecuada debe ser tanto bacteriana como fúngica por lo que se realizó modificaciones a los protocolos estándar donde se determinó que los mejores tratamientos para *M. latifolia* fueron a las concentraciones de 0.5 % y 1 % de NaClO. En el caso de *B. ledifolium* fue 0.5 % de NaClO para reducir la contaminación sin que exista una oxidación de los tejidos. El tratamiento más adecuado para *B. alpinum* fue al 1 %. Mientras que los tiempos de inmersión para las tres especies fue de 5 minutos.

Índice de Viabilidad

El índice de viabilidad es el porcentaje de las semillas vivas que tienen la capacidad de germinar y producir plántulas sanas que pueden sobrevivir hasta la etapa adulta. Este índice puede determinarse mediante varias pruebas colorimétricas como tinción con sales de tetrazolio o índigo carmín y otras que solo consisten en dejarlas germinar como la prueba de germinación estándar (Bonner, 1990).

La prueba de tetrazolio se basa en la formación de trifenílformazán a partir de la reacción entre las sales incoloras de tetrazolio con los electrones liberados durante la respiración celular de los tejidos. Al teñirse completamente o en su mayoría, la semilla es viable. Por el contrario, cuando se tiñe parcialmente esta posee tejidos muertos y la semilla no es viable (García Pérez & Pita Villamil, 2014). Las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* al reaccionar con las sales de tetrazolio obtuvieron los porcentajes 91 %, 79 % y 75% respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.

La prueba de Índigo Carmín se basa en el aumento de la permeabilidad de la membrana celular cuando las células mueren. La solución de índigo carmín ingresa en las células muertas ya que estas no logran regular el paso de sustancias a través de las membranas tiñendo todo a su paso. Las semillas que no presentan cambios o pocas manchas azules se consideran viables y las que sí presentan tinción no son viables (Salazar & Gélvez,

2015). Las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* al ser sumergidas en la solución de índigo carmín obtuvieron los porcentajes 27 %, 14 % y 23% respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.

La prueba de germinación estándar se basa en la germinación de la semilla luego del estado de latencia. Por lo que la viabilidad de un lote será el porcentaje de semillas que presentan radículas. La presencia de la radícula es el criterio fundamental para determinar el porcentaje de viabilidad de las semillas (García Pérez & Pita Villamil, 2014). Todas las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* poseen un alto porcentaje de viabilidad como 88 %, 85 % y 70 % respectivamente que se obtuvo al inducirse su germinación en la PGE.

Al promediar los porcentajes de viabilidad se resumieron en la Tabla 23 donde las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* fueron idóneas para entrar al banco de germoplasma.

Factores de Germinación

La dificultad para germinar semillas silvestres en condiciones ambientales puede retrasar la producción de plántulas para diversos fines. Para varias especies andinas se debe considerar que son diferentes factores ambientales los que determinan la respuesta germinativa tales como las condiciones de luz, temperatura y humedad relativa. Se debe tomar en cuenta, además, el estado de la semilla y el manejo al que son sometidas (Pita Villamil & Pérez García, 2014). Por este motivo se modifican específicamente las condiciones de germinación, donde se trata de aumentar la tasa de germinación de las semillas y reducir el tiempo de germinación (Mayo-Mosqueda *et al.*, 2017). Los factores de germinación que se alteraron para estudiar su respuesta en el tiempo de aparición de radícula para las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* fueron la temperatura y la concentración de giberelinas en el medio de cultivo.

Los tratamientos óptimos para *B. ledifolium* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C. El tratamiento óptimo para *B. alpinum* fue a una concentración 400 mg/L GA₃ en una temperatura de 5 °C. Los tratamientos óptimos para *M. latifolia* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C.

