



**Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax  
seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador**

Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Segovia Salcedo, María Claudia PhD.

Sangolquí, 18 de abril de 2023

2/17/23, 2:48 PM

REVISION TESIS

## Originality report

---

### COURSE NAME

TESIS MARJORIE

### STUDENT NAME

MARJORIE IVETTE TAYUPANTA ZÚÑIGA

### FILE NAME

MARJORIE IVETTE TAYUPANTA ZÚÑIGA - Untitled document

### REPORT CREATED

Feb 17, 2023

---

### Summary

Flagged passages	2	0.3%
Cited/quoted passages	0	0%

### Web matches

coiacic.es	1	0.2%
cienciahoy.org.ar	1	0.1%

---

1 of 2 passages

Student passage FLAGGED

**Por otro lado, el conocimiento de la biodiversidad es aún limitado.** Se tiene muy poca información de los bosques andinos...

[Top web match](#)

**Por otro lado, nuestro conocimiento de la biodiversidad es aún limitado,** de ahí la necesidad de un intenso trabajo científico que.

Hace 25 años en Ciencia Hoy | CienciaHoy <https://cienciahoy.org.ar/hace-25-anos-en-ciencia-hoy-numero-178/>

---

2 of 2 passages

Student passage FLAGGED

...para activar rutas metabólicas como reacciones químicas de oxidación. **Este proceso ayuda estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por lo tanto su viabilidad**

[Top web match](#)

**Este hecho puede ser utilizado para estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por tanto de su viabilidad.**

2/17/23, 2:48 PM

REVISION TESIS

VIABILIDAD, VIGOR, LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE ... <https://www.coiaclc.es/wp-content/uploads/2016/05/Viabilidad.pdf>

---

.....  
**Segovia Salcedo, María Claudia PhD.**  
**Directora**



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Biotecnología**

**Certificación**

Certifico que el trabajo de integración curricular: “**Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador**” fue realizado por la señorita **Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette**, 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 analizada 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, 18 de abril de 2023

.....  
**Segovia Salcedo, María Claudia PhD.**

C.C.: 1709055998



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Biotecnología**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette**, con cédula de ciudadanía n° 1727144246, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolquí, 18 de abril de 2023**

.....  
*Marjorie Ivette*

**Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette**

C.C.: 1727144246



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Biotecnología**

**Autorización de Publicación**

Yo, **Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette**, con cédula de ciudadanía n° 1727144246, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

**Sangolquí, 18 de abril de 2023**

.....  
*Marjorie*  
.....

**Tayupanta Zúñiga, Marjorie Ivette**

C.C.: 1727144246

### Dedicatoria

A mis abuelitos, Rosendo y Laura, quienes fueron un gran apoyo en mi vida personal, pues me han enseñado el significado del amor incondicional y el perdón al prójimo. Ellos fueron y serán mi norte, mi ejemplo para ser mejor persona y hacer que el lugar en donde exista sea bueno para crecer.

A mi madre y tía, Carmen y Jhanet, quienes han estado alentándome en los momentos de luz y oscuridad, ya que ellas me han apoyado y aconsejado en toda mi vida personal y estudiantil. A mis hermanos, Eduardo y David, quienes han hecho de mi vida un lugar de risas, amor y aprendizaje.

A mi pequeño gran amor, Fluffy, quien es mi motor para seguir adelante e impulsarme a querer ser mejor persona. Él es y será mi lugar seguro para poder estar tranquila, feliz y en paz.

## Agradecimientos

Un especial agradecimiento a Karina Proaño, PhD. y María Claudia Segovia, PhD., por ser guías personales y profesionales a lo largo de mi vida estudiantil, pues ellas han sido una inspiración en la ciencia, el trabajo de conservación y remediación del medio ambiente.

A la Ing. Gabriela Miño, la Ing. Gabriela Pazmiño y el Ing. Carlos Sandoval por ser gran apoyo para la realización de mi trabajo de titulación.

A Grace, María e Indira, les agradezco por su amistad, momentos de aventura en los bosques andinos del Ecuador y sobre todo ser un apoyo incondicional en mi vida.

Agradezco a la Ing. Marianela Mariño, al proyecto BIO-GEEC y HANS-BANK por confiar en mí y formarme profesionalmente en el área de Biotecnología Vegetal y Conservación desde que estuve en pasantías.

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por la apertura a las instalaciones y realización de este trabajo de titulación.



## Índice de Contenidos

Dedicatoria .....	7
Agradecimientos .....	8
Resumen .....	14
Abstract .....	15
Capítulo I: Introducción .....	16
Planteamiento del Problema .....	16
Justificación del Problema .....	17
Objetivos.....	18
Objetivo General .....	18
Objetivos Específicos.....	18
Hipótesis .....	18
Capítulo II: Marco Teórico.....	19
Bosques Andinos y Páramos del Ecuador .....	19
Importancia de los Bosques Andinos y los Páramos .....	19
Situación Actual de los Bosques Andinos y los Páramos .....	20
Reservas Nacionales de Bosques Andinos.....	20
<i>Oreopanax seemannianus</i> Marchal .....	21
Taxonomía y distribución .....	21
Descripción Morfológica .....	22
Importancia y Situación Actual en el Ecuador .....	23

	10
Parámetros Morfológicos de Plantas y Semillas .....	24
Parámetros Morfológicos Cuantitativos y Cualitativos de Plantas y Semillas .....	24
Recolección y Almacenamiento de Semillas .....	25
Viabilidad de las Semillas .....	26
Ensayo de Tetrazolio .....	26
Germinación <i>in vitro</i> de Semillas.....	27
Capítulo III: Metodología .....	28
Manejo de Material Vegetal en Campo .....	28
Recolección de Semillas .....	28
Manejo y Procesamiento de Semillas en Laboratorio.....	29
Caracterización Morfológica .....	29
Parámetros Cuantitativos .....	29
Parámetros Cualitativos .....	30
Ensayo de Viabilidad .....	30
Prueba de Tetrazolio .....	30
Caracterización Germinativa.....	31
Ensayo de Desinfección de Semillas.....	31
Ensayo de Germinación <i>in vitro</i> de Semillas.....	32
Análisis Estadístico.....	33
Caracterización Morfológica .....	33
Diseño experimental .....	33
Diseño Experimental del Ensayo de Viabilidad.....	33

Diseño Experimental del Ensayo de Desinfección de Semillas .....	34
Diseño Experimental del Ensayo de Germinación <i>in vitro</i> de Semillas .....	35
Capítulo IV: Resultados .....	36
Manejo de Material Vegetal en Campo .....	36
Análisis para la Caracterización Morfológica .....	38
Descripción de Parámetros Cuantitativos .....	38
Descripción de Parámetros Cualitativos .....	39
Ensayo de Viabilidad .....	40
Análisis para la Caracterización Germinativa .....	42
Ensayo de Desinfección de Semillas.....	42
Ensayo de Germinación de Semillas.....	47
Capítulo V: Discusión .....	53
Caracterización Morfológica .....	54
Caracterización Germinativa .....	56
Capítulo VI: Conclusiones.....	59
Capítulo VII: Recomendaciones .....	61
Bibliografía.....	62

### Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Tratamientos para el ensayo de viabilidad.....</i>	34
<b>Tabla 2</b> <i>Tratamientos para el ensayo de desinfección .....</i>	34
<b>Tabla 3</b> <i>Tratamientos para el ensayo de germinación .....</i>	35
<b>Tabla 4</b> <i>Parámetros morfológicos cuantitativos de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal .....</i>	39
<b>Tabla 5</b> <i>Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de viabilidad de los embriones de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal .....</i>	41
<b>Tabla 6</b> <i>Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de desinfección de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal.....</i>	43
<b>Tabla 7</b> <i>Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de desinfección de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal necrosadas y oxidadas .....</i>	45
<b>Tabla 8</b> <i>Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de germinación in vitro de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal.....</i>	48

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Inflorescencia y hojas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	22
<b>Figura 2</b> <i>Ubicación geográfica de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	28
<b>Figura 3</b> <i>Ficha técnica de la especie</i> .....	36
<b>Figura 4</b> <i>Estado de maduración de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	37
<b>Figura 5</b> <i>Estado de maduración del fruto de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	38
<b>Figura 6</b> <i>Semillas y embrión de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	40
<b>Figura 7</b> <i>Semillas y embriones de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal teñidas con tetrazolio</i> .....	40
<b>Figura 8</b> <i>Porcentajes de viabilidad de los embriones de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	42
<b>Figura 9</b> <i>Semillas Oreopanax seemannianus Marchal contaminadas</i> .....	43
<b>Figura 10</b> <i>Porcentajes de contaminación de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	44
<b>Figura 11</b> <i>Semillas de Oreopanax seemannianus Marchal en desinfección con NaClO</i> .....	45
<b>Figura 12</b> <i>Porcentajes de necrosis y oxidación de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal en el ensayo de desinfección</i> .....	46
<b>Figura 13</b> <i>Semillas de Oreopanax seemannianus Marchal germinadas</i> .....	47
<b>Figura 14</b> <i>Porcentajes de capacidad germinativa de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	48
<b>Figura 15</b> <i>Germinación Acumulativa de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	50
<b>Figura 16</b> <i>Tiempo de latencia y Velocidad Germinativa de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal</i> .....	51

## Resumen

Los bosques andinos son ecosistemas con alto grado de diversidad endémica en el Ecuador. La importancia de esta región radica en la mitigación del cambio climático, la captación y el suministro de agua a los valles interandinos y poblaciones aledañas. Sin embargo, esta región es amenazada por actividades antrópicas, debido a la expansión altitudinal de la urbanización humana, agricultura y ganadería. Estas actividades afectan en la erosión, captación y retención de carbono en el suelo, conllevando así a numerosas pérdidas de los recursos hidráulicos y la biodiversidad. Por tal motivo, el desarrollo de programas de restauración y conservación como bancos de semillas son estrategias para salvaguardar la diversidad genética. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo caracterizar parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador. Para lo cual, se recolectaron muestras de frutos y semillas de *O. seemannianus*. Estas muestras permitieron identificar el tipo y latencia presente en ellas mediante parámetros cuantitativos y cualitativos. Por otro lado, se analizó y comparó porcentajes de viabilidad en las semillas mediante la prueba de Tetrazolio a diferentes condiciones de concentración y tiempo de inmersión a temperatura constante. Finalmente, se evaluó distintas concentraciones de hipoclorito de sodio, ácido giberélico y temperatura para establecimiento de germinación *in vitro*. Los resultados obtenidos fueron que las semillas no poseen la capacidad de resistir a la desecación. Sin embargo, la viabilidad en las semillas fue entre 55.56% y 71.11%. Además, las condiciones óptimas para la desinfección y posterior establecimiento *in vitro* fueron hipoclorito de sodio al 5%, medio MS  $\frac{1}{2}$  suplementado con ácido giberélico al 1mg/L a temperatura de 25°C. Estos parámetros favorecieron capacidad y velocidad germinativa a menores tiempos de ruptura de latencia. La información obtenida en el presente estudio ha sido de gran importancia para la creación de bases de datos en el programa de conservación de recursos genéticos de semillas andinas HANS-BANK.

*Palabras clave:* Bosque Andino, actividades antropogénicas, cambio climático, banco de semillas.

### Abstract

Andean forests are ecosystems with a high degree of endemic diversity in Ecuador. The importance of this region lies in climate change mitigation, water catchment and water supply to the inter-Andean valleys and surrounding populations. However, this region is threatened by anthropogenic activities, due to the altitudinal expansion of human urbanization, agriculture, and livestock. These activities affect soil erosion, carbon sequestration and retention, leading to numerous losses of water resources and biodiversity. For this reason, the development of restoration and conservation programs such as seed banks are strategies to safeguard genetic diversity. In this context, the present study aims to characterize morphological and germination parameters of *Oreopanax seemannianus* Marchal seeds in Andean forests of Ecuador. For this purpose, samples of fruits and seeds of *O. seemannianus* were collected. These samples allowed us to identify the type and dormancy present in them by means of quantitative and qualitative parameters. On the other hand, seed viability percentages were analyzed and compared using the Tetrazolium test at different concentration conditions and immersion time at constant temperature. Finally, different concentrations of sodium hypochlorite, gibberellic acid and temperature were evaluated to establish germination *in vitro*. The results obtained were that the seeds do not have the ability to resist desiccation. However, seed viability was between 55.56% and 71.11%. In addition, the optimal conditions for disinfection and subsequent establishment *in vitro* were 5% sodium hypochlorite, ½ MS medium supplemented with 1mg/L gibberellic acid at a temperature of 25°C. These parameters favored germination capacity and speed at shorter dormancy break times. The information obtained in this study has been of great importance for the creation of databases in the HANS-BANK program for the conservation of Andean seed genetic resources.

*Key words:* Andean Forest, anthropogenic activities, climate change, seed bank.

## Capítulo I: Introducción

### Planteamiento del Problema

Uno de los ecosistemas más diversos en el Ecuador son los bosques andinos y el páramo, ya que la influencia del clima y el tipo de suelo permiten la formación de hábitats con alto grado de endemismo en plantas. Este ecosistema es de gran importancia para la captación y suministro de agua a los valles interandinos y poblaciones (Beltrán et al., 2009; Chuncho & Chuncho, 2019; MECN - INB, 2015).

Sin embargo, los bosques andinos y el páramo han sido utilizados principalmente para actividades económicas como agricultura, ganadería, minería, entre otros. Este uso ha provocado severos riesgos en la conservación e integridad del ecosistema (Hofstede et al., 2014; MECN - INB, 2015). Según el Ministerio del Ambiente del Ecuador (2015), las actividades agropecuarias han incrementado la deforestación, ocasionando grandes pérdidas en la vegetación. Se ha registrado en el año 2010 un total de 353 especies de plantas endémicas amenazadas del Ecuador en peligro de extinción, 1071 en peligro y 2080 vulnerables (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2015).

