



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS – ESPE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

TRABAJO DE INTEGRACION CURRICULAR, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA BIOTECNÓLOGA

**“Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de
Polylepis pauta Hieron. en Bosques Andinos del Ecuador.”**

Elaborado por: Delgado Carrera, Indira Lizet
Directora: Segovia Salcedo, María Claudia PhD.

Sangolquí, 07 de marzo de 2023



CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Bosques Andinos y Páramos



Ecosistemas de alta biodiversidad, sobre los 2400 msnm



Gestión de recursos hídricos



Condiciones de vida extremas



Amenazas: factores antropogénicos y no antropogénicos

Bosques de *Polylepis*



Parche de bosque de *Polylepis*

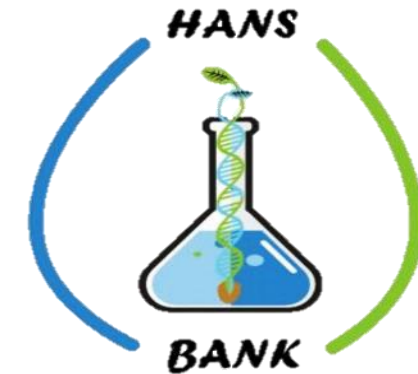
Regulación de los recursos hídricos, mitigación de emisiones de CO₂.

Actividad antihipertensiva y tratamiento de enfermedades respiratorias.

Amenazados por actividades humanas

En Ecuador se encuentran distribuidas 12 especies del género *Polylepis*

Creación de planes de conservación



Polylepis pauta Hieron.



Distribución

- Parches de bosque
- Pichincha, Napo, Imbabura y Cotopaxi

Características morfológicas

- Hojas imparipinnadas
- Superficie del envés de las hojas lanada
- Frutos aquenios indehiscentes con espinas

CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones



Objetivo General

Caracterizar parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Polylepis pauta* Hieron.
en Bosques Andinos del Ecuador.



Objetivos Específicos

- ✦ Recolectar de forma aleatoria muestras de semillas de la especie *Polylepis pauta* Hieron. en diferentes parches de Bosques Andinos del Ecuador.
- ✦ Identificar parámetros morfológicos cualitativos y cuantitativos de semillas de la especie *Polylepis pauta* Hieron. a partir de muestras recolectadas en Bosques Andinos del Ecuador.
- ✦ Analizar semillas de la especie *Polylepis pauta* Hieron. mediante la coloración del embrión con la prueba de Tetrazolio para establecer su viabilidad.
- ✦ Determinar los parámetros germinativos de las semillas de la especie *Polylepis pauta* Hieron. mediante el uso de diferentes tratamientos de germinación a nivel *in vitro*.



Hipótesis

- ✦ Los parámetros morfológicos y los tratamientos germinativos aplicados producen un incremento estadísticamente significativo del porcentaje de germinación de las semillas de *Polylepis pauta* Hieron.



CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones



Material vegetal

Recolección

Transporte y
almacenamiento

Identificación

Sitios



Fotografías



Recolección



Almacenamiento en un
lugar seco



Flóramo
v3.0.11

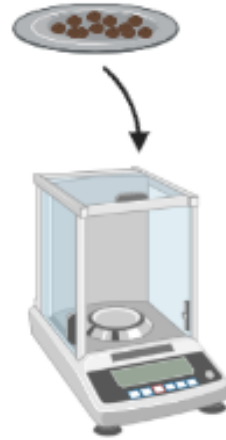
Parámetros cuantitativos

Número de semillas
por fruto (n=50)

Peso (n=1000)

Dimensiones de fruto y
semilla (n=100)

Contenido de
humedad (n=100)



Previamente: remojo

107°C durante 14 horas



ImageJ

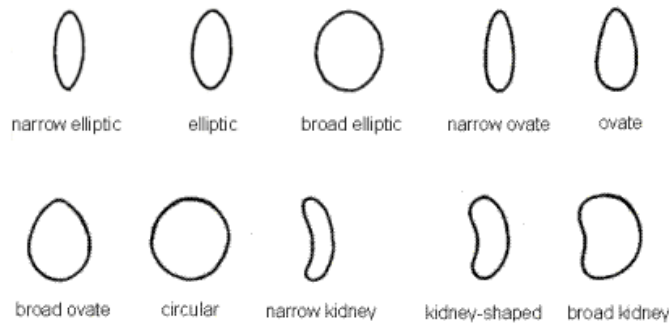
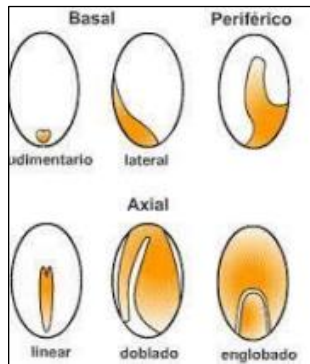
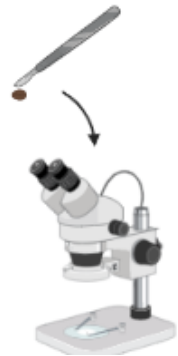
Image Processing & Analysis in Java

Parámetros cualitativos

Tipo de embrión (n=25)

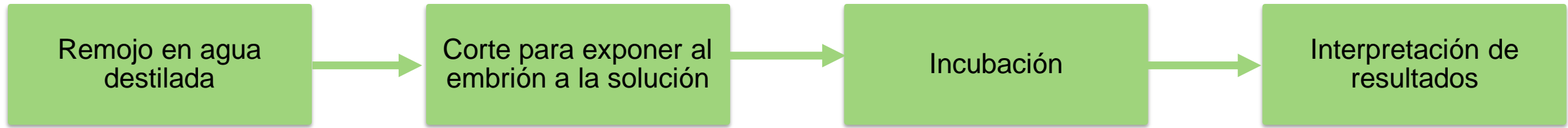
Forma (n=10)

Color (n=50)



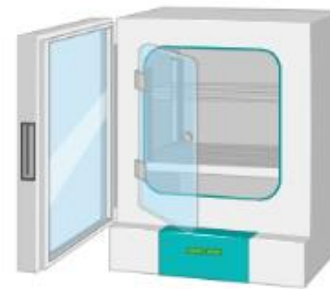
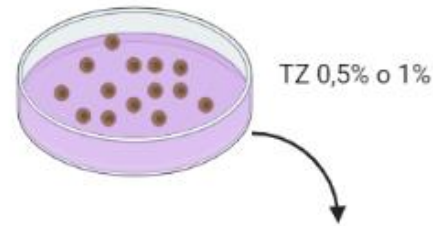
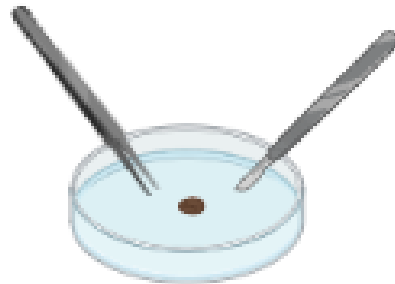
Comparación con la paleta Munsell