Capítulo VI: Conclusiones

El proyecto de investigación se enfocó en la caracterización y germinación de las semillas pertenecientes a la familia Melastomataceae presentes en los bosques andinos del Ecuador. La forma de cumplir con dicho enfoque fue mediante la ejecución de caracterizaciones morfológicas a las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* para la primera parte del proyecto. En la segunda parte se llevaron a cabo pruebas de viabilidad y germinación de semillas. Al culminar ambas partes se concluyó que:

- La recolección de las muestras de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* permitió la elaboración de fichas descriptivas con información resumida sobre descripción morfológica de la planta, así como coordenadas geográficas y altitudinales que aseguran una fiabilidad de la base de datos nacional.
- Los descriptores morfológicos de las plantas permiten confirmar la especie en estudio para evitar información cruzada o inconexa.
- El número de semillas promedio por cápsula o baya de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* fue 1372, 820 y 42 respectivamente. Lo que indica que las especies emplean diferentes mecanismos de dispersión.
- La masa promedio de las semillas *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* es de 1.49×10^{-5} , 1.83×10^{-5} , 5.44×10^{-5} g. Lo que las vuelve muy ligeras y fáciles de dispersar usando en el caso de *Brachyotum* el viento y en *Miconia* animales vectores que las ingieran en su dieta.
- El tamaño promedio de las semillas (longitud, ancho) de las especies *B. ledifolium* (0.65, 0.4) mm, *B. alpinum* (0.51, 0.23) mm y *M. latifolia* (0.86, 0.54) mm. Lo que indica que las semillas carecen de un endospermo significativo.
- El tamaño promedio de las hojas (longitud, ancho) de las especies *B. ledifolium* (20.84, 8.02) mm, *B. alpinum* (19.51, 10.27) mm y *M. latifolia* (48.65, 22.49) mm. Esto sugiere

que las plantas del género *Brachyotum* poseen hojas pequeñas que ofrecen menor resistencia al paso de corrientes de aire favoreciendo la dispersión de semillas. Las plantas del género *Miconia* presentan hojas más grandes y al ser cerosas en el envés atraen la atención de animales vectores que aseguren la dispersión de sus semillas.

- El tamaño promedio de las cápsulas o bayas (longitud, ancho) de las especies *B. ledifolium* (13.4, 7.61) mm, *B. alpinum* (10.72, 6.33) mm y *M. latifolia* (6.42, 4.62) mm. Esto indica que las plantas del género *Miconia* facilitan la ingesta de las bayas a animales con bocas o picos pequeños. Las cápsulas de las plantas del género *Brachyotum* al poseer tricomas en su superficie y su tamaño menos aerodinámica favorece a que sean mecidas por el viento y se liberen más semillas al ser sacudidas.
- Los mejores tratamientos para *M. latifolia* fueron a las concentraciones de 0.5 % y 1 % de NaClO. En el caso de *B. ledifolium* fue 0.5 % de NaClO para reducir la contaminación sin que exista una oxidación de los tejidos. El tratamiento más adecuado para *B. alpinum* fue al 1 %. Mientras que los tiempos de inmersión para las tres especies fue de 5 minutos.
- Las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* al reaccionar con las sales de tetrazolio obtuvieron los porcentajes 91 %, 79 % y 75% respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.
- Las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* al ser sumergidas en la solución de índigo carmín obtuvieron los porcentajes 27 %, 14 % y 23% respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.
- Las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* al inducirse su germinación obtuvieron los porcentajes 88 %, 85 % y 70 % respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.

- El índice de viabilidad de las semillas de *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* es 84 %, 83.34 % y 74 % respectivamente por lo que todas tienen una alta viabilidad.
- Los tratamientos óptimos para *B. ledifolium* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C. El tratamiento óptimo para *B. alpinum* fue a una concentración 400 mg/L GA₃ en una temperatura de 5 °C. Los tratamientos óptimos para *M. latifolia* fueron a las concentraciones de 200 y 400 mg/L GA₃ a una temperatura de 5 °C.
- Las semillas de las especies *B. ledifolium*, *B. alpinum* y *M. latifolia* recolectadas en el Parque Nacional Cayambe Coca tras ser caracterizadas morfológicamente, analizadas mediante pruebas de viabilidad, desinfectadas sin afectar su integridad ni capacidad germinativa, se determinaron aptas para su almacenamiento en los bancos de germoplasma y posterior uso en restauraciones ecológicas de bosques andinos en Ecuador.

Capítulo VII: Recomendaciones

En la selección de especies se exhorta a futuras investigaciones que se considere la época del año, así como del clima para la recolección de las plantas puesto que las especies de *B. alpinum* y *M. latifolia* florecen tras intensas precipitaciones y a los quince días sus frutos están maduros para su recolección.

En las recolecciones de muestra se recomienda realizar ensayos de caracterización molecular para diferenciar ecotipos de la misma especie dentro del mismo parque.