Esta problemática se ve incrementada con el cambio climático y el calentamiento global, ya que causa afectación en la erosión, la capacidad de almacenar y de retener carbono en el suelo. Esto conlleva a grandes pérdidas de los servicios hídricos debido a la movilidad del agua, lo que perjudica tanto a los ecosistemas presentes como a la población que depende de este recurso (Chuncho & Chuncho, 2019).

Por otro lado, el conocimiento de la biodiversidad es aún limitado. Se tiene muy poca información de los bosques andinos y el páramo. Es necesario conocer la funcionalidad, la influencia de la fragmentación y la conectividad, para entender la adaptabilidad y los cambios morfológicos que sufren las plantas en estos ecosistemas (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2015).



En relación con esta problemática, los bosques andinos y el páramo son cada vez más el centro de atención para proyectos de conservación y creación de bancos de semillas (Beltrán et al., 2009; Hofstede et al., 2014). La mayoría de las investigaciones apoyan el uso sustentable y preservación de la biodiversidad, como es el caso del banco de semillas Andinas HANS-BANK (Beltrán et al., 2009).

### **Justificación del Problema**

Los bosques andinos y el páramo son ecosistemas altamente frágiles, ya que su vegetación está expuesta a variantes de temperatura, cobertura de niebla, baja presión atmosférica y alta irradiación solar. Estas condiciones abióticas permiten que las especies vegetales desarrollen estrategias de adaptabilidad, resultando un alto endemismo. En el Ecuador, la mayoría de estos ecosistemas han sufrido muchas alteraciones, como la quema de áreas de pajonal, agricultura, minería, deforestación, afectando de manera irreversible la composición estructural del ecosistema (Chuncho & Chuncho, 2019). El impacto ambiental junto con las actividades humanas ha puesto en riesgo esta gran biodiversidad (Hofstede et al., 2014).

Por tal motivo, es importante generar investigación e información que permita la conservación de la biodiversidad y los recursos genéticos de la flora andina. Para ello, es necesario describir y estudiar parámetros que permitan predecir ciertos comportamientos e interacciones ecológicas ante cambios ambientales (Romero & Pérez, 2016).

El conocimiento de los parámetros morfológicos y fisiológicos de la planta, así como la germinación de semillas para el establecimiento de plántulas son elementos necesarios para la restauración de los bosques andinos y el páramo (Martínez et al., 2020). Por ello, *Oreopanax seemannianus* Marchal es una de las especies más utilizadas para los procesos de restauración (Fajardo, 2008). Esta especie arbustiva es una de las más emblemáticas de los bosques andinos y altoandinos con rango de altitud de 2.000 – 4.000 m s.n.m., (Romoleroux et al., 2019; Ulloa & Moller, 2022b).

En este contexto, el presente estudio se enfocará en identificar parámetros morfológicos tanto cuantitativos como cualitativos para analizar de la viabilidad y determinar los parámetros germinativos de la especie *O. seemannianus* para el establecimiento de bancos de semillas. Este trabajo cuenta con la colaboración del proyecto BIO-GEEC y la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE para el establecimiento de una base de datos y el banco de semillas Andinas HANS-BANK.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Caracterizar parámetros morfológicos y germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en Bosques Andinos del Ecuador.

### **Objetivos Específicos**

- Recolectar de forma aleatoria, muestras de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en los Bosques Andinos del Ecuador.
- Identificar parámetros morfológicos cuantitativos y cualitativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal a partir de las muestras recolectadas en los Bosques Andinos del Ecuador.
- Analizar semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal mediante la coloración del embrión con la prueba de Tetrazolio, para establecer su viabilidad.
- Determinar parámetros germinativos de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal a partir de pruebas de germinación *in vitro*.

## **Hipótesis**

Los parámetros morfológicos y los tratamientos aplicados en la germinación permiten incrementar de manera estadísticamente significativa la capacidad germinativa de semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal.

## Capítulo II: Marco Teórico

### **Bosques Andinos y Páramos del Ecuador**

Los bosques andinos y los páramos son ecosistemas muy diversos. Estas regiones comparten zonas de la Cordillera de los Andes, distribuyéndose en los países de Venezuela, Colombia, Ecuador y el norte de Perú. Sin embargo, también encontramos zonas de páramo en Costa Rica y Panamá (Hofstede et al., 2014; MECN - INB, 2015).

Los bosques andinos se encuentran a una altitud entre 1.800 y 3.000 m s.n.m., los cuales están conformados por 11 formaciones vegetales como bosque siempreverde, bosque de neblina montano, matorrales húmedos, secos, entre otros. Los páramos en cambio comprenden alturas entre 3.200 y 4.700 m s.n.m., los cuales se divide en tres categorías: páramo inferior entre 3.200 – 4.000 m s.n.m., páramo medio 4.000 – 4.500 m s.n.m. y páramo superior sobre 4.500 m s.n.m. (Camacho, 2013).

El clima de los bosques andinos y los páramos ecuatorianos se ven influenciados por la ubicación de los trópicos y la Cordillera de los Andes (Beltrán et al., 2009). Esto se debe a los factores meteorológicos y tipos de suelos que han permitido incrementar la diversidad y endemismo (Beltrán et al., 2009; Camacho, 2013; MECN - INB, 2015). Por ello, se ha reportado hasta la fecha en el Ecuador cerca de 1524 especies presentes en estos ecosistemas (Chuncho & Chuncho, 2019).

### ***Importancia de los Bosques Andinos y los Páramos***

Los bosques andinos y los páramos presentan varios servicios ambientales como la generación de recursos hídricos para la población, tanto de manera directa como indirecta (Chuncho & Chuncho, 2019). Esto se debe a que los suelos son profundos, de baja densidad y alta porosidad. Por esta razón, los suelos en esta zona son importantes para retener el agua por largos periodos, con liberación lenta y de manera constante (Hofstede et al., 2014).

Adicionalmente, las bajas temperaturas de estas zonas hacen que la tasa de descomposición sea lenta, lo que provoca una acumulación de materia orgánica en el suelo. La retención de carbono

junto con el almacenamiento de agua permite ayudar en el control del calentamiento global (Chuncho & Chuncho, 2019).

### ***Situación Actual de los Bosques Andinos y los Páramos***

El impacto del cambio climático es mayor en los ecosistemas de alta montaña que en la mayoría de los ecosistemas tropicales (Hofstede et al., 2014). Esto se debe a que los bosques andinos y los páramos son ecosistemas muy frágiles, debido a su alta sensibilidad ante cualquier alteración (Isch, 2012). Además, las actividades actuales en los bosques andinos y los páramos están direccionados a cultivos, ganadería, plantaciones forestales y minería de carbono (Hofstede et al., 2014). Por ello, la conversión de estos suelos a tierras agrícolas conlleva a una pérdida de carbono y control que influye en el calentamiento global (Chuncho & Chuncho, 2019).

Otro factor que afecta los bosques andinos y los páramos son la quema de pajonales para la obtención de rebrotes tiernos destinados a la alimentación del ganado. Esta actividad provoca una reducción de la vegetación original del ecosistema y transforma a un mosaico de paisajes y pérdidas irreversibles, amenazando la integridad de la flora, fauna y los recursos hídricos de la zona (Hofstede et al., 2014; MECN - INB, 2015).

### ***Reservas Nacionales de Bosques Andinos***

La importancia de los bosques andinos ha llevado a la organización y el incremento de áreas protegidas que conforman actualmente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas SNAP. Este es el caso de la prefectura de Cotopaxi junto con las provincias de Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Carchi, Imbabura, Pichincha, Napo, Pastaza, Cañar y Azuay consolidaron en el año 2017 la primera mancomunidad de los páramos y humedales andinos. El objetivo principal de este proyecto es cuidar el agua presente en estas zonas a través de corredores ecológicos e impedir el avance de las actividades agrícolas y pastoreo (Moreta et al., 2018; Rodríguez et al., 2018).

La región Andina del Ecuador alberga numerosas áreas protegidas (Camacho, 2013). Según el Sistema Nacional de Áreas Protegidas SNAP se encuentran la Reserva Ecológica Antisana teniendo una extensión de 120.000 hectáreas, el Parque Nacional Cajas con 28.808 hectáreas, la Reserva

Ecológica Cayambe Coca posee 403.103 hectáreas, la Reserva de Producción Faunística Chimborazo cubre una extensión de 58.560 hectáreas, el Parque Nacional Cotopaxi con extensión de 33.393 hectáreas, entre otros (Rodríguez et al., 2018)

Las áreas protegidas por el SNAP se encuentran en sistemas ecológicos clasificados por alianzas y/o asociaciones vegetales, como los Bosques Altimontanos Norte – Andinos Siempreverdes, Arbustos y Frailejones Altimontanos Paramunos, Pajonales Altimontanos y Montanos Paramunos, entre otros (Beltrán et al., 2009).

El parque Nacional Cotopaxi se encuentra en los páramos del Norte de la Cordillera Real Occidental. Esta región presenta Bosques Altimotano Norte-Andinos, los cuales albergan especies del género *Oreopanax*, al igual que en los macrogrupos de Bosques Altimontanos y Altoandinos húmedos de los páramos del Norte de la Cordillera Occidental Ecuatoriana en la laguna de Mojanda (Beltrán et al., 2009).

### ***Oreopanax seemannianus* Marchal**

#### ***Taxonomía y distribución***

*Oreopanax seemannianus* es una especie que pertenece a la familia Araliaceae, la cual es conocida como la familia del Puma-maqui debido a la forma de sus hojas parecidas a la mano de un puma. La familia Araliaceae consta de 5 géneros en el Ecuador. El género está comprendido por 19 especies, siendo *Oreopanax seemannianus* Marchal uno de los principales representantes arbóreos en bosques andinos y altoandinos (Ulloa & Moller, 2022a, 2022b).

*Oreopanax seemannianus* está distribuida en las provincias de Azuay, Carchi, Pichincha, Tungurahua, Loja, Morona Santiago, Napo, Chimborazo, Cotopaxi, El Oro e Imbabura. Esta especie se desarrolla en el Páramo, Bosques Altimontanos y Altoandinos, Bosque Montano Occidental – Oriental y Bosque Húmedo Tropical Amazónica a una altura entre 2000 a 4000 m.s.n.m. (Beltrán et al., 2009; Romoleroux et al., 2019).

### **Descripción Morfológica**

*Oreopanax seemannianus* es un árbol dioico cuya altura puede llegar hasta 10 m. El tallo es flexible y delgado con coloración ferrugínea. Las hojas son alternadas, ovadas-elongadas con ápice obtuso a redondeado, su haz es glabro, con venación reticular no marcada, lisa y en el envés presenta indumentos densos de coloración blanquecina-ferrugínea a grisácea. La inflorescencia es en forma de panícula, las cuales son terminales y ramificadas. Las panículas presentan pubescencia estrellada-tomentosa. Las flores son de coloración blanca o verde-blanquecina. El Fruto es en forma de baya de coloración púrpura oscura, los cuales presentan un promedio de 5 semillas (Borchsenius, 1997; Romoleroux et al., 2019). En la figura 1 se puede observar la inflorescencia y las hojas de *O. seemannianus*.

### **Figura 1**

*Inflorescencia y hojas de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota. Oreopanax seemannianus* Marchal recolectado en la laguna de Mojanda con coordenadas 17N 803084 14916.

### ***Importancia y Situación Actual en el Ecuador***

Las especies del género *Oreopanax* son importantes en el área de reforestación de bosques montanos, laderas y bosques mesófilos de montaña en la región andina. Esto se debe a que estas especies crecen en terrenos escarpados. Es por esta razón que su uso en la reforestación es importante para la recuperación del suelo y la capacidad de filtración, ya que evitan la erosión y deslaves en el suelo (Bermeo, 2015; Pozo, 2010; L. Ruiz et al., 2011).

Además, el género *Oreopanax* es importante en el uso de medicina tradicional. Algunas aplicaciones de estas especies son para curar heridas en dermatitis y para aliviar el dolor de cabeza mediante infusiones de hojas maduras. Adicionalmente, posee capacidad anticancerígena debido a sus metabolitos secundarios con la propiedad inhibitoria antineoplásica (Ojada, 2010).

Sin embargo, actualmente en el Ecuador, el género *Oreopanax* se emplea mayoritariamente en leña, diseño de artesanías, en la producción de carbón e incluso en la construcción. Todo esto se debe a que su madera tiene la particularidad de ser flexible y de fácil manipulación. Este uso intensivo ha traído consigo la pérdida de algunas especies, como es el caso de *O. seemannianus*, siendo considerada actualmente como especie rara a nivel local (Morocho, 2016).

En estas circunstancias, es necesario buscar estrategias que permitan la recuperación de los bosques de manera integral, como es la conservación *ex situ* (P. Bacca et al., 2022). La conservación *ex situ* tiene la finalidad de preservar especies vegetales fuera de su hábitat natural e indicar la variabilidad producida durante el proceso evolutivo. Una alternativa de conservación *ex situ* son los bancos de semilla, donde el conocimiento fisiológico es importante para la selección de las especies vegetales a conservar (Hidalgo, 1991).

Por ello, es necesario determinar algunos parámetros que permitan la correcta conservación de las especies. Entre estos parámetros se encuentra la caracterización de los descriptores morfológicos, los métodos de recolección y los parámetros de germinación (P. Bacca et al., 2022).