Ensayo de viabilidad: Tetrazolio



24 h

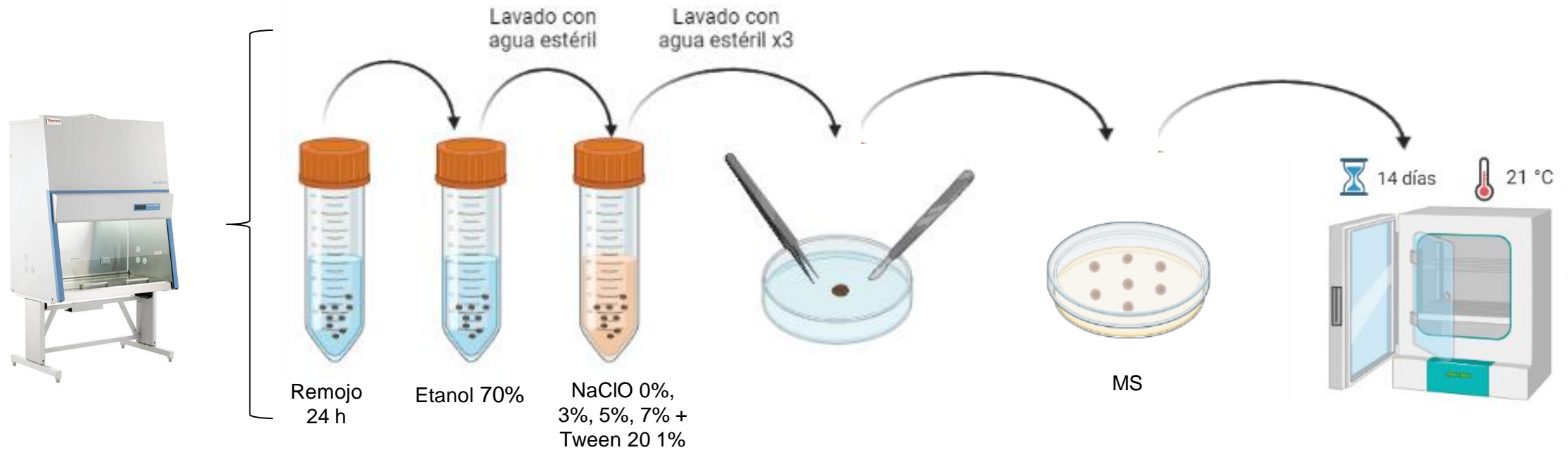
4 tratamientos
3 repeticiones,
n=15



24/48 h 30 °C

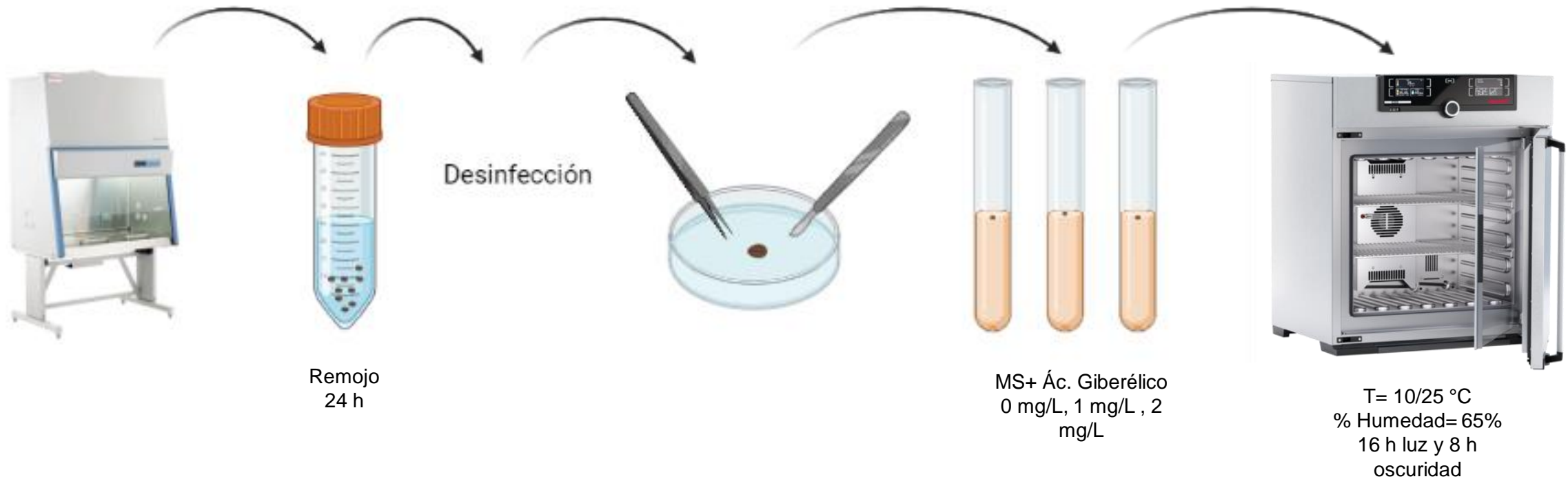


Ensayo de desinfección



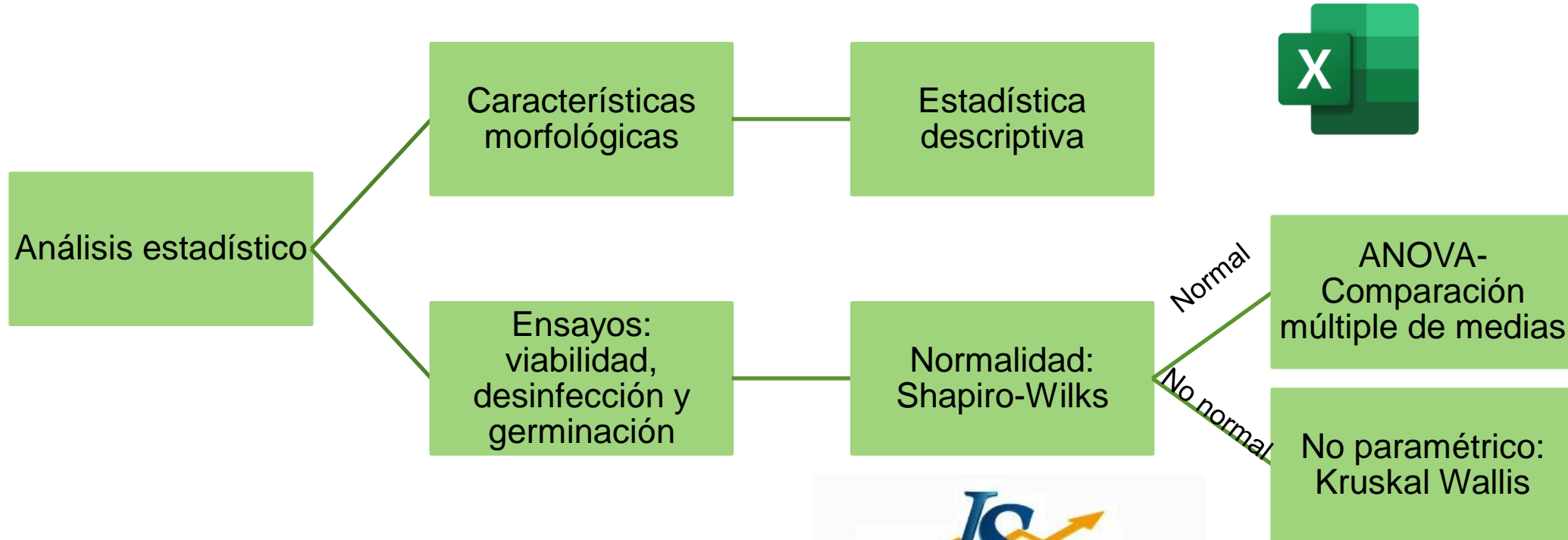
4 tratamientos
3 repeticiones,
n=15

Ensayos de viabilidad: Germinación *in vitro*



6 tratamientos
3 repeticiones,
n=10

Análisis Estadístico



CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Material vegetal

Fotografía	Descripción General de la Especie
 <p data-bbox="198 776 351 801">Indira Delgado</p>	<p data-bbox="606 339 1164 501"> Nombre Científico: <i>Polylepis pauta</i> Hieron. Nombre Común: Árbol de papel Familia: Rosaceae Altitud: 2.600 – 4.500 m s.n.m. Forma de vida: Árbol </p> <p data-bbox="606 508 1164 539">Descripción Morfología y Fisiología de la Especie</p> <p data-bbox="606 546 1164 839"> Altura: De 2 hasta 12 metros. Tallo: Retorcidos, corteza rojiza