Para los protocolos de desinfección se aconseja emplear micropipetas con puntas con filtro para facilitar la manipulación de las semillas ya que por su reducido tamaño se disminuye la muestra en cada lavado.

En la germinación de las semillas se recomienda sumergirlas en agua destilada más de 48 h en agua fría para reactivar su metabolismo.

En la extracción de semillas del género *Miconia* se aconseja secar la muestra por una semana en refrigeración y luego sumergir las bayas en agua destilada dos horas antes de la extracción para que las semillas maduren y la parte carnosa de la baya sea más fácil retirar sin dañar las semillas.

Capítulo VIII: Bibliografía

- Aguirre Flores, Á. D. (2014). *Colección y caracterización morfológica de la diversidad de plantas medicinales de las provincias de Loja y Cotopaxi*. Universidad Central del Ecuador.
- Anny Alves de Carvalho Farias, L., & França Dantas, B. (2022). Morphometric characterization and functional traits of fruits and seeds of *Neoglaziovia variegata* (Arruda) Mez. *Journal of Seed Science*. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v44250044>
- Antonelli, A., Zizka, A., Carvalho, F. A., Scharn, R., Bacon, C. D., Silvestro, D., & Condamine, F. L. (2018). Amazonia is the primary source of Neotropical biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23), 6034–6039. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1713819115>
- Avellaneda-Torres, L. M., León Sicard, T. E., & Torres Rojas, E. (2018). Impact of potato cultivation and cattle farming on physicochemical parameters and enzymatic activities of Neotropical high Andean Páramo ecosystem soils. *Science of the Total Environment*, 631–632, 1600–1610. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.03.137>
- Benito, L., Herrero, N., Jiménez, I., & Peñuelas, L. (2004). Aplicación de métodos colorimétricos para la determinación de la viabilidad en semillas de «*Pinus Pinæ*»: Test de tetrazolio e índigo carmín. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 17, 23–28.
- Berding, N., & Roach, B. T. (1987). Germplasm Collection, Maintenance, and Use. *Developments in Crop Science*, 11(C), 143–210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-42769-4.50009-6>
- Blanco-Valdes, Y., Durañona, H., & Acosta-Roca, R. (2016). Efecto de la temperatura y la humedad en la conservación de granos de maíz en silos metálicos refrigerados. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 105–114. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13900.21127>
- Bonner, F. T. (1990). Storage of seeds: Potential and limitations for germplasm conservation. *Forest Ecology and Management*, 35(1–2), 35–43. <https://doi.org/10.1016/0378->

1127(90)90230-9

- 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>
- Cotton, E., & Pitman, N. (2004). *The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T45680A11006850*. .
<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T45680A11006850.en>
- Crespo, P., Célleri, R., Buytaert, W., Feyen, J., Iñiguez, V., Borja, P., & De Bievre, B. (2010). Land use change impacts on the hydrology of wet Andean páramo ecosystems. *Status and Perspectives of Hydrology in Small Basins*, 336.
- Ely, F., Torres, F., & Gaviria, J. (2005). Relación entre la morfoanatomía foliar de tres especies de *Miconia* (Melastomataceae) con su hábitat y distribución altitudinal en el Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 28(2), 275–300. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0084-59062005000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Farley, K. A., Anderson, W. G., Bremer, L. L., & Harden, C. P. (2011). Compensation for ecosystem services: an evaluation of efforts to achieve conservation and development in Ecuadorian páramo grasslands. *Environmental Conservation*, 38(4), 393–405.
<https://doi.org/10.1017/S037689291100049X>
- Fernández-Sánchez, L., Mancipe-Murillo, C., & Calderón-Hernández, M. (2020). Evaluation of two methods of propagation for the ex situ conservation of three high andean melastoms. *Caldasia*, 42(1), 129–141. <https://doi.org/10.15446/CALDASIA.V42N1.75373>
- Gann, G. D., McDonald, T., Walder, B., Aronson, J., Nelson, C. R., Jonson, J., Hallett, J. G., Eisenberg, C., Guariguata, M. R., Liu, J., Hua, F., Echeverría, C., Gonzales, E., Shaw, N., Decler, K., & Dixon, K. W. (2019). International principles and standards for the practice of ecological restoration. Second edition. *Restoration Ecology*, 27(S1), S1–S46.