### **Parámetros Morfológicos de Plantas y Semillas**

Los parámetros morfológicos son expresiones de cada una de las especies que determinan el crecimiento, supervivencia y reproducción. El estudio de los rasgos morfológicos en las plantas se ha convertido actualmente en una herramienta importante, debido a que permiten predecir comportamientos e interacciones ecológicas de las especies ante cambios ambientales o antropológicos en los ecosistemas. Sin embargo, a nivel mundial es escasa la información sobre estos rasgos morfológicos lo que dificulta su conservación (P. Bacca et al., 2022; Romero, 2016).

Por otro lado, el estudio de los rasgos en frutos y semillas es importante para comprender la historia ecológica y evolutiva de las comunidades vegetales, los procesos en la tolerancia a la desecación y el éxito de la conservación de las semillas *ex situ*. Sin embargo, al haber variación en los rasgos morfológicos en estas estructuras reproductivas se afecta directamente los procesos de adaptación, dispersión, germinación y colonización de las plántulas a los diferentes ecosistemas (Romero, 2016; Romero & Pérez, 2016).

### ***Parámetros Morfológicos Cuantitativos y Cualitativos de Plantas y Semillas***

Los parámetros morfológicos cuantitativos en plantas corresponden a las variables de altura del individuo, diámetro del tallo, longitud de la inflorescencia, diámetro de la inflorescencia, número de flores, tamaño de las hojas, tamaño del fruto y semillas (Nieto et al., 1992; Alezones et al., 2014; V. Ruiz et al., 2013). En cambio, los caracteres morfológicos cualitativos en plantas según Damascos (1997), son utilizados como indicadores de alteración de hábitat. Dichos caracteres son dirección del crecimiento, inserción de la hoja, margen y forma de la hoja, coloración de las flores, pubescencia de las hojas y tallos (Alezones et al., 2014).

Los rasgos morfológicos cuantitativos más utilizados en la ecología de semillas son la cantidad de semillas por fruto, el tamaño, masa y el contenido de humedad de las semillas. Estos dos últimos parámetros están asociados con la tolerancia a la desecación y germinación, debido a que son fundamentales para la creación de bancos de semillas. Por otro lado, la cantidad de semillas por



fruto está relacionado con el tipo de fruto y el comportamiento potencial de la semilla para su almacenamiento (Romero & Pérez, 2016).

Las semillas poseen una diversidad de rasgos cualitativos, ya que son indicadores para el tratamiento de semillas pre y post conservación *ex situ*. El tipo de semilla, la textura de la testa, el tipo de embrión, la presencia o ausencia de endospermo son indicadores empleados en los tratamientos de conservación. El tipo de semilla permite conocer la tolerancia de ser almacenadas a bajas temperaturas por largos periodos de tiempo. La textura de la testa juega un papel importante en la velocidad de germinación al regular el ingreso del agua al interior de las semillas. Mientras que las estructuras internas como embrión y endospermo relacionan el comportamiento germinativo con el tipo de dormancia de la semilla (Hidalgo, 1991; Romero & Pérez, 2016).

### **Recolección y Almacenamiento de Semillas**

La recolección y almacenamiento de semillas son técnicas esenciales para proteger y conservar la diversidad genética de especies amenazadas o especies necesarias para la investigación y restauración. Por ello, los aspectos a considerar en la recolección de especies vegetales son la valoración de la población vegetal, la evaluación de madurez y la calidad física de semillas (di Sacco et al., 2020).

La valoración de la población vegetal es un paso preliminar para la recolección de semillas, ya que abarca la identificación botánica y la dimensión de la población. Por otro lado, la evaluación de la madurez de las semillas permite conocer si las muestras vegetales son capaces de germinar, tolerar el secado y alcanzar la máxima longevidad. La evaluación de la calidad física de las semillas se realiza mediante la prueba de corte antes de realizar la recolección, lo que permite conocer la cantidad de frutos o semillas a recolectar (di Sacco et al., 2020).

El almacenamiento de las semillas recolectadas se debe realizar en condiciones adecuadas, ya que el tiempo dependerá de la calidad y la viabilidad inicial al momento de ingresarlas al banco de semillas. Los principales factores que afectan la calidad son la madurez de la semilla, niveles de

infestación por insectos, daños por condiciones externa y manejo postcosecha durante y después de la recolección de semillas (di Sacco et al., 2020).

### **Viabilidad de las Semillas**

La viabilidad es una característica que muestra la capacidad que tienen las semillas para germinar y originar plántulas en condiciones ambientales favorables. La viabilidad tiene importancia en los procesos de conservación *ex situ*, ya que permite determinar las condiciones de almacenamiento para asegurar mayor longevidad. Sin embargo, los deterioros fisiológicos de las semillas tras su maduración y dispersión producen un decrecimiento de la capacidad germinativa y la vigorosidad (Pérez & Pita, 2016).

Por esta razón, se han desarrollado diferentes protocolos para evaluar la viabilidad y el vigor de las semillas, que además permitirán determinar las condiciones de almacenamiento para una mayor longevidad. Entre estos protocolos se destacan ensayos de germinación, ensayo de tetrazolio y radiografía con rayos X (Pérez & Pita, 2016).

### **Ensayo de Tetrazolio**

El ensayo de tetrazolio es una de las pruebas bioquímicas que sirve para determinar la viabilidad de las semillas. Este ensayo es utilizado para semillas con profunda dormancia y semillas con lenta germinación, así también para estimar el potencial de germinación y la viabilidad individual (ISTA, 2016).

Esta prueba se basa en pre hidratar semillas y colocarlas en contacto con una solución de tetrazolio. La pre-hidratación es fundamental para activar rutas metabólicas como reacciones químicas de oxidación. Este proceso ayuda a estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por lo tanto su viabilidad. Las semillas al estar en contacto con la solución de tetrazolio adquieren una coloración rojiza. Los electrones liberados de los tejidos del embrión reducirán las sales de tetrazolio adquiriendo una coloración de rojo intenso a las semillas viables (Pérez & Pita, 2016).

Los factores que intervienen en la viabilidad son la madurez al momento de recolección, el manejo, el procesamiento postcosecha en el campo y laboratorio, las condiciones de almacenamiento, la especie, el hábitat y el clima donde se recolectaron las semillas (di Sacco et al., 2020).

### **Germinación *in vitro* de Semillas**

La germinación es un rasgo central en el ciclo de vida de las plantas. Las semillas son capaces de predecir condiciones ambientales de su entorno para germinar y establecerse (Romero, 2016). Los procesos germinativos permiten evaluar la capacidad, la velocidad, la uniformidad y la duración de la germinación de cada semilla y su población (González & Orozco, 1996).

Sin embargo, ciertas condiciones ambientales pueden alterar la reproducción y la respuesta germinativa de las especies vegetales. Por ello, los avances tecnológicos han favorecido la germinación de semillas de manera *in vitro*. El objetivo de este método es inducir la germinación de semillas superando restricciones ocasionadas por la cubierta de la semilla o del endospermo y así obtener una planta viable (di Sacco et al., 2020; Santamaria et al., 2012)

La germinación *in vitro* permite manipular condiciones de temperatura, luz, tratamientos pregerminativos y promotores químicos en medios de cultivo para favorecer al crecimiento de la planta (di Sacco et al., 2020). Los medios de cultivo proporcionan suficiente espacio de poros, aire y agua para el crecimiento del sistema radicular y el contacto con soluciones que permiten el crecimiento de la planta. Los procedimientos para promover la germinación son utilizados para romper la dormancia fisiológica de las semillas, los cuales son luz, ácido giberélico (GA3), nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>), entre otros (ISTA, 2016).

## Capítulo III: Metodología

### Manejo de Material Vegetal en Campo

#### *Recolección de Semillas*

El material vegetal de la especie *Oreopanax seemannianus* fue recolectado en los bordes de la laguna de Mojanda, ubicada en provincia de Imbabura, cantón Otavalo (figura 2). La recolección se realizó durante el periodo de noviembre 2022 – enero 2023. Los frutos se recolectaron en tubos cónicos de tapa rosca y en fundas ziploc, etiquetadas con el número de accesión, fecha y lugar. En la ficha de muestreo de campo se registró las condiciones que presentaba la especie y características del terreno del día de recolección. Los datos de coordenadas y altitud se realizaron mediante la aplicación Timestamp Camera Free versión 2022.

#### Figura 2

*Ubicación geográfica de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota.* Ubicación geográfica de las muestras recolectadas de la especie de *O. seemannianus* Marchal en la laguna de Mojanda con coordenadas marcadas en azul, las cuales son 17N 802880 16455, 17N 802969 15118, 17N 803057 14971 y 17N 803067 14965.

## **Manejo y Procesamiento de Semillas en Laboratorio**

El análisis del material vegetal se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sede Matriz (17M 784325 9965450), ubicada en la Provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui.

Las semillas de *O. seemannianus* se obtuvieron a partir de los frutos. La desinfección de los frutos se realizó en tubos cónicos de tapa rosca de 50 mL. Las bayas se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por 3 minutos, seguido de 3 enjuagues con agua destilada. Posteriormente, con la ayuda de un bisturí y pinzas se extrajeron las semillas y se colocaron en cajas Petri. El material utilizado para este proceso fue autoclavado previamente. En cada caja Petri se colocó 100 semillas, las cuales fueron almacenadas en fundas de papel periódico y sílica gel. Las fundas se etiquetaron con el número de accesión y fecha.

### **Caracterización Morfológica**

#### **Parámetros Cuantitativos**

Los parámetros morfológicos cuantitativos de las semillas de *O. seemannianus* que se analizaron fueron a) número de semillas por fruto, b) peso, c) tamaño de la semilla y d) contenido de humedad. Los análisis se realizaron seleccionando las semillas de forma aleatoria.

El número de semillas por fruto se analizó según el trabajo de Romero y Granda del 2020. El conteo se realizó durante la extracción de semillas, registrando los datos y colocándolas en cajas Petri. El almacenamiento de las cajas fue en fundas de papel periódico con sílica. El peso se midió en una balanza analítica de precisión siguiendo la metodología de ISTA (2016). Se midió la masa de 10 lotes de 100 semillas por caja y se registró los datos.

El parámetro de tamaño se realizó midiendo el largo, el ancho y el grosor de 100 semillas según lo descrito por Romero y Pérez (2016). Los valores de largo y ancho se obtuvieron mediante el programa ImageJ versión 2022, mientras que la medición del grosor se utilizó el calibrador vernier. En cuanto al contenido de humedad, se determinó midiendo la masa de 100 semillas antes y

después de ser secadas en el horno a 103°C por 17 horas según la metodología de ISTA (2016). El porcentaje del contenido de humedad final se obtuvo mediante la ecuación (1).

$$\% \text{ Contenido de humedad} = \frac{\text{Pérdida de peso}}{\text{Peso inicial}} \cdot 100$$

$$\% \text{ Contenido de humedad} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde los factores  $W_1$  pertenece al peso inicial y  $W_2$  al peso final en gramos de la muestra.

### **Parámetros Cualitativos**

Los parámetros morfológicos cualitativos de las semillas de *O. seemannianus* que se determinaron fueron a) forma de la semilla, b) forma y tipo de embrión y c) presencia o ausencia de endospermo. La forma de la semilla se determinó mediante la morfología externa de la semilla y la distribución del endospermo. Este parámetro se sustentó por familia y género según lo descrito por Borchsenius (1997) y Qibai y Lowry (2007).

La forma y el tipo de embrión se estableció mediante la ubicación y la morfología interna de la semilla, estos parámetros fueron observados al realizar un corte longitudinal a la semilla. La forma y tipo de embrión fueron corroborados por las características de la familia según Bremer y sus colaboradores (2003) y Martin (1946).

La distribución, la cantidad y la presencia o ausencia de endospermo se observó mediante un corte longitudinal de la semilla. Este parámetro según el criterio de Bremer y sus colaboradores (2003) se ratificó por las características de la familia y la morfología interna en semillas de angiospermas maduras.

### **Ensayo de Viabilidad**

#### **Prueba de Tetrazolio**

La prueba de tetrazolio se basó en la metodología según ISTA (2016). En el ensayo se escogieron 180 semillas de manera aleatoria. Las semillas se imbibieron en agua destilada por 24 h a 25°C. Posteriormente, se realizaron cortes longitudinales del cotiledón a cada semilla. Después, las semillas se sumergieron en soluciones de tetrazolio al 0.5% y 1% a pH 6.6 en el periodo de 24 h y 48

h a 30°C en la incubadora. Una vez finalizado los tiempos de análisis, se extrajeron los embriones de cada semilla y se determinó los embriones viables y no viables según su coloración roja y blanca respectivamente. El porcentaje de viabilidad se calculó mediante la ecuación (2)

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{\text{Embriones viables}}{n} \cdot 100 \quad (2)$$

Donde los embriones viables corresponden al número de embriones con tinción rojo - rosa en cada tratamiento. El número de embriones totales (n) es el número de embriones utilizados por tratamiento.

### **Caracterización Germinativa**

#### ***Ensayo de Desinfección de Semillas***

El ensayo de desinfección de semillas de *O. seemannianus* se realizó en la cámara de flujo laminar y se siguió el protocolo de Nicholls (2018) con modificaciones. Las semillas se seleccionaron de manera aleatoria y se utilizó 180 unidades. Las semillas se sumergieron en Etanol al 70% por 5 min, seguido de un enjuague con agua destilada estéril. Posterior a ello, las semillas se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 0%, 3%, 5% y 7% adicionado con dos gotas de Tween 20 durante 5 min, para su posterior lavado con agua destilada estéril (mínimo seis veces).