exfoliante y delgada. Hojas: Imparipinnadas con 4 a 6 pares de folíolos, superficie superior lampiña, superficie inferior con pelos blanquecinos. Inflorescencia: racimos simples colgantes. Flores: 4 sépalos ovados verdes. Fruto: Aquenio con varias espinas aplanadas densamente seríceas </p>
Datos Adicionales	Distribución en Ecuador
<p data-bbox="198 972 524 1065"> Propiedades: Antimicrobiana, medicinales para enfermedades renales y respiratorias </p> <p data-bbox="198 1072 532 1132"> Nota Ecológica: Clasificado por la UICN como vulnerable </p>	 <p data-bbox="963 958 1164 1051"> Provincias de: Cotopaxi, Imbabura, Napo y Pichincha </p>

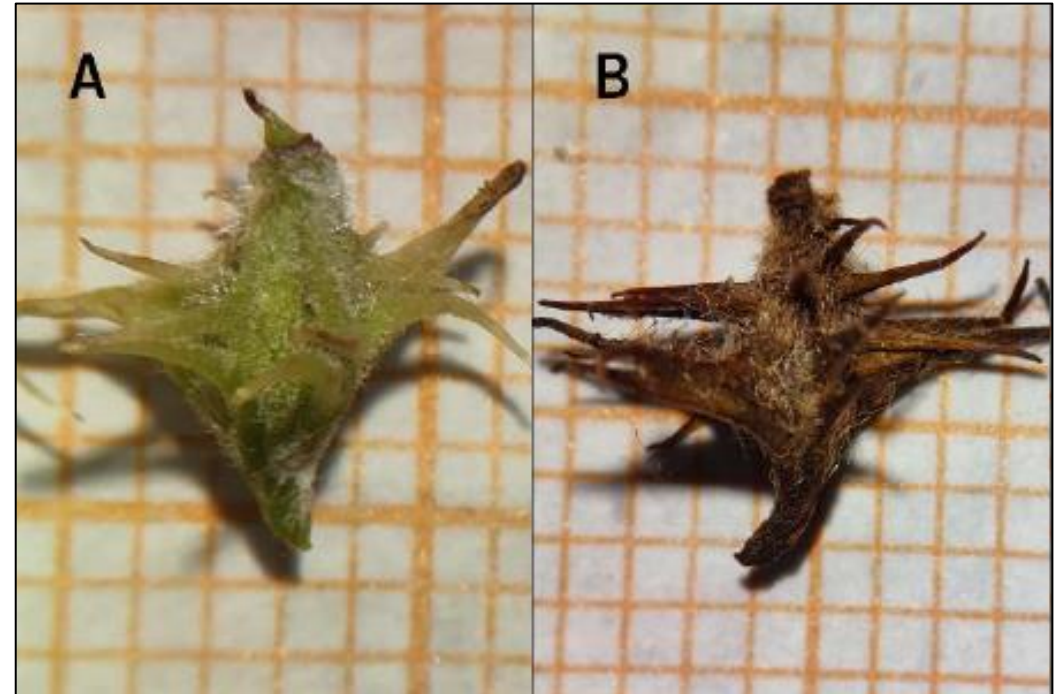


Figura 1. Frutos de *P. pauta*. A) Inmaduro y B) Maduro.

Producción constante de flores y frutos

Parámetros cualitativos

Parámetro	Resultado
Tipo de embrión	Axial espatulado completamente desarrollado
Forma	Elíptica
Color	Marrón amarillento oscuro