<https://doi.org/10.1111/REC.13035>

García Pérez, F., & Pita Villamil, J. M. (2014). Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. *Hojas divulgadoras*.

Gutiérrez-Salazar, P., Medrano-Vizcaíno, P., & Sevink, J. (2019). The effects of climate change on decomposition processes in andean paramo ecosystem-synthesis, a systematic review. *Applied ecology and environmental research*, 17(2), 4957–4970.

https://doi.org/10.15666/aeer/1702_49574970

Hernández Villarreal, A. (2013). Morphological characterization of plant genetic resources. *Bio Ciencias*, 2(3), 113–118.

<http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/41/133>

Hobbs, R. J., & Norton, D. A. (1996). Towards a Conceptual Framework for Restoration Ecology. *Restoration Ecology*, 4(2), 93–110. <https://doi.org/10.1111/J.1526-100X.1996.TB00112.X>

Hofstede, R. G. M., & Llambí, L. D. (2020). Plant diversity in Páramo-Neotropical high mountain humid grasslands. *Encyclopedia of the World's Biomes*, 1–5, 362–372.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11858-5>

Hoon, C., Wesselingh, F. P., Ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., Sanmartín, I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, C. L., Figueiredo, J. P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F. R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T., & Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330(6006), 927–931. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1194585>

Jacoboski, L. I., Luza, A. L., Paulsen, R. K., Pezda, A. M., & Hartz, S. M. (2019). Database of bird species composition in natural habitats and forest plantations. *Data in Brief*, 27, 104715. <https://doi.org/10.1016/J.DIB.2019.104715>

Kessler-Rios, M. M., & Kattan, G. H. (2012). Fruits of Melastomataceae: phenology in Andean forest and role as a food resource for birds. *Journal of Tropical Ecology*, 28(1), 11–21.

<https://doi.org/10.1017/S0266467411000642>

- Lazo-Javalera, M. F., Troncoso-Rojas, R., Tiznado-Hernández, M. E., Martínez-Tellez, M. A., Vargas-Arispuro, I., Islas-Osuna, M. A., & Rivera-Domínguez, M. (2016). Surface disinfection procedure and in vitro regeneration of grapevine (*Vitis vinifera* L.) axillary buds. *SpringerPlus*, 5(1), 453. <https://doi.org/10.1186/S40064-016-2081-0>
- León-Yáñez, S., Valencia, N., Pitmam, L., Endara, C., Ulloa Ulloa, C., & Navarrete, H. (2017). *Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador*. Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- [https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Brachyotum alpinum](https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Brachyotum%20alpinum)
- López Tarabochia, M. (2017). *Restauración en bosques andinos: evolución y retos en cuatro países de América del Sur*. <https://es.mongabay.com/2017/09/restauracion-bosques-andinos-peru-colombia-ecuador-bolivia/>
- Madriñán, S. (2015). Una nueva especie de *Puya* (Bromeliaceae) de los páramos cercanos a Bogotá, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 39(152), 389–398. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.223>
- Mayo-Mosqueda, A., Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hidalgo, D., Cazares-Camero, J. G., Mayo-Mosqueda, A., Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hidalgo, D., & Cazares-Camero, J. G. (2017). Estrategias para mejorar la germinación de semillas de *Calyptrogyne ghiesbreghtiana* (Linden & H. Wendland). *Polibotánica*, 0(43), 246–254.
- <https://doi.org/10.18387/POLIBOTANICA.43.11>
- Mena Vásconez, P., & Hofstede, R. (2006). Los páramos ecuatorianos. *Botánica económica de los Andes Centrales*, 91–109. [http://www.beisa.dk/Publications/BEISA Book pdfer/Capitulo 06.pdf](http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2006.pdf)
- Mena Vásconez, P., & Medina, G. (2000). La biodiversidad de los páramos en el Ecuador. *Páramo*, 1, 1–26.
- Messeder, J. V. S., Silveira, F. A. O., Cornelissen, T. G., Fuzessy, L. F., & Guerra, T. J. (2021).