Finalmente, las semillas se sembraron en cajas Petri con 11 mL de medio MS ½ suplementado con sacarosa y solidificado con agar. Las cajas se colocaron en incubación a 23°C por 15 días y fueron evaluadas pasando un día. Se consideró que hubo contaminación cuando las bacterias u hongos cubrían por completo el margen de la semilla. El porcentaje de contaminación se calculó con la ecuación (3).

$$\% \text{ Contaminación} = \frac{\text{Semilla contaminadas}}{n} \cdot 100 \quad (3)$$

Donde las semillas contaminadas corresponden al número de semillas con presencia de patógenos (hongos o bacterias) en cada tratamiento. El número total de semillas (n) es el número de semillas utilizadas por tratamiento.

### ***Ensayo de Germinación in vitro de Semillas***

El ensayo de germinación *in vitro* de semillas de *O. seemannianus* se basó en los protocolos de Bacca y sus colaboradores (2020) y Nicholls (2018) con modificaciones. Las semillas se seleccionaron de manera aleatoria. El pretratamiento utilizado fue la imbibición de 180 semillas en agua destilada por 48 horas. Posteriormente, en la semilla se realizó un pequeño corte longitudinal procurando no afectar al embrión. El proceso de desinfección empezó sumergiendo las semillas en Etanol al 70% por 5 min, seguido de un enjuague con agua destilada estéril. Después, las semillas se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% adicionado con dos gotas de Tween 20 durante 5 min, para su posterior lavado con agua destilada estéril (mínimo seis veces).

Finalmente, las semillas fueron sembradas en tubos de 10 mL con 4mL de medio MS ½ solidificado con agar, suplementado con sacarosa y diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG3) 0 mg/L, 0.5mg/L y 1 mg/L. El ensayo se evaluó a diferentes temperaturas de 4°C y 25°C por un mes y se consideró las semillas germinadas cuando se observó 0.5 mm de radícula. La capacidad germinativa se calculó el porcentaje de germinación mediante la ecuación (4).

$$\% \text{ Germinación} = \frac{\text{Semilla Germinadas}}{n} \cdot 100 \quad (4)$$

Donde las semillas germinadas corresponden al número de semillas germinadas en el tiempo de 30 días durante el tratamiento. El número total de semillas (n) es el número de semillas utilizadas en cada tratamiento.

El conteo acumulado de las semillas germinadas en un tiempo determinado se evaluó mediante el porcentaje de germinación acumulativa, el cual fue obtenido mediante la ecuación (5).

$$\% \text{ Germinación Acumulativa} = \frac{\text{Semilla Germinadas}}{n} \cdot 100 \quad (5)$$

Donde las semillas germinadas corresponden al número de semillas germinadas en el tiempo cada 2 días durante el tratamiento. El número total de semillas (n) es el número de semillas utilizadas por tratamiento.



La cuantificación del vigor de las plántulas fue determinada mediante la ecuación (6) de velocidad germinativa, la cual relaciona la germinación acumulativa y el tiempo de latencia necesario para el rompimiento de latencia, lo que refleja el efecto del tratamiento.

$$\text{Velocidad de Germinación} = \frac{\sum \text{Semilla Germinadas}}{t} \quad (6)$$

Donde la suma de las semillas germinadas corresponde al número de semillas germinadas en cada tratamiento. El tiempo (t), es el tiempo de germinación desde la siembra hasta la geminación de la última semilla por tratamiento.

### **Análisis Estadístico**

#### ***Caracterización Morfológica***

La caracterización morfológica cuantitativa se realizó mediante un análisis exploratorio de datos con los siguientes parámetros: a) tamaño (largo, ancho y grosor), b) peso, c) contenido de humedad de la semilla y d) número de semillas por fruto. Para el tamaño y contenido de humedad se utilizaron 4 lotes de 25 semillas y para el peso se utilizaron 10 lotes de 100 semillas. Mientras que para el número de semillas por fruto se utilizaron 4 lotes de 25 frutos. Los resultados se analizaron mediante los valores obtenidos de promedio y desviación estándar de cada parámetro, los cuales se realizaron en el software Excel versión 2019 y el software InfoStat versión 2020.

#### ***Diseño experimental***

Los resultados de normalidad obtenidos en cada ensayo se comprobaron gráficamente empleando la prueba de Shapiro – Wilks. Las medias de los tratamientos se clasificaron empleando el método de ANOVA y Duncan ( $\alpha=0,05$ ). En cuanto a los supuestos que no cumplen una distribución normal, se utilizó el método no paramétrico de Kruskal – Wallis. En todos los análisis mencionados anteriormente se utilizó el software InfoStat versión 2020.

#### **Diseño Experimental del Ensayo de Viabilidad**

En este ensayo se realizó un diseño factorial de  $2^2$  para el análisis de los factores a) concentración de tetrazolio 0.5 y 1% y b) tiempo de exposición 24 horas y 48 horas. La respuesta de

interés en este ensayo fue la presencia de embriones viables y no viables. En cada tratamiento se utilizó tres réplicas de 15 semillas. En la Tabla 1 se presentan los cuatro tratamientos del diseño factorial empleados.

**Tabla 1**

*Tratamientos para el ensayo de viabilidad*

TRATAMIENTOS PARA EL ENSAYO DE VIABILIDAD		
Tratamientos	Concentración de Tetrazolio (%)	Tiempo de Exposición (horas)
T1	0.5	24
T2	1	24
T3	0.5	48
T4	1	48

#### **Diseño Experimental del Ensayo de Desinfección de Semillas**

En este ensayo se realizó un diseño experimental completamente al azar (DECA) para el análisis del factor a) concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) 0, 3, 5 y 7%. La respuesta de interés fue semillas contaminadas y no contaminadas. El tiempo de exposición de cada tratamiento fue de 5 min. En cada tratamiento se utilizó tres réplicas de 15 semillas. En la Tabla 2 se presentan los cuatro tratamientos del diseño experimental utilizados.

**Tabla 2**

*Tratamientos para el ensayo de desinfección*

TRATAMIENTOS PARA EL ENSAYO DE DESINFECCIÓN		
Tratamientos	Concentración NaClO (% v/v)	Tiempo de exposición min
T1	0	5
T2	3	5
T3	5	5
T4	7	5

### Diseño Experimental del Ensayo de Germinación in vitro de Semillas

Se realizó un diseño factorial de 3x2 con factores a analizar a) concentración de ácido Giberélico (GA3) en 0, 0.5 y 1 mg/L y b) temperatura a 4 y 25°C con respuesta de interés en semillas germinadas y no germinadas. Para cada tratamiento se empleó tres réplicas de 15 semillas. En la Tabla 3 se presentan los seis tratamientos empleados.

**Tabla 3**

*Tratamientos para el ensayo de germinación*

TRATAMIENTOS PARA EL ENSAYO DE GERMINACIÓN		
Tratamiento	Ácido Giberélico (mg/L)	Temperatura (°C)
T1	0	4
T2	0.5	4
T3	1	4
T4	0	25
T5	0.5	25
T6	1	25


## Capítulo IV: Resultados

## Manejo de Material Vegetal en Campo

La especie de *Oreopanax seemannianus* Marchal fue recolectada en los bordes de la laguna de Mojanda (17N 803057 14971). La recolección permitió la elaboración de fichas técnicas para el registro posterior en el banco de semillas HANS-BANK como se detalla en la Figura 3.

## Figura 3

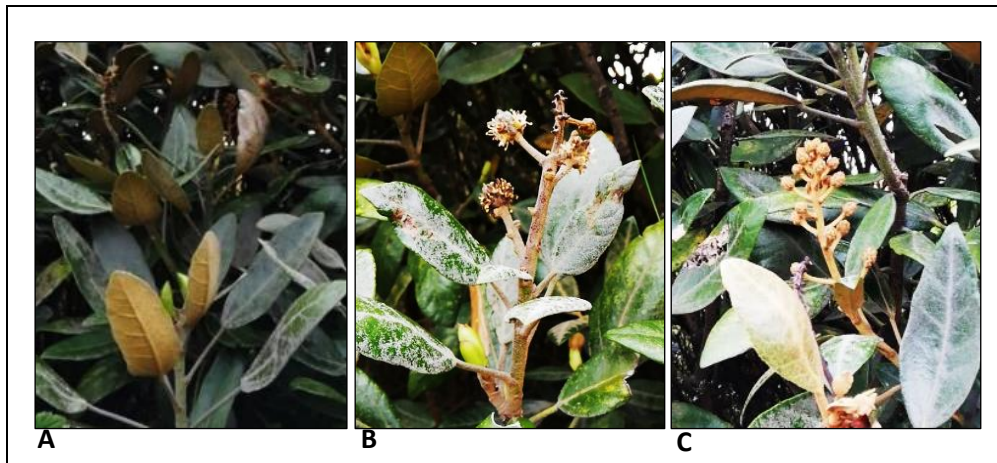
## Ficha técnica de la especie

FICHA TÉCNICA DE LA ESPECIE	
Fotografía	Descripción General de la Especie
 <p>Foto: Tayupanta, M.</p>	<p><b>Nombre Científico:</b> <i>Oreopanax seemannianus</i> Marchal  <b>Nombre Común:</b> Puma maki, urku (Kichwa)  <b>Familia:</b> Araliaceae  <b>Altitud:</b> 2.000 – 4.000 m s.n.m.  <b>Forma de vida:</b> Árbol</p>
	<p><b>Descripción Morfología y Fisiología de la Especie</b></p> <p><b>Altura:</b> Hasta 10 metros  <b>Flor:</b> Pistiladas con pétalos de color blanco.  <b>Hoja:</b> Ovaladas con haz liso sin marcación en la venación y envés de color marrón con indumentos densos.  <b>Tallo:</b> Flexible y delgado con vellosidades estrelladas.  <b>Fruto:</b> Baya con promedio de 3 – 5 semillas.</p>
Datos Adicionales	Distribución en Ecuador
<p><b>Usos:</b> Leña, material de construcción.  <b>Propiedades:</b> Analgésico, anticancerígena  <b>Especie:</b> Nativa  <b>Nota Ecológica:</b> Crece junto a otras especies como <i>Gynoxys acostae</i> y pajonales.</p>	<p>Azuay, Carchi, Pichincha, Tungurahua, Loja, Morona Santiago, Napo, Chimborazo, Cotopaxi, El Oro, Imbabura</p> 
<p><b>Fuente:</b> (Morocho, 2016; Ojada, 2010; Romoleroux et al., 2019)</p>	

La recolección de muestras vegetales *O. seemannianus* permitió observar el proceso de maduración de la planta y del fruto en los meses de noviembre y diciembre. La maduración de las flores y fruto se observó en estado de vegetación, floración y fructificación (Figura 4).

**Figura 4**

Estado de maduración de *Oreopanax seemannianus* Marchal

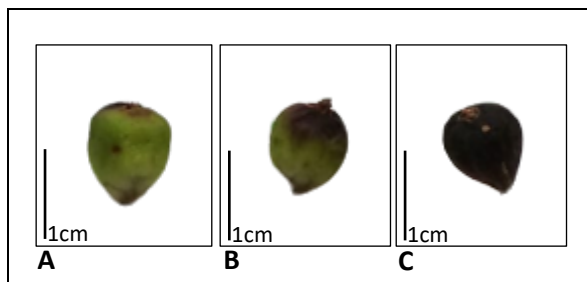


*Nota:* Estado de maduración de *O. seemannianus* (A) vegetativo, (B) floración y (C) fructificación.

La maduración del fruto se observó en las fases inmaduras, maduras y parcialmente maduras según su coloración (Figura 5). Los frutos inmaduros presentaron coloración verde (Figura 5 A). Los frutos maduros presentaron coloración morada – negra (Figura 5 C). Los frutos que estaban parcialmente maduros presentaron coloraciones verdes y moradas en la extremidad del pedúnculo (Figura 5 B).

**Figura 5**

*Estado de maduración del fruto de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota:* Estado de maduración del fruto de *O. seemannianus* (A) inmaduro, (B) intermedio y (C) maduro.

### **Análisis para la Caracterización Morfológica**

La extracción de las semillas del fruto de *O. seemannianus* permitió analizar la caracterización morfológica a nivel cuantitativo y cualitativo. Los parámetros cuantitativos que se evaluaron fueron número de semillas por fruto, peso, tamaño y contenido de humedad de las semillas. Por otro lado, los parámetros cualitativos que se identificaron fueron la forma de las semillas, el tipo y forma de embrión y la distribución del endospermo.

### **Descripción de Parámetros Cuantitativos**

En la Tabla 4 se detalla un resumen de cada parámetro morfológico cuantitativo analizado en las semillas de *Oreopanax seemannianus*. Los parámetros fueron: número de semillas por fruto, dimensiones (largo, ancho y grosor), peso y contenido de humedad de las semillas.

**Tabla 4**

*Parámetros morfológicos cuantitativos de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal*

<b>Parámetros Morfológicos Cuantitativos</b>	<b>Valor Promedio y Desviación Estándar</b>
Número de Semillas por Fruto	3.63±1.40
Peso [g]	1.45±0.21
Largo [cm]	0.51±0.07
Ancho [cm]	0.24±0.04
Grosor [cm]	0.15±0.04
Contenido de Humedad [%]	62.27±5.03

*Nota:* Los valores indican el promedio y desviación estándar en unidades de cada parámetro morfológico cuantitativo.