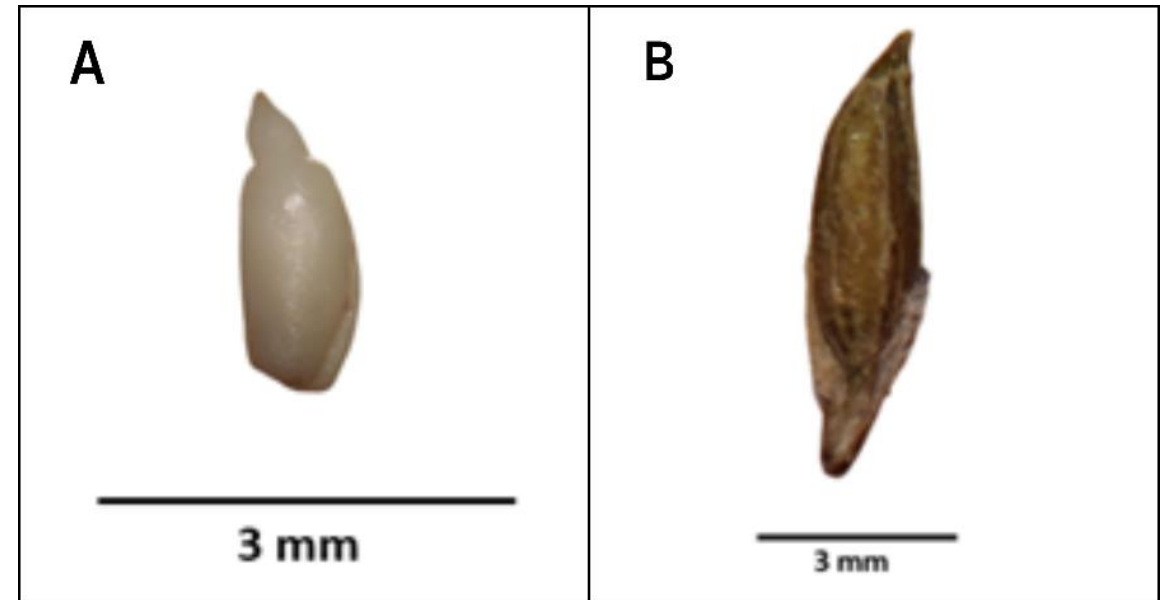
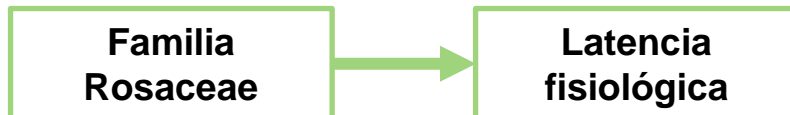


Figura 2. Embrión y semilla de *P. pauta* vistos en el estereomicroscopio. A) embrión de la semilla de *P. pauta*. B) semilla de *P. pauta* después de retirar la mayor parte del pericarpio del fruto.

Parámetros cuantitativos

Parámetro	Promedio y desviación estándar
Número de semillas por fruto	1,02 ± 0,14
Largo del fruto (mm)	4,366 ± 0,649
Ancho del fruto (mm)	2,162 ± 0,316
Largo de la semilla (mm)	3,846 ± 0,604
Ancho de la semilla (mm)	1,352 ± 0,281
Peso de la semilla (mg)	2,968 ± 0,372
Porcentaje de humedad (%)	6,258 ± 2,498

Semillas ortodoxas

Largo y ancho < 17 x 13 mm
Peso < 1 g
% de Humedad entre 5 y 10%

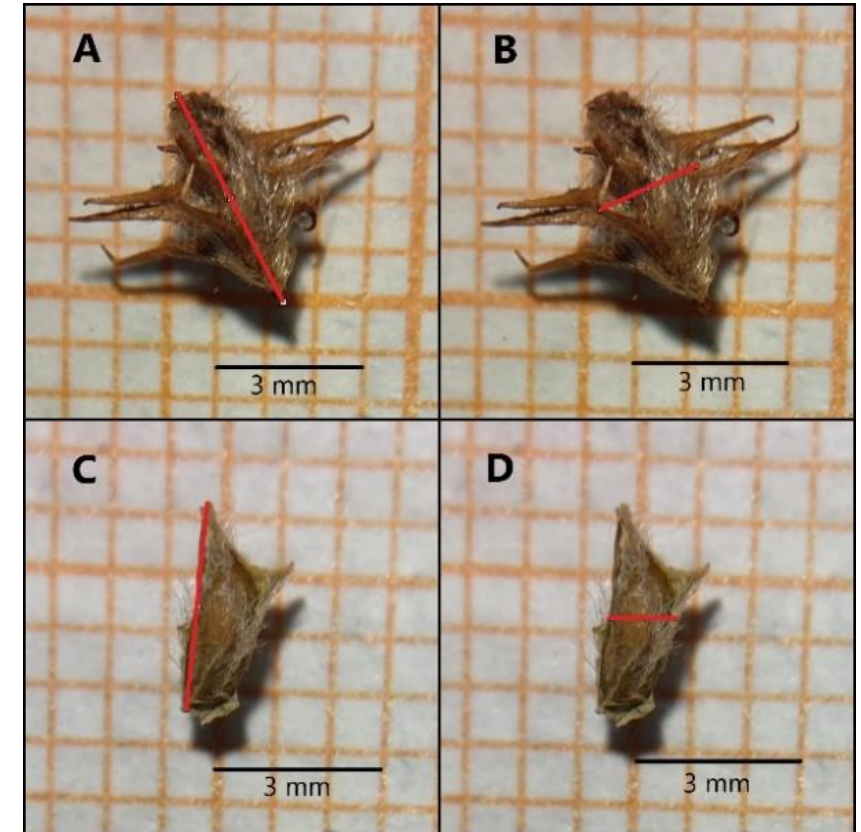


Figura 3. Fruto y semilla de *P. pauta* observadas en el estereomicroscopio. A) Largo del fruto. B) Ancho del fruto. C) Largo de la semilla. D) Ancho de la semilla.

Ensayo de viabilidad: Tetrazolio

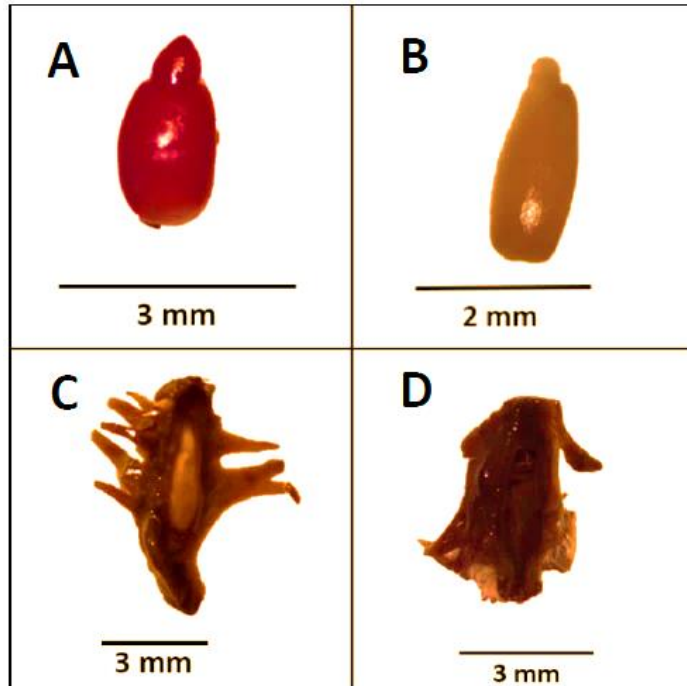


Figura 4. Semillas de *P. pauta*. A) Embrión viable completamente teñido. B y C) Embriones no viables- no teñido. D) Embrión no viable debido a que se encuentra necrosado.