- Frugivory and seed dispersal in a hyperdiverse plant clade and its role as a keystone resource for the Neotropical fauna. *Annals of Botany*, 127(5), 577–595.
<https://doi.org/10.1093/AOB/MCAA189>
- Meyer, F. S., Reginato, M., Smidt, E. C., De Santiago Gómez, J. R., Michelangeli, F. A., & Goldenberg, R. (2021). Phylogenetic relationships in *Brachyotum* and allies (Melastomataceae, Melastomatales): a reassessment of the limits of the genera. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 197(2), 170–189.
<https://doi.org/10.1093/BOTLINNEAN/BOAB014>
- Montesinos, S. (2018). *Taxonomía y rangos de distribución altitudinal de Miconia Ruiz & Pav. (Melastomataceae) en cuatro sectores del Santuario Histórico de Machupicchu, Cusco* [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú].
<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/7137>
- Penneys, D., Cotton, E., Tye, A., & Ulloa-Ulloa, C. (2017). *Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador: Brachyotum alpinum*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
[https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Brachyotum alpinum](https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Brachyotum%20alpinum)
- Pérez-Bernal, M., Lorenzo Salinas, D., & Delgado Rigo, M. (2013). Viabilidad de semillas de arroz provenientes de plantas obtenidas in vitro Viability in rice seeds obtained from plants developed in vitro. *Agronomía*. <https://doi.org/10.09.13>
- Peyre, G., Balslev, H., & Font, X. (2018). Phytoregionalisation of the Andean páramo. *PeerJ*, 2018(6), e4786. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.4786/SUPP-4>
- Pita Villamil, J. M., & Pérez García, F. (2014). Germinación de semillas. *Hojas Divulgadoras*.
- Quintana, C., Pennington, R. T., Ulloa, C. U., & Balslev, H. (2017). Biogeographic Barriers in the Andes: Is the Amotape—Huancabamba Zone a Dispersal Barrier for Dry Forest Plants?1. <https://doi.org/10.3417/D-17-00003A>, 102(3), 542–550. <https://doi.org/10.3417/D-17-00003A>
- Ramírez, M. E., Virgen, J., & Castillo-Gonzalez, F. (2014). Guía Técnica para la Descripción

- Varietal de Maíz. SAGARPA. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12433.22883>
- Rodríguez Saltos, C. A., & Bonaccorso, E. (2016). Understanding the evolutionary history of a high Andean endemic: the Ecuadorian hillstar (*Oreotrochilus chimborazo*). *Neotropical Biodiversity*, 2(1), 37–50. <https://doi.org/10.1080/23766808.2016.1155280>
- Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Erler, R., & Navarrete, H. (2019). *Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi*. [https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Miconia latifolia](https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Miconia%20latifolia)
- Salazar, A., & Gélvez, J. (2015). Determinación de la viabilidad de semillas de orquídeas utilizando la prueba de Tetrazolio e Índigo carmín. *Revista de Ciencias*, 19(2), 59–69.
- Silveira, F. A., Fernandes, G. W., & Lemos-Filho, J. P. (2013). Seed and seedling ecophysiology of neotropical melastomataceae: Implications for conservation and restoration of savannas and rainforests. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 99(1), 82–99. <https://doi.org/10.3417/2011054>
- Simpson, M. G. (2010). Diversity and Classification of Flowering Plants: Eudicots. *Plant Systematics*, 275–448. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374380-0.50008-7>
- Veranso-Libalah, M. C., Stone, R. D., Kadereit, G., & Guimarães, P. J. F. (2022). Systematics and Taxonomy of the Tribe Melastomateae. *Systematics, Evolution, and Ecology of Melastomataceae*, 429–463. https://doi.org/10.1007/978-3-030-99742-7_21
- Weckwerth, W., Ghatak, A., Bellaire, A., Chaturvedi, P., & Varshney, R. K. (2020). PANOMICS meets germplasm. *Plant Biotechnology Journal*, 18(7), 1507–1525. <https://doi.org/10.1111/PBI.13372>
- Zaldívar-Riverón, A., Martínez, J. J., Hanson, P. E., Mayorga-Martínez, C., Salinas-Ramos, V. B., & Faria, L. D. B. (2018). New gall-associated species of Allorhogas (Hymenoptera: Braconidae), including a natural enemy of the weed *Miconia calvescens* (Melastomataceae). *The Canadian Entomologist*, 150(3), 279–302. <https://doi.org/10.4039/TCE.2018.1>

Zamora Zhiminaicela, M., & Zhiminaycela León, C. F. (2020). *Variación de la diversidad de diatomeas bentónicas en riachuelos de los páramos del Macizo del Cajas, Sur del Ecuador*. Universidad del Azuay.

Apéndices