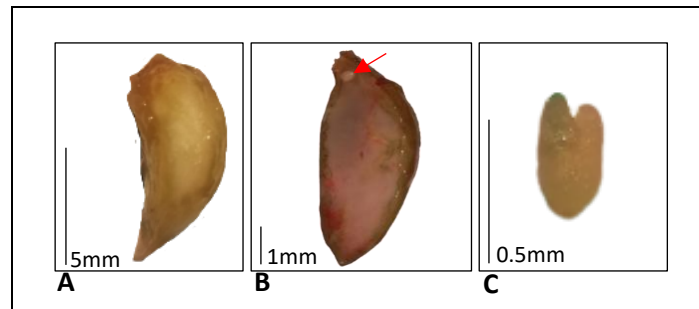
En esta Tabla 4 se puede observar que el promedio de número de semillas por fruto es de 3.63±1.40, mientras que las dimensiones de largo, ancho y grosor de las semillas es de 0.51±0.07, 0.24±0.04, 0.15±0.04 respectivamente. Estos resultados muestran que el fruto de esta especie contiene pocas semillas, posiblemente debido a la distribución de estas dentro del fruto. Por otro lado, el peso en gramos y el porcentaje del contenido de humedad de las semillas tuvieron un promedio de 1.45±0.21g y 62.27±5.03% respectivamente. Los promedios de peso y contenido de humedad sugieren que las semillas posiblemente sean recalcitrantes.

#### **Descripción de Parámetros Cualitativos**

Los parámetros cualitativos permitieron describir la morfología de las semillas de la especie *O. seemannianus*. En la Figura 6 se observa la forma de la semilla y del embrión.

**Figura 6**

*Semillas y embrión de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota:* Semillas y embrión de la especie de *O. seemannianus* (A) forma de la semilla, (B) forma del embrión y (C) presencia de endospermo y embrión basal señalado con la flecha roja.

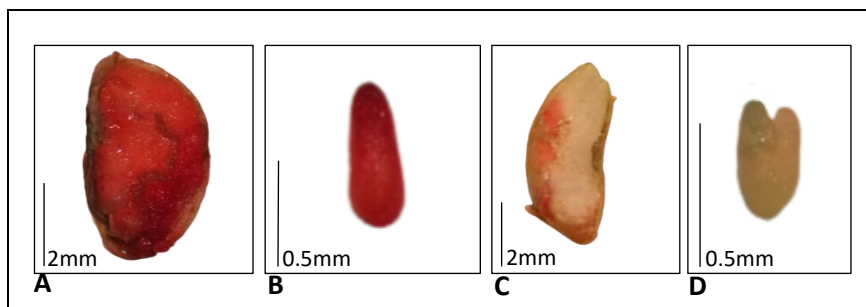
Las semillas tienen una forma de medialuna (Figura 6 A) con abundante endospermo (Figura 6 B). Se observa además que el tipo y forma del embrión de esta especie es basal rudimentario y su tamaño es pequeño globoso a oval-oblongo (Figura 6 B y 6 C).

#### ***Ensayo de Viabilidad***

La prueba colorimétrica de tetrazolio permitió observar la viabilidad en las semillas y los embriones de la especie de *O. seemannianus* (Figura 7). Las semillas y embriones viables se observaron con tinción roja y rosa (Figura 7 A y B), mientras que las muestras que carecían de tinción se consideraron no viables (Figura 7 C y D).

**Figura 7**

*Semillas y embriones de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal teñidas con tetrazolio*



*Nota:* Semillas y embriones de la especie de *O. seemannianus*: (A) semilla viable, (B) embrión viable, (C) semilla no viable y (D) embrión no viable.



El análisis estadístico para el ensayo de viabilidad de los embriones de semillas de *O. seemannianus* se realizó mediante la prueba de Shapiro – Wilks, ANOVA y Duncan para establecer el mejor tratamiento de tinción en las muestras. La prueba de Shapiro – Wilks determinó el valor  $p=0.6533$ , siendo mayor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este valor  $p$  sugiere que los resultados presentan una distribución normal (Tabla 5).

**Tabla 5**

*Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de viabilidad de los embriones de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal*

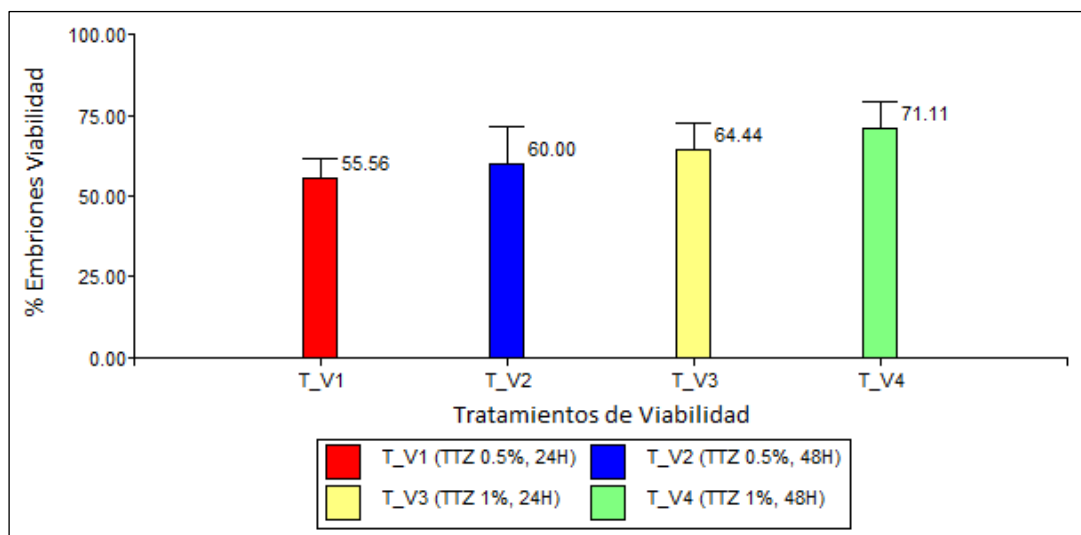
Variable	n	Media	D.E.	W*	Valor p
% Semillas Viabiles	12	62.78	14.06	0.94	0.6533

*Nota:* D.E. es la desviación estándar, W\* es el estadístico de prueba de Shapiro-Wilks.

La diferenciación de los tratamientos se realizó mediante el análisis de varianza ANOVA y Duncan. Estas pruebas determinaron el valor  $p=0.6361$ , el cual es mayor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ), determinando que no hay diferencia significativa en los tratamientos utilizados. Por tal motivo, en la Figura 8 se comparan los porcentajes de viabilidad de cada tratamiento de la especie *O. seemannianus* para determinar las mejores condiciones de concentración de tetrazolio y tiempo de inmersión a emplearse.

**Figura 8**

Porcentajes de viabilidad de los embriones de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal



*Nota:* Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte inferior de la figura.

En esta Figura 8 se muestra que el tratamiento T\_V4 con condiciones de tetrazolio al 1% y tiempo de inmersión por 48H obtuvo un mayor porcentaje en comparación a los demás tratamientos. Por lo cual, el tratamiento T\_V4 fue considerado el mejor para el ensayo de viabilidad, ya que permitió una mayor observación en la tinción de los embriones de las semillas.

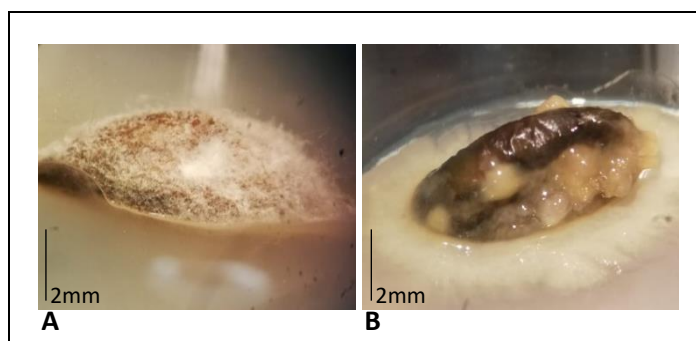
### **Análisis para la Caracterización Germinativa**

#### ***Ensayo de Desinfección de Semillas***

El ensayo de desinfección permitió determinar el tratamiento con menor contaminación y reacción de NaClO en las semillas *O. seemannianus* que debe ser aplicado en el ensayo de germinación. Las semillas contaminadas presentaron agentes patógenos bacterianos (Figura 9 A) y fúngicos (Figura 9 B).

**Figura 9**

*Semillas Oreopanax seemannianus* Marchal contaminadas



*Nota:* Las semillas de *O. seemannianus* contaminadas con agentes (A) fúngicos y (B) bacterianos.

El análisis estadístico para determinar la contaminación de las semillas de *O. seemannianus* fue mediante la prueba de Shapiro – Wilks y Kruskal Wallis. La prueba de Shapiro – Wilks determinó que el valor  $p=0.0008$  fue menor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este valor  $p$  sugiere que los datos tienen una distribución no normal (Tabla 6).

**Tabla 6**

*Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de desinfección de las semillas de Oreopanax seemannianus*  
Marchal

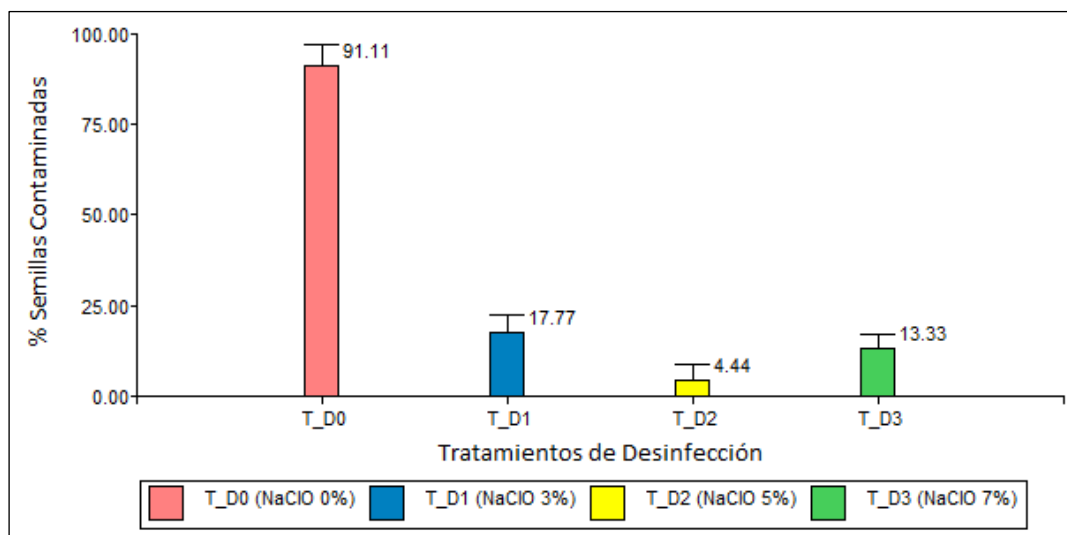
Variable	n	Media	D.E.	W*	Valor p
% Semillas Contaminadas	12	31.67	36.86	0.73	0.0008

*Nota:* D.E. es la desviación estándar, W\* es el estadístico de prueba de Shapiro-Wilks.

La diferenciación de los tratamientos requirió una prueba de Kruskal Wallis. Este análisis determinó un valor  $p=0.0396$ , el cual es menor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este valor además diferencia significativamente los tratamientos empleados, siendo el tratamiento T\_D2 potencial para procesos de desinfección. Adicionalmente, los porcentajes de contaminación de cada tratamiento permitieron corroborar los resultados estadísticos para la especie *O. seemannianus* (Figura 10).

**Figura 10**

Porcentajes de contaminación de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal

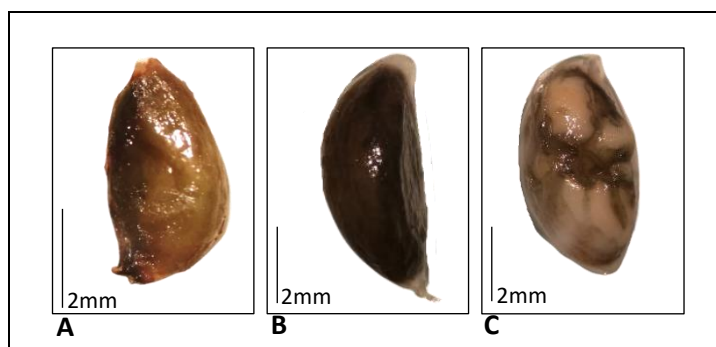


*Nota:* Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte derecha de la figura.

Por tal motivo, el tratamiento T\_D2 con condiciones de NaClO al 5% obtuvo un porcentaje de 4.44% de contaminación por agentes patógenos, el cual es menor en comparación a los demás tratamientos. Adicionalmente, el ensayo de desinfección permitió observar la reacción de las semillas de *O. seemannianus* con las diferentes concentraciones de NaClO en el tiempo de exposición de 5 min. Las reacciones de la desinfección que se observaron fueron oxidación y necrosis (Figura 11).

**Figura 11**

*Semillas de Oreopanax seemannianus Marchal en desinfección con NaClO*



*Nota:* Reacciones del NaClO en las semillas de *O. seemannianus*. (A) semilla normal, (B) semilla con oxidación y (C) semilla con escarificación.