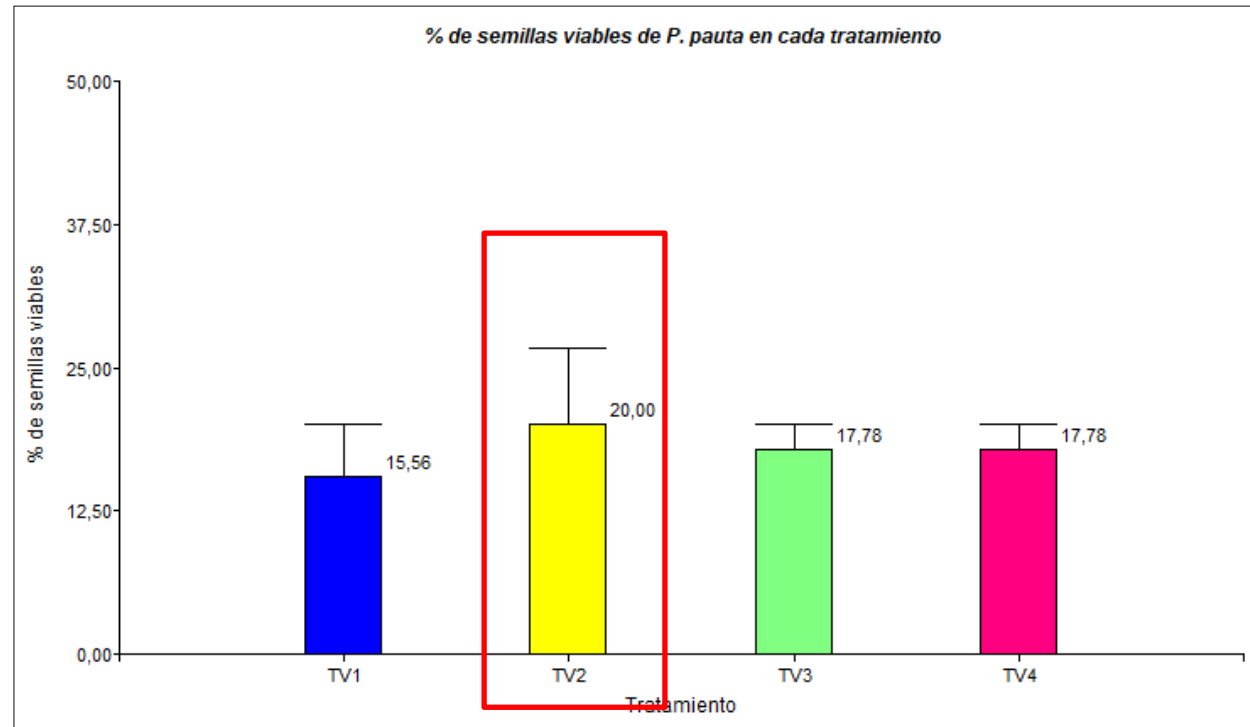


Figura 5. Porcentaje de semillas de *P. pauta* viables. TV1: 0,5% tetrazolio-24 horas. TV2: 1% tetrazolio-24 horas. TV3: 0,5% tetrazolio-48 horas. TV4: 1% tetrazolio-48 horas.

Los datos siguen una distribución normal, pero no hay una diferencia significativa en los tratamientos

Ensayo de desinfección

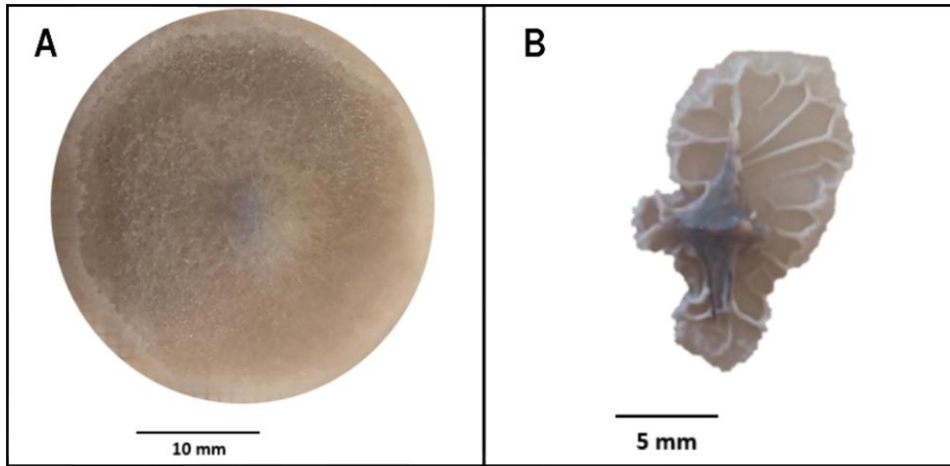


Figura 6. Semillas de *P. pauta* contaminadas. A) Semilla con contaminación por hongos. B) Semilla con contaminación por bacterias.

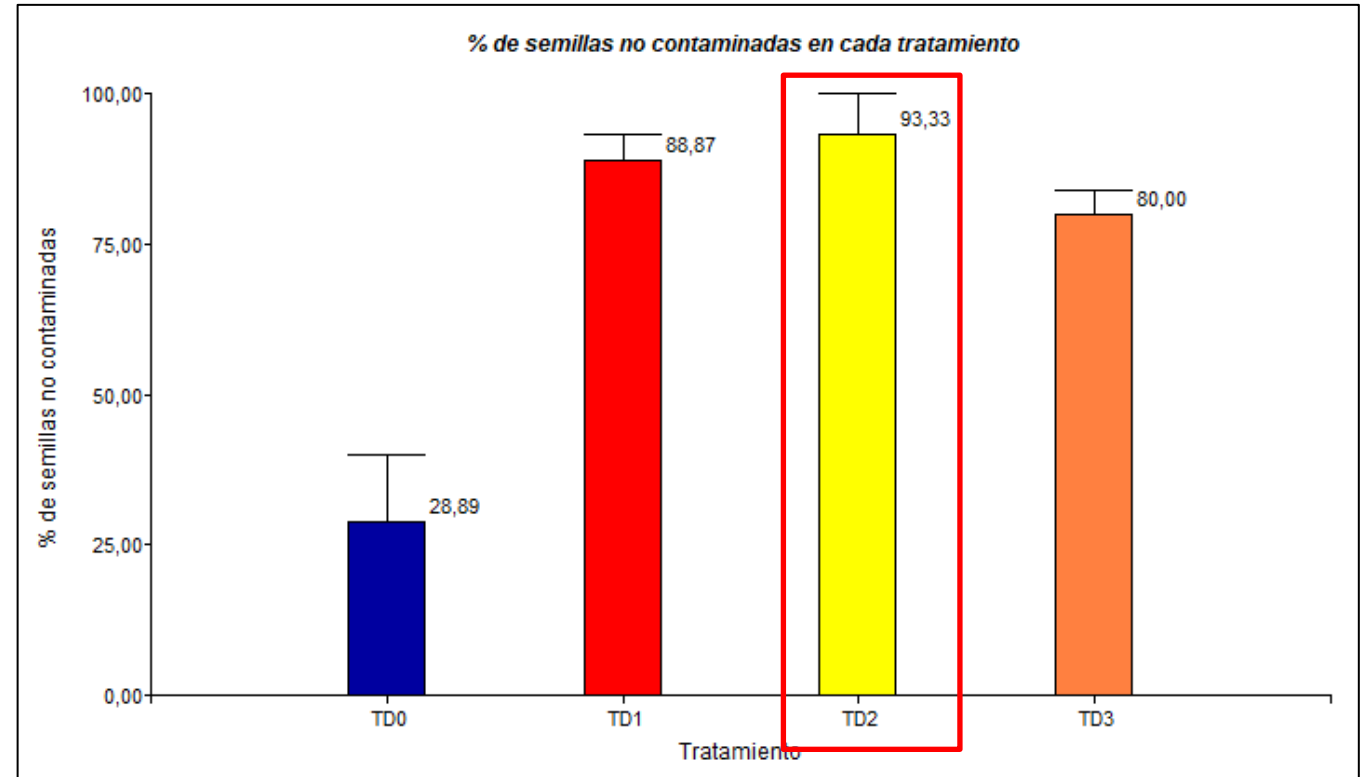
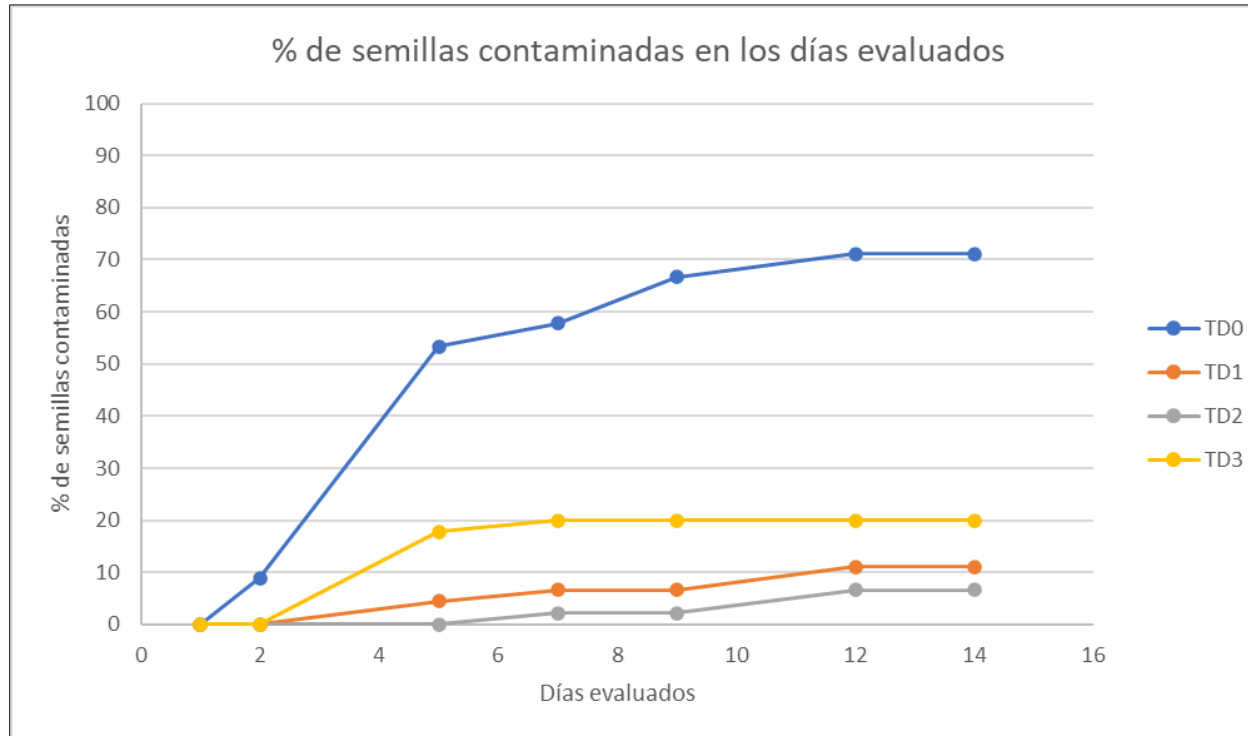


Figura 7. Porcentaje de semillas de *P. pauta* no contaminadas a los 14 días. TD0: 0% NaClO. TD1: 3% NaClO. TD2: 5% NaClO. TD3: 7% NaClO.

Ensayo de desinfección



Los datos no siguen una distribución normal. Hay una diferencia significativa entre los tratamientos

El mejor tratamiento de desinfección para semillas de *P. pauta* es el TD2 con NaClO 5%. Porcentaje de semillas no contaminadas 93,33%

Figura 8. Progresión del porcentaje de semillas contaminadas. TD0: 0% NaClO. TD1: 3% NaClO. TD2: 5% NaClO. TD3: 7% NaClO.