El análisis estadístico para las reacciones de necrosis y oxidación en el ensayo de desinfección de las semillas de *O. seemannianus* fueron mediante la prueba de Shapiro – Wilks y Kruskal Wallis. La prueba de Shapiro – Wilks determinó el valor  $p=0.0114$  para el porcentaje de necrosis y  $p=0.0263$  para el porcentaje de oxidación. Los valores  $p$  obtenidos son menores al nivel de confianza ( $p=0.05$ ), lo que sugiere que los datos siguen una distribución no normal (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de desinfección de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal necrosadas y oxidadas*

Variable	n	Media	D.E.	W*	Valor p
% Semillas Necrosadas	12	20.56	23.35	0.80	0.0114
% Semillas Oxidadas	12	5.56	7.43	0.72	0.0008

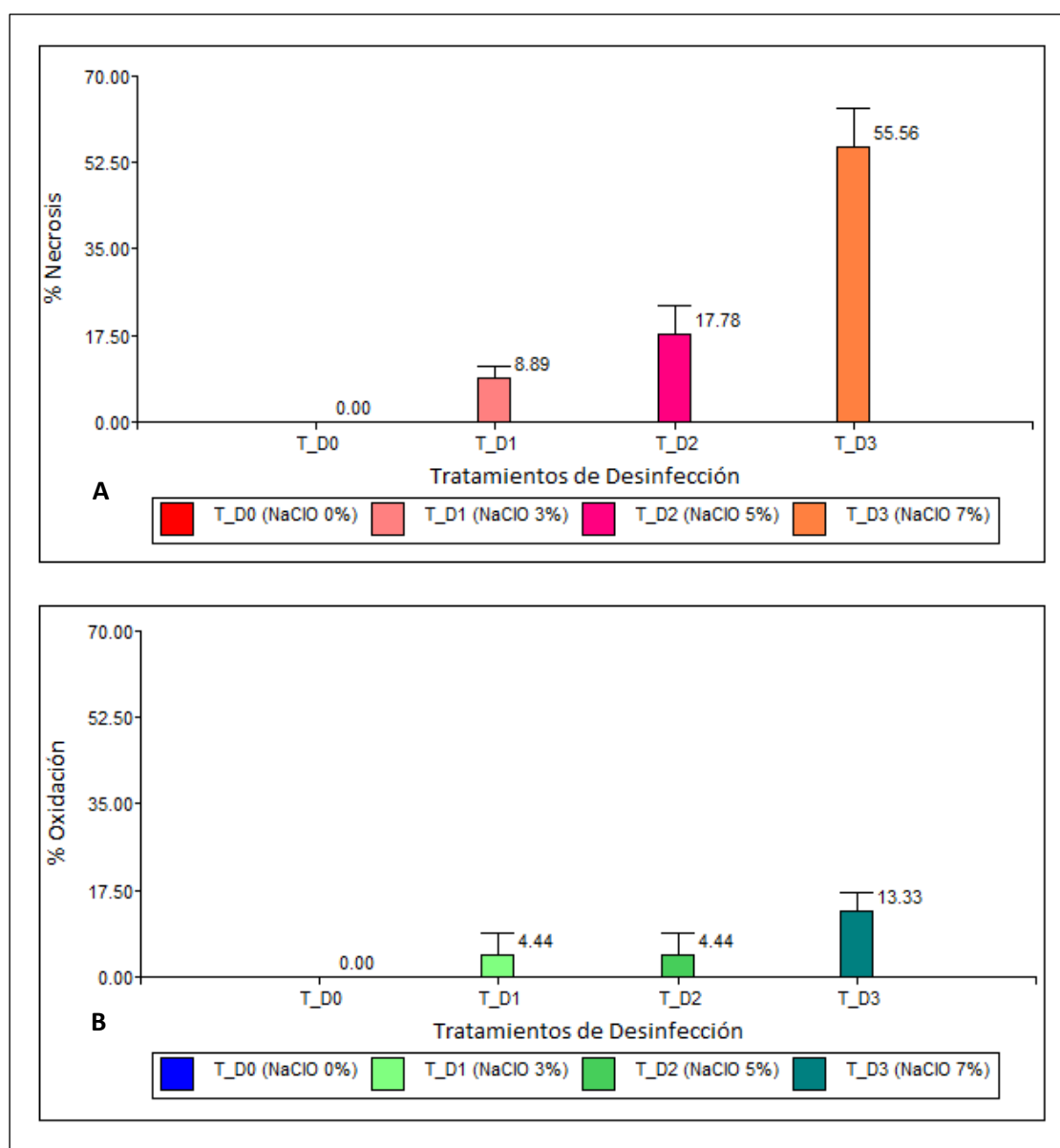
*Nota:* D.E. es la desviación estándar, W\* es el estadístico de prueba de Shapiro-Wilks.

El análisis de Kruskal Wallis se realizó para diferenciar los tratamientos. Esta prueba obtuvo un valor  $p=0.0190$  para el porcentaje de semillas necrosadas y  $p=0.1358$  para semillas oxidadas, los cuales son menores al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este análisis determinó que los datos obtenidos son significativos y los tratamientos T\_D1 y T\_D2 son potenciales para este ensayo. Por ello, en la

figura 12 se observa los porcentajes de necrosis (Figura 12 A) y de oxidación (Figura 12 B) de cada tratamiento, lo cual permite determinar el mejor tratamiento de desinfección para la especie *O. seemannianus*.

### Figura 12

Porcentajes de necrosis y oxidación de las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal en el ensayo de desinfección



Nota: A) porcentajes de necrosis y B) porcentajes de oxidación. Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte inferior de la figura.

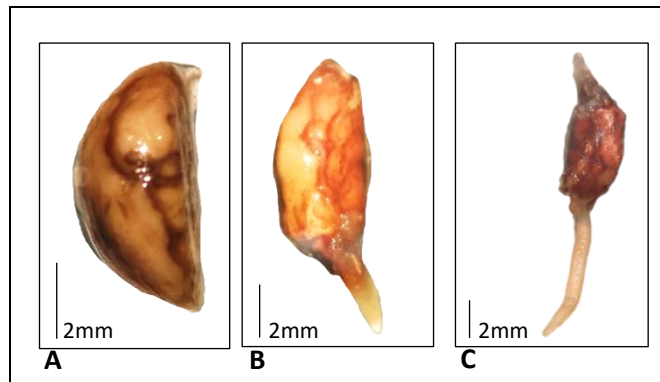
El tratamiento T\_D2 con condiciones de NaClO al 5% es considerado el mejor tratamiento de desinfección, ya que obtuvo un porcentaje de contaminación y oxidación del 4.44%, siendo menor al resto. Mientras que el porcentaje de necrosis fue 17.78%, siendo intermedio al resto. Por tal motivo, para el ensayo de germinación se consideró disminuir el tiempo de exposición de las semillas en NaClO 5% y así evitar reacciones de oxidación y necrosis en las semillas.

### **Ensayo de Germinación de Semillas**

El ensayo de germinación *in vitro* permitió determinar el tratamiento con mejor porcentaje de capacidad germinativa de las semillas de *Oreopanax seemannianus*. Las variables utilizadas en los tratamientos fueron concentración de ácido giberélico (GA3) y temperatura. Las semillas se consideraron germinadas a partir del desarrollo de 0.5mm de la radícula, como se puede observar en la Figura 13.

### **Figura 13**

Semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal germinadas



*Nota:* Semillas de *O. seemannianus*. (A) sin desarrollo de radícula, (B) con desarrollo de radícula.

El análisis estadístico para el ensayo de germinación *in vitro* de semillas de *O. seemannianus* con condiciones de 0, 0.5 y 1 mg/L de GA3 a temperatura de 25°C y 4°C fue mediante la prueba de Shapiro – Wilks, ANOVA y Duncan. La prueba de Shapiro – Wilks determinó el valor  $p=0.0810$ , siendo mayor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este valor sugiere que los resultados siguen una distribución normal (Tabla 8).

**Tabla 8**

*Prueba de Shapiro-Wilks en el ensayo de germinación in vitro de la especie de Oreopanax seemannianus Marchal*

Variable	n	Media	D.E.	W*	Valor p
% Capacidad Germinativa	18	18.89	15.68	0.89	0.0810

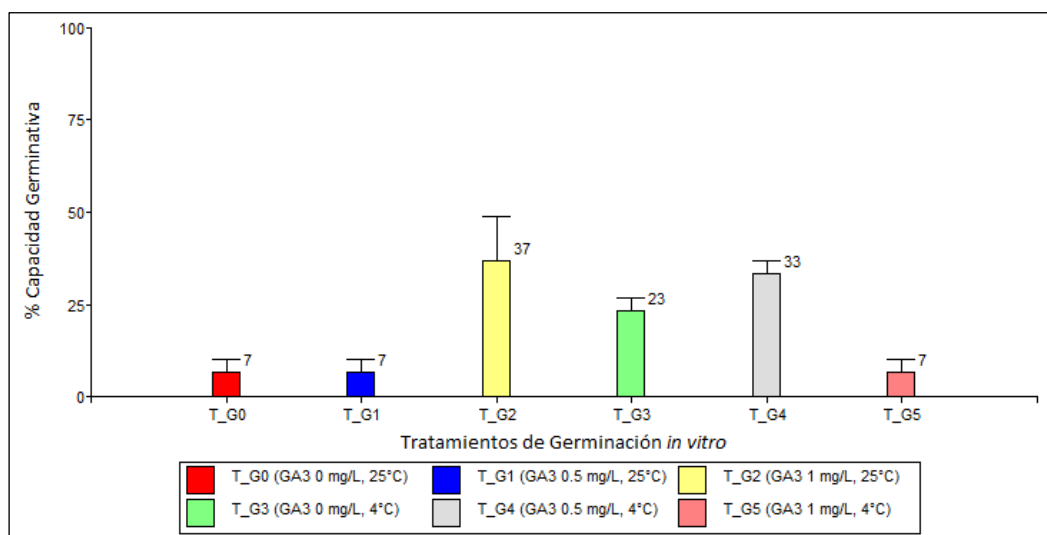
*Nota:* D.E. es la desviación estándar, W\* es el estadístico de prueba de Shapiro-Wilks.

El análisis ANOVA y Duncan permitió diferenciar significativamente los tratamientos empleados. Este análisis tuvo un valor  $p=0.0054$ , el cual es menor al nivel de confianza ( $p=0.05$ ). Este análisis determinó que los tratamientos T\_G2 y T\_G4 muestran diferencias significativas.

Adicionalmente, los porcentajes de capacidad germinativa de cada tratamiento (Figura 14) permitieron corroborar el mejor tratamiento de germinación *in vitro* para la especie *O. seemannianus*.

**Figura 14**

*Porcentajes de capacidad germinativa de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota:* Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte inferior de la figura.

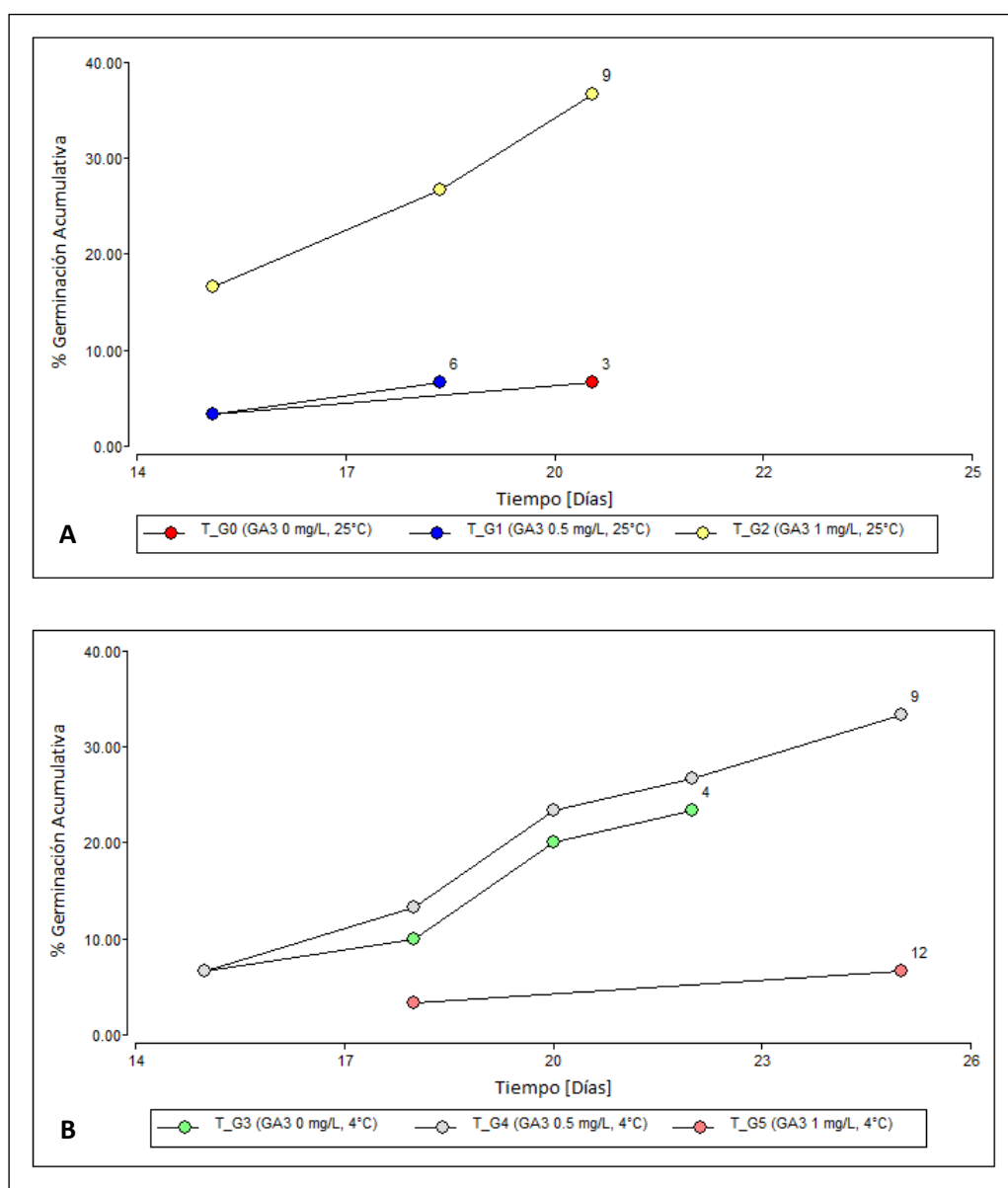


En la figura 14 se muestra que el tratamiento T\_G2 con condiciones de 1mg/L de GA3 a 25°C obtuvo un mayor porcentaje en comparación a los demás tratamientos. Por lo cual, el tratamiento T\_G2 fue considerado el mejor en dichas condiciones.

Adicionalmente, el ensayo de germinación *in vitro* permitió analizar la acumulación germinativa. Este factor permite determinar el crecimiento porcentual de germinación en un periodo de tiempo de 2 días hasta la culminación del análisis. Los tratamientos con condiciones de 0, 0.5 y 1 mg/L a 25°C (Figura 15 A) y 4°C (Figura 15 B) obtuvieron una acumulación germinativa durante 25 días de incubación como se observa en la Figura 15.

Figura 15

Germinación Acumulativa de las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal



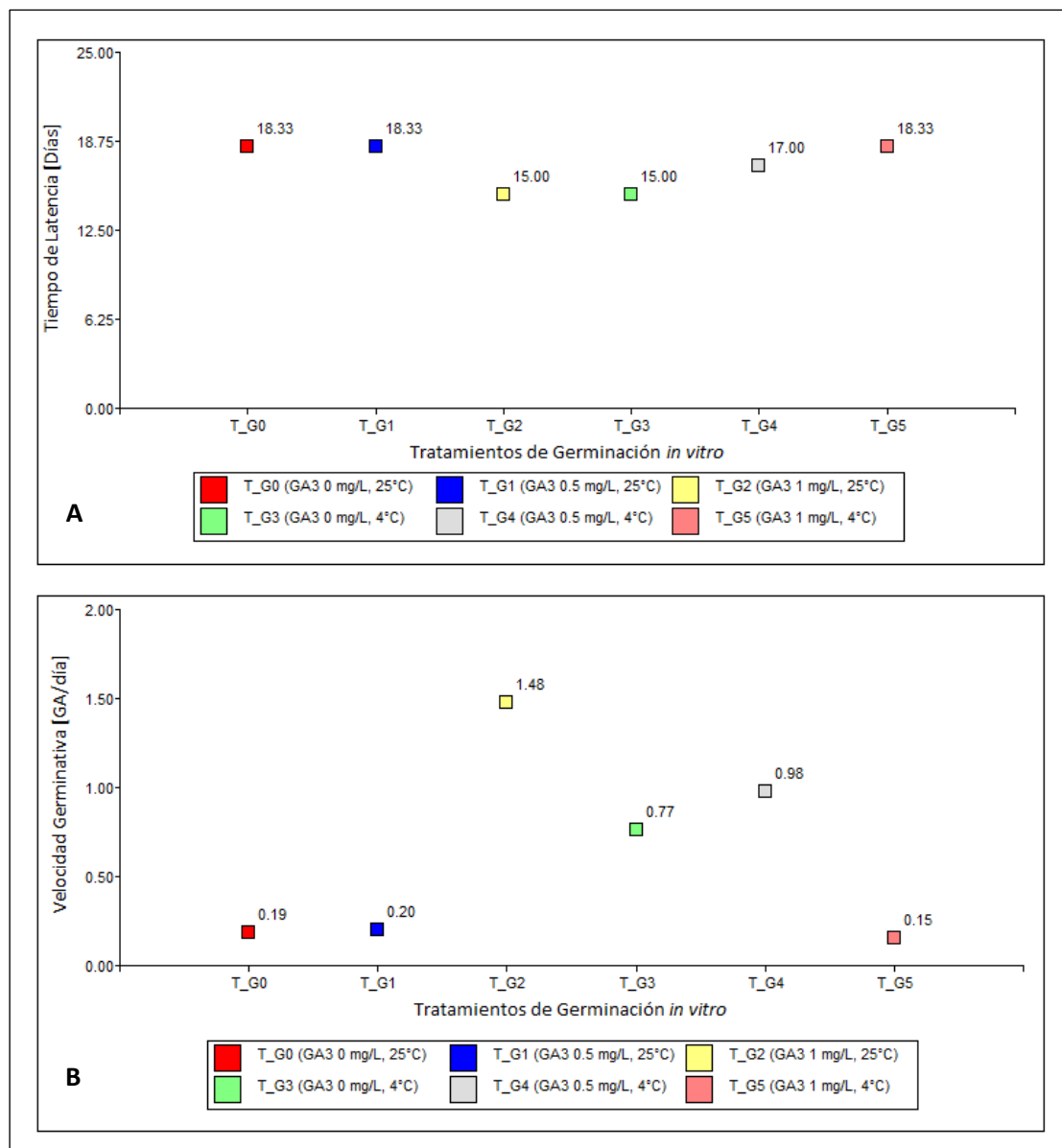
*Nota:* Germinación acumulativa a temperatura (A) 25°C y (B) 4°C. Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte inferior de la figura.

La germinación acumulativa en los tratamientos empleados con temperatura de 25°C (Figura 15 A) y 4°C (Figura 15 B) fue a partir de los 15 días. Sin embargo, los tratamientos T\_G2, T\_G3 y T\_G4 presentaron mejores porcentajes de germinación hasta los 20, 22 y 25 días respectivamente, lo que no sucedió con los tratamientos T\_G0, T\_G1 y T\_G5. Estos resultados se corroboran con el alto porcentaje de capacidad germinativa de los tratamientos T\_G2, T\_G3 y T\_G4.

Por otro lado, el porcentaje de germinación acumulativa y el tiempo de latencia permitieron determinar la velocidad germinativa en los diferentes tratamientos utilizados a temperaturas de 25°C y 4°C, como se puede observar en la figura 16.

**Figura 16**

*Tiempo de latencia y Velocidad Germinativa de las semillas de Oreopanax seemannianus Marchal*



*Nota:* (A) tiempo de latencia y (B) velocidad germinativa. Las condiciones empleadas para cada tratamiento se encuentran en el recuadro de la parte inferior de la figura. GA\* es la germinación acumulativa.

En la figura 16 se observa que la velocidad germinativa del tratamiento T\_G2 y T\_G4 fueron más altas en comparación a los demás tratamientos. Esto se debe a que el tratamiento T\_G2 tuvo un tiempo de latencia menor al resto. Por otro lado, el tratamiento T\_G4, presentó un tiempo de latencia y velocidad mayor. Esto sugiere que este tratamiento desarrolló mayor germinación después de los 15 días. Sin embargo, el tratamiento T\_G2 con condiciones de 1 mg/L de GA3 a 25°C es óptimas para el ensayo de germinación *in vitro*, ya que obtuvo altos porcentaje de capacidad, acumulación y velocidad germinativa con menor tiempo de latencia.

Finalmente se puede concluir que el análisis de los parámetros morfológicos y germinativos permite determinar si la especie *Oreopanax seemannianus* Marchal es una especie potencial para generar plántulas, ser conservadas en el banco de semillas HANS-BANK y ser utilizadas en procesos de restauración forestal en bosques andinos del Ecuador.

## Capítulo V: Discusión

Los bosques andinos son ecosistemas que poseen condiciones ecológicas óptimas para el crecimiento y desarrollo de la diversidad y endemismo tanto de flora como fauna de la zona. Además, esta región permite captar y suministrar recursos hídricos a poblaciones aledañas (Bussmann, 2005; Chuncho & Chuncho, 2019). Sin embargo, las actividades antrópicas se han incrementado en los bosques andinos. Esto se debe a que la extensión de la agricultura y la urbanización humana se han expandido a altitudes más altas, ocasionando desbalances en los ecosistemas y pérdidas de especies endémicas y nativas en los bosques andinos (Camacho, 2013; Palomeque et al., 2020).

La implementación de áreas protegidas y el desarrollo de programas de restauración han permitido tratar esta problemática, siendo la reforestación una de ellas. Además, esta última técnica genera conocimiento de especies nativas que pertenecen a los bosques andinos como es el caso de la especie *Oreopanax seemannianus* (Beltrán et al., 2009; Palomeque et al., 2020). La utilización de esta especie en reforestación se debe a su capacidad de recuperar suelos mediante la incrementación de los procesos de filtración del agua (Bermeo, 2015; Pozo, 2010). Sin embargo, *O. seemannianus* también se emplea para el diseño de artesanías, construcción de viviendas e incluso como leña. Estas actividades han conllevado a que la especie se encuentre distribuida de manera muy restringida en los bosques andinos y, por lo tanto, dificulte los procesos de restauración con esta especie (Morocho, 2016; Palomeque et al., 2020).

Por ello, la realización de bancos de semillas es necesario para salvaguardar la diversidad genética de las plantas. Es así, la recolección de las semillas debe ser de alta calidad, ya que su latencia natural y tolerancia a desecación permitirán su almacenamiento sin que su viabilidad se vea afectada (P. Bacca et al., 2022; di Sacco et al., 2020). Además, el conocimiento morfológico, germinativo y ecológico interviene en la selección de especies vegetales a ser conservadas (Hidalgo, 1991; Palomeque et al., 2020). Por tal motivo, la recolección y el posterior análisis de las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal permitió realizar bases de datos, como fichas técnicas, para

registrar información útil que se podrá implementar en el banco de semillas HANS BANK y estudios posteriores.

La recolección realizada de las semillas de *O. seemannianus* en la laguna de Mojanda permitió conocer la distribución regional, altitudinal y forma de vida. La presencia de esta especie arbórea se evidenció en bosques montano superior mayormente en la provincia de Imbabura en el rango altitudinal de 3.769 m s.n.m. Esto lo corrobora Borchsenius (1997), ya que *O. seemannianus* es considerada dominante en remanentes de bosque montano superior, una de las clasificaciones pertenecientes a los bosques andinos. Además, Cabrera y Fuentes (2009), en su trabajo mencionan que la distribución regional es mayormente en zonas templadas y tropicales como bosques nublados y montanos húmedos con rango altitudinal de 1.400 – 4.000 m s.n.m. La ubicación geográfica es importante para el estudio de esta especie, pero es necesario realizar análisis de caracterización morfológica y de germinación de las semillas, para determinar su potencial en el almacenamiento en bancos de semillas, así como protocolos que permitan su conservación *ex situ*.

### **Caracterización Morfológica**

Los rasgos morfológicos estudiados en el presente trabajo fueron el número de semillas por fruto, el peso, la dimensión y el contenido de humedad de 100 semillas. Estos parámetros permiten conocer las estrategias evolutivas en los ecosistemas. Así como, la relación entre el tipo de fruto y semilla con el comportamiento de almacenamiento *ex situ* (Romero, 2016).

Según Romero y Pérez (2016) las especies con producción de muchos aquenios (bayas) y producen alrededor de 50 semillas tienden a presentar comportamiento ortodoxo. Este mecanismo se debe para mantener su viabilidad en procesos de conservación por largo plazo de tiempo (Romero & Pérez, 2016). En el estudio de los frutos y semillas la especie de *Oreopanax seemannianus* se evidenció la producción de alrededor de 200 bayas por racimo. Sin embargo, el promedio del número de semillas por fruto fue de 3.63. Este resultado sugeriría que esta especie tiende a un comportamiento no ortodoxo denominado recalcitrante.

De igual manera, según Romero y Pérez (2016) mencionan que el tamaño, el peso y el contenido de humedad de las semillas mantienen una estrecha relación con la tolerancia a la desecación y germinación mediante el tipo de semilla. En el caso del tamaño, las dimensiones mayores a 17 x 13 mm de largo y ancho es considerada recalcitrante (Romero & Pérez, 2016). Sin embargo, en el estudio realizado en las semillas de *O. seemannianus* el tamaño promedio (largo, ancho y grosor) fue menor a lo descrito anteriormente, siendo 5.1, 2.4, 1.5 mm respectivamente.

Por otro lado, el peso en las semillas menor a 1 gramo, Romero y Pérez (2016) añaden que pueden tolerar procesos de deshidratación sin perjudicar la viabilidad de la misma. Esto no sucede con las semillas de la especie *O. seemannianus* analizadas, ya que presentó un peso promedio mayor, siendo 1.45 g. Esto se debe a que las semillas tienen un alto contenido de humedad, alcanzando un promedio de 62.27%. Patiño y colaboradores (2019), al igual que Serrada (2000) corroboran que las semillas con alto contenido de humedad entre 40% - 90% son propensas a ser recalcitrantes y para procesos de almacenamiento deben mantener porcentajes entre 25% - 80% de humedad. Las semillas de *O. seemannianus* se ajustan a dicho rango de contenido de humedad, sugiriendo así ser recalcitrantes. Sin embargo, este tipo de semillas no toleran temperaturas extremadamente bajas, debido que son susceptibles a contaminación patógena. Por ello es recomendable realizar procesos de pre-almacenamiento fúngicos y conservar ya sea en cultivos *in vitro* o criopreservación (di Sacco et al., 2020; Magnitskiy & Plaza, 2007).

Adicionalmente, las semillas de *O. seemannianus* fueron analizadas mediante la forma de la semilla, forma y tipo de embrión, al igual que distribución del endospermo. Estos parámetros permitieron en el presente trabajo conocer la interacción de las semillas con el ecosistema, ya sea para la supervivencia y el desarrollo.

Las semillas de *O. seemannianus* presentan formas de medialunas con abundante endospermo y embrión basal rudimentario (Figura 6). Esto se debe a que el género *Oreopanax* se desarrolla frecuente en áreas frías y húmedas, por lo que su distribución interna en las semillas se ajusta a dichas condiciones para la supervivencia y desarrollo (Mocha, 2020; Morales et al., 2011).

Por otro lado, los embriones tipo basal rudimentario son característicos en latencia morfológica, donde el desarrollo del embrión es incompleto en las etapas de maduración (Bremer et al., 2003). Esto produce una ventaja en el crecimiento del embrión en temperaturas altas. Sin embargo, esta respuesta puede verse afectada ya que en embriones rudimentarios a dichas temperaturas se activan inhibidores germinativos presentes en el endospermo (Varela & Arana, 2011). Con lo antes mencionado, esto suscitaría que la germinación de las semillas de *O. seemannianus* podría verse afectada a temperaturas altas. Por ello, los análisis de viabilidad y germinación *in vitro* fueron indispensables para corroborar la influencia de este factor en dichas semillas.

El análisis de la viabilidad en semillas es importante tanto para proyectos de restauración como en procesos germinativos (Orantes et al., 2013). Según Cruz y Stevenson (2017) en estudios realizados de las semillas del género de *Oreopanax* muestran resultados del 55% de viabilidad a condiciones de Tetrazolio al 0.5% en 30°C por 24 horas. Por lo contrario, en el presente estudio, las semillas de *O. seemannianus* se observó mayor tinción a condiciones de 1% de Tetrazolio a 30°C por 48 horas, teniendo viabilidad del 71.11% (Figura 8). Esta variación de porcentaje de viabilidad según Orantes y colaboradores (2013) se debe a influencia de características genéticas de la planta originaria y factores bióticos, abióticos. Sin embargo, estas semillas al ser recalcitrantes pueden llegar a perder su viabilidad y su capacidad germinativa se vería afectada (Varela & Arana, 2011). Para corroborar con lo antes mencionado fue necesario conocer los parámetros germinativos *in vitro* de las semillas de *Oreopanax seemannianus*.

### **Caracterización Germinativa**

Las pruebas de germinación *in vitro* permiten obtener un mayor número de plantas con variabilidad genética. Por ello, estos ensayos son importantes en proyectos de conservación de especies. La manipulación de las condiciones de temperatura, luz y promotores químicos favorecen al desarrollo y el crecimiento de la planta (Castillo, 2014; di Sacco et al., 2018). Sin embargo, los protocolos de germinación *in vitro* no han sido establecidos para las semillas de la especie de



*Oreopanax seemannianus*. Por ello, la estandarización y el análisis de desinfección y germinación se obtuvo a partir del género *Oreopanax*.

La desinfección de las semillas es un aspecto importante para la germinación *in vitro*. Las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio (NaClO) permite establecer explantes vegetales. Esto se debe a que favorece a la eliminación de microorganismos presentes en las muestras sin dañar la viabilidad de este en procesos de germinación (Cárdenas et al., 2019). En los estudios realizados por Nicholls (2018) en semillas del género *Oreopanax*, la baja concentración de hipoclorito de sodio al 2.5% aumentó la contaminación a un 79%. En el análisis de desinfección en las semillas de *O. seemannianus* fue optima, ya que el incremento de la concentración de NaClO al 5% por 5 min obtuvo menor contaminación, siendo el porcentaje del 4.44%. Sin embargo, las reacciones de oxidación y necrosis fueron del 4.44% y 17.78% respectivamente (Figura 10 y 12).

Según Cárdenas y colaboradores (2019), la relación entre la concentración y el tiempo de inmersión determina la eliminación bacteriana, pero la morfología de las semillas influye en el éxito del tratamiento. Las cubiertas de las semillas del género *Oreopanax* según Nicholls (2018) acumulan fenoles. Esto produce una desventaja germinativa, ya que sirven de filtro e impiden que el oxígeno no esté al alcance del embrión. Por ello, la presencia de fenoles ocasiona oxidación y oscurecimiento en los tejidos al liberar quinonas, que generan daño e incluso muerte celular (Azofeifa, 2009). Esto justificaría el porcentaje de oxidación y necrosis en las semillas de *O. seemannianus* analizadas. Sin embargo, el bajo porcentaje de contaminación y oxidación en las semillas sugirió disminuir el tiempo de inmersión en NaClO para evitar necrosis en la estandarización y los ensayos de germinación *in vitro*. Esto lo sustenta Sánchez y Salaverría (2004) las altas concentraciones y los periodos de tiempo más prolongado de NaClO pueden llegar a causar necrosis en el tejido, con lo que favorece a la contaminación del explante.

Por otro lado, el parámetro de temperatura también es utilizado en procesos de germinación *in vitro*. Este permite simular las condiciones ambientales del lugar original de las especies analizadas (Nicholls, 2018). En el caso de los bosques andinos, las temperaturas anuales

promedio están entre 15 – 17°C y 9 – 11°C (Bussmann, 2005). Sin embargo, en las semillas de la especie *Oreopanax seemannianus* analizadas presentó mayor capacidad germinativa a temperaturas de 25°C, seguido de 4°C (Figura 14). Con lo antes mencionado sugiere que las especies se adaptan a condiciones extremas del microclima. Esto se debe a que la temperatura interviene en la distribución y productividad de las plantas, ya que influye en la adquisición de nutrientes y en la actividad enzimática en la regulación la velocidad de las reacciones bioquímicas en las semillas (Correa & Vargas, 2019; Nicholls, 2018).

Las semillas poseen impedimentos para su germinación, debido al índice de latencia. En germinación *in vitro* se emplea hormonas de crecimiento como giberelinas para interrumpir dicho proceso (Varela & Arana, 2011). En el estudio de Nicholls (2018) la aplicación de ácido giberélico (GA3) en semillas del género *Oreopanax* se obtuvo un mayor porcentaje de capacidad germinativa (CG) a concentraciones de 1 mg/L a 4°C. Sin embargo, la germinación *in vitro* de las semillas de *O. seemannianus* analizadas tuvo mayor porcentaje de CG del 37% a condiciones de 1 mg/L de GA3 a 25°C (Figura 14). Estos resultados reflejaron que a dichas condiciones las semillas presentan una alta velocidad germinativa (VG) con menor tiempo de ruptura de latencia (Figura 16). Por lo contrario, las condiciones de 0.5 mg/L de GA3 a 4°C realizadas presentaron menor CG, debido a mayor tiempo de ruptura. El ácido giberélico funciona como inductor en la acción enzimática y apoya al crecimiento del embrión debilitando el endospermo. Sin embargo, la capacidad germinativa puede variar entre especies del mismo género y condiciones ambientales (Abril et al., 2017; Nicholls, 2018).

A pesar de que esta especie tenga una semilla tipo recalcitrante y no tolere procesos de deshidratación debido al alto contenido de humedad, estos resultados germinativos son óptimos. La viabilidad de las semillas de *O. seemannianus* demuestran que no disminuyen de manera rápida y la temperatura no afecta en el proceso germinativo. Por tal motivo, en base a lo expuesto anteriormente, el estudio morfológico y germinativo realizado considera que la especie de *Oreopanax seemannianus* es apta para los procesos de restauración como en bancos de semillas andinas, cultivos *in vitro* e incluso criopreservación.

## Capítulo VI: Conclusiones

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar los parámetros morfológicos y germinativos de las semillas de *Oreopanax seemannianus* en los bosques andinos del Ecuador. Por ello, los ensayos de caracterización morfológica, viabilidad, desinfección y germinación permitieron concluir que:

- La recolección aleatoria de frutos y semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal permitió crear bases de datos del sitio de recolección, la morfología, la viabilidad y la germinación *in vitro* para fichas de accesión en el banco de semillas HANS BANK.
- *Oreopanax seemannianus* Marchal presentó el promedio de número de semillas por fruto de 3.63, tamaño (largo, ancho y grosor) promedio de semillas de 5.1, 2.4 y 1.5 mm, peso y contenido de humedad promedio de 1.45 g y 62.27% respectivamente. Estos resultados proponen que la especie posee semillas recalcitrantes.
- *Oreopanax seemannianus* Marchal presentó semillas en forma de medialuna con abundante endospermo y embrión basal rudimentario. Estos resultados sugieren que esta especie tiene semillas con latencia morfológica.
- El tratamiento con mejor tinción y mayor porcentaje de viabilidad para los embriones de las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marcha fue T\_V4 a condiciones de 1% de Tetrazolio a 30°C por 48 horas de inmersión.
- El tratamiento con menor porcentaje de contaminación de agentes patógenos y reacción de oxidación, necrosis en las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal fue a concentración del 5% de hipoclorito de sodio (NaClO).

- El tratamiento con mayor porcentaje de capacidad, acumulación y velocidad germinativa y menor tiempo de ruptura de latencia en las semillas de *Oreopanax seemannianus* Marchal fue a condiciones de 1 mg/L de ácido giberélico (GA3) a temperatura de 25°C.
- Los parámetros morfológicos y los tratamientos aplicados en la germinación *in vitro* permitieron incrementar la capacidad germinativa de las semillas de *Oreopanax seemannianus* y sugiere la conservación en el banco de semillas HANS BANK.

## Capítulo VII: Recomendaciones

- En la recolección de los frutos de *Oreopanax seemannianus* se recomienda realizar en los meses de noviembre – octubre, ya que es temporada de fructificación. Además, se debe utilizar fundas de papel, ya que los frutos presentan alto contenido de humedad el cual podría perjudicar en el mantenimiento de este.
- En el ensayo del contenido de humedad para las semillas de *Oreopanax seemannianus* se recomienda utilizar material reciente o ser almacenados como máximo 2 días según bibliografía.
- En la extracción de las semillas de *Oreopanax seemannianus* se recomienda utilizar frutos maduros, ya que las semillas se encuentran en óptimas condiciones para realizar procesos de morfología, viabilidad, desinfección y germinación.
- En la germinación *in vitro* de las semillas de *Oreopanax seemannianus* se recomienda analizar la viabilidad de las semillas que no germinaron para determinar si hubo un cambio en este parámetro.

## Bibliografía

- Abril, R. V., Ruiz, T. E., Lazo, J., & Cabrera, G. M. (2017). Germinación, diámetro de semilla y tratamientos pregerminativos en especies con diferentes finalidades de uso. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3), 703. <https://doi.org/10.15517/MA.V28I3.26205>
- Alezones, B., Casanova, A., & Lauretin, H. (2014). Caracterización morfológica y molecular de poblaciones segregadas de girasol provenientes de híbrido comerciales. *Agronomía Trop*, 64(1–2), 83–95.
- Azofeifa, Á. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 153–175. [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v20n01\\_153.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v20n01_153.pdf)
- Bacca, P., Burbano, D., Córdoba, S., López, D., & Muñoz, D. (2022). Rasgos morfológicos de especies nativas potenciales para procesos agroecológicos Alto Andinos, Nariño, Colombia. *High Andean Research*, 24(2), 101–110. <https://doi.org/https://doi.org/10.18271/ria.2022.387>
- Bacca, P. P., Burbano, D. L., & Moreno, A. S. (2020). Evaluation of pre-germination treatments on four native species of the High Andean Forest. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 37(1), 80–89. <https://doi.org/10.22267/rcia.203701.130>
- Beltrán, K., Salgado, S., Cuesta, F., Yáñez, S., Romoleroux, K., Ortiz, E., Cárdenas, A., & Velástegui, A. (2009). Distribución espacial, sistemas ecológicos y caracterización florística de los páramos en el Ecuador. In *EcoCiencia, Proyecto Páramo Andino y Herbario QCA*. Quito. (EcoCiencia).
- Bermeo, C. (2015). *Evaluación de tres tratamientos pre germinativos con cuatro tipos de sustratos y dos bioestimulantes en la etapa de germinación y desarrollo de la especie nativa Pumamaqui (Oreopanax ecuadorense) en el vivero forestal Bilesario Quevedo, sector Illuchi, provincia de Cotopaxi*. Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Borchsenius, F. (1997). *Oreopanax* (Araliaceae) in Ecuador. *Nordic Journal of Botany*, 17(4), 373–396. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1997.tb00334.x>
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M. W., Reveal, J. L., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Stevens, P. F., Anderberg, A. A., Fay, M. F., Goldblatt, P., Judd, W. S., Källersjö, M., Kårehed, J., Kron, K. A., Lundberg, J.,

- Nickrent, D. L., Olmstead, R. G., Oxelman, B., Pires, J. C., ... Zmarzty, S. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141(4), 399–436. <https://doi.org/10.1046/J.1095-8339.2003.T01-1-00158.X/ABS/>
- Bussmann, R. W. (2005). Bosques andinos del sur de Ecuador, clasificación, regeneración y uso. *Revista Peruana de Biología*, 12(2), 203–216.  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332005000200006&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332005000200006&lng=es)
- Cabrera, W. H., & Fuentes, A. F. (2009). Aspectos sobre diversidad y ecología de la familia Araliaceae en la región del Madidi Diversity and ecology of the family Araliaceae in the Madidi region. *Revista de La Sociedad Boliviana de Botánica*, 4(2), 265–277. [www.tropicos.org/](http://www.tropicos.org/)
- Camacho, M. (2013). *Los páramos ecuatorianos: Caracterización y consideraciones para su conservación y aprovechamiento sostenible*.
- Cárdenas, C. A., Araque, J., Bohorquez, M., Hernández, Y., & Pacheco, J. (2019). Propagación *in vitro* de *Bucquetia glutinosa*, especie endémica de los Paramos colombianos. *Rodriguésia*, 70.  
<https://doi.org/10.1590/2175-7860201970057>
- Castillo, A. (2014). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*.  
<http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf>
- Chuncho, C., & Chuncho, G. (2019). Páramos del Ecuador, importancia y afectaciones: Una revisión. *Bosques Latitud Cero*, 9(2), 71–83.
- Correa, L., & Vargas, A. (2019). *Relación