Ensayos de viabilidad: Germinación *in vitro*

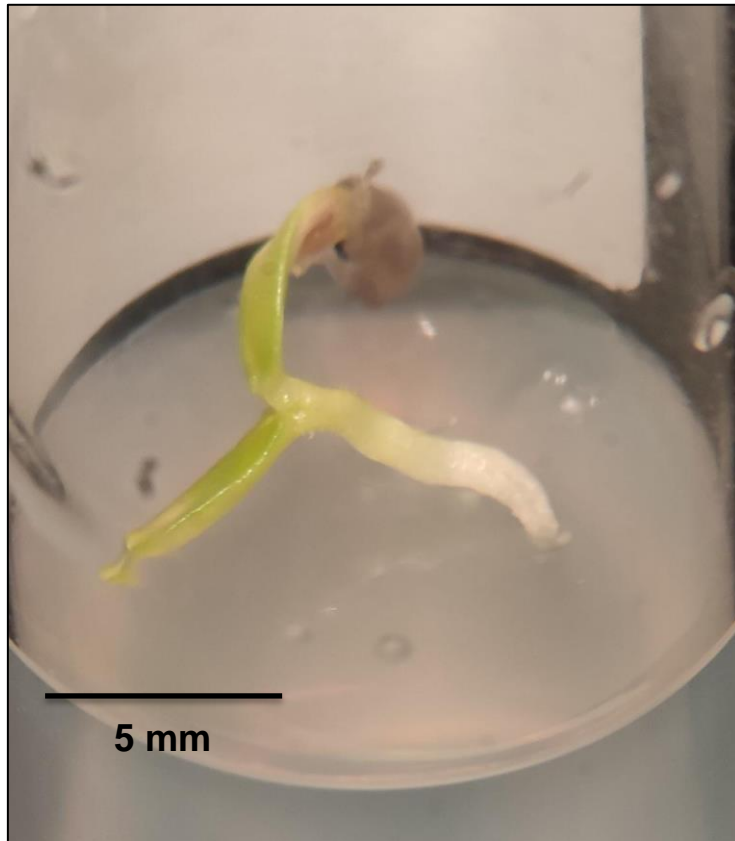


Figura 9. Plántula de *P. pauta*.

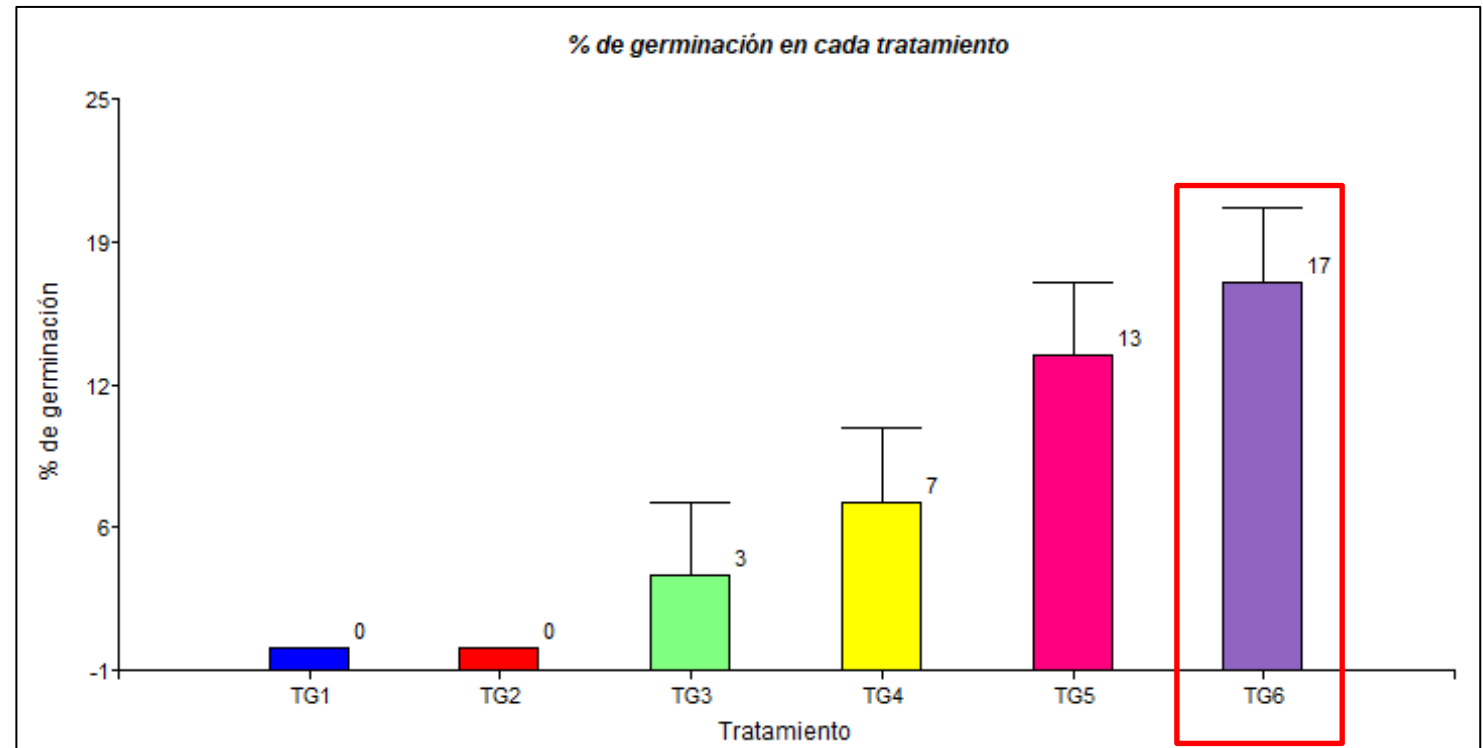


Figura 10. Porcentaje de germinación de semillas de *P. pauta*. TG1: 10°C y [0 mg/L] GA₃. TG2: 25°C y [0 mg/L] GA₃. TG3: 10°C y [1 mg/L] GA₃. TG4: 25°C y [1 mg/L] GA₃. TG5: 10°C y [2 mg/L] GA₃. TG6: 25°C y [2 mg/L] GA₃.

Ensayos de viabilidad: Germinación *in vitro*

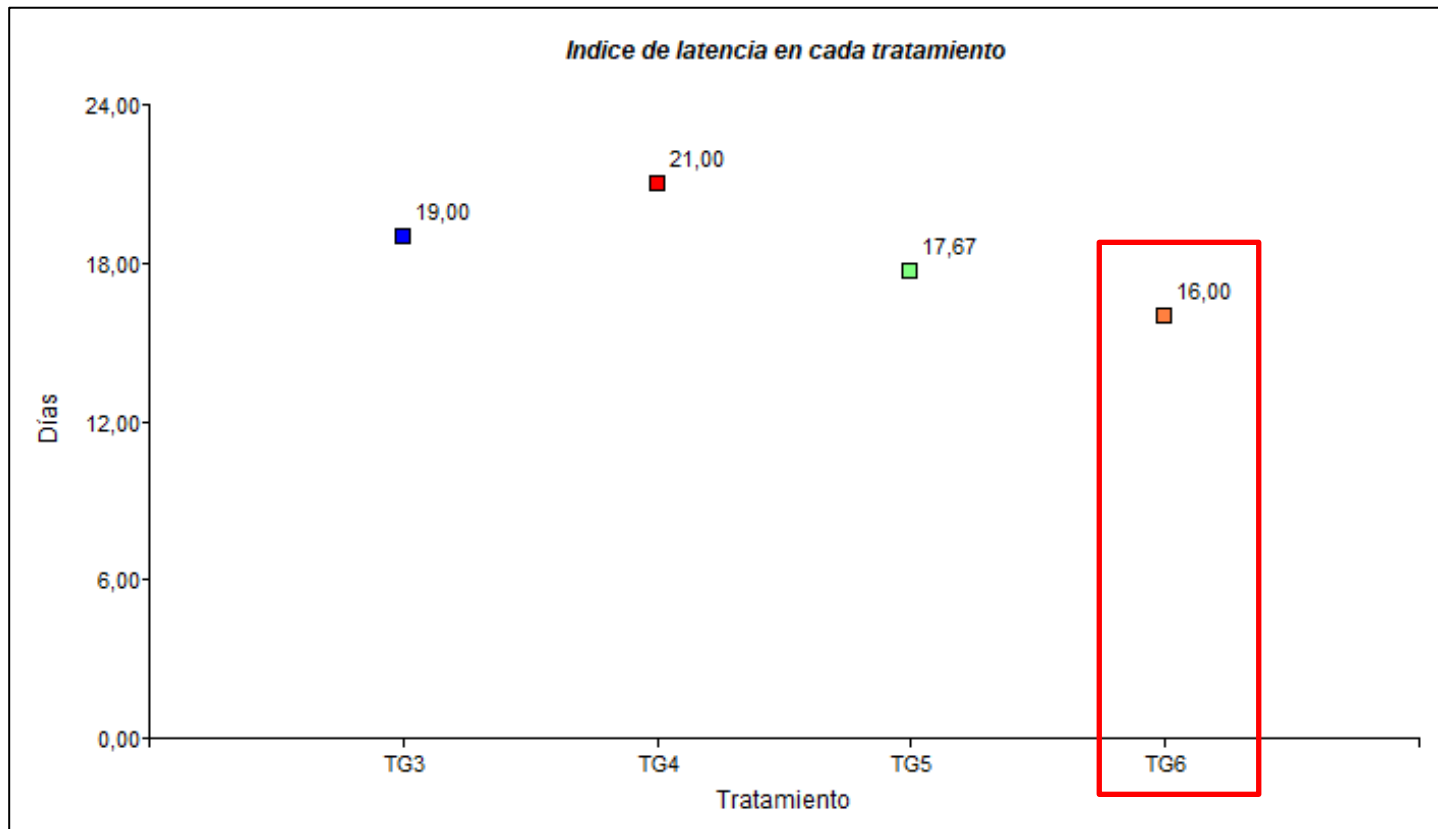


Figura 11. Tiempo de latencia de las semillas de *P. pauta* en los diferentes tratamientos..

Los datos no siguen una distribución normal. Hay una diferencia significativa entre los tratamientos

El mejor tratamiento es TG6 con parámetros $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{GA}_3 = 2 \text{ mg/L}$. Debido al mayor porcentaje de germinación (17%) y menor índice de latencia (16 días)

GA_3

Ruptura de latencia

Temperatura

Actividad enzimática

CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Conclusiones

- La **recolección de material vegetal** de *Polylepis pauta* en diferentes parches de bosques andinos permite **recopilar información** como la forma de vida, características morfológicas de la planta, distribución y rango altitudinal para **establecer una base de datos** en el banco de semillas.
- Los frutos de *Polylepis pauta* miden $4,366 \pm 0,649$ mm de largo y $2,162 \pm 0,316$ mm de ancho. Mientras que las semillas poseen un tamaño promedio de $3,846 \pm 0,604$ mm de largo y $1,352 \pm 0,281$ mm de ancho y pesan $2,968 \pm 0,372$ mg. Además, tienen un contenido de humedad de $6,258 \pm 2,498$ %. Estos valores indican que las semillas tienen un **comportamiento ortodoxo**.



- Las semillas de *Polylepis pauta* poseen **forma elíptica** y un **embrión de tipo axial espatulado** que posee **latencia de tipo fisiológica**. Además, al ser aquenios la forma y color de frutos son indispensables en el análisis de las relaciones ecológicas en la reproducción sexual de esta especie.
- En la evaluación de viabilidad mediante el método del tetrazolio, el **mayor porcentaje de semillas viables (20%)** se obtuvo con el tratamiento TV2 en el que se aplicó la solución de **tetrazolio al 1% y 24 horas de inmersión**, sin embargo, a comparación de los otros tratamientos no hubo una diferencia estadísticamente significativa.



- En la desinfección de *P. pauta* se obtuvo un **mayor porcentaje de semillas no contaminadas** (93,33%) utilizando una **concentración de hipoclorito de sodio al 5%** en el tratamiento TD3, mientras que el mayor porcentaje de semillas contaminadas se obtuvo al utilizar una concentración del 0% de NaClO.
- El **porcentaje máximo de germinación** de semillas de *P. pauta* fue del **16,67%**, el cual se obtuvo al exponer a las semillas a condiciones de **temperatura de 25°C** y una concentración de **ácido giberélico de 2 mg/L**. De igual manera el índice de latencia más bajo se dio a las condiciones mencionadas.



- Los parámetros morfológicos y los tratamientos germinativos aplicados produjeron un **incremento significativo en el porcentaje de germinación** de las semillas de *P. pauta*.
- Los diferentes análisis permitieron determinar que las semillas de *P. pauta* son **aptas para su almacenamiento** en el banco de germoplasma HANS-BANK y su posterior uso en planes de reforestación.



CONTENIDO



Introducción

Objetivos e Hipótesis

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Recomendaciones

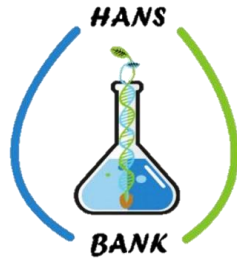
- Se recomienda extender el tiempo de análisis de la germinación *in vitro* de las semillas de *P. pauta* y tener un tamaño muestral más amplio para que los datos estadísticos sean más representativos.
- En la germinación *in vitro* se recomienda probar con otro tipo de giberelinas o con concentraciones de ácido giberélico más altas para evaluar las variaciones en el proceso de germinación.
- Trabajar con la siembra de embriones a nivel *in vitro* para promover la germinación y de esta manera evitar el uso de semillas vacías.



Agradecimientos



Claudia Segovia, Ph.D.
Directora del Proyecto de
Investigación



Karina Proaño, Ph.D.
Colaboradora científica



Deutscher Akademischer Austauschdienst
German Academic Exchange Service

Ing. Gabriela Miño, Mg.
Técnica del Laboratorio de
Biotecnología vegetal



INABIO
Instituto Nacional de Biodiversidad



Ing. Gabriela Pazmiño.
Técnica del Laboratorio de
Genética evolutiva y conservación.



Implementada por
giz Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH

Familia y Amigos



**AVES Y
CONSERVACIÓN**
BIRDLIFE EN ECUADOR



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Gracias por su
atención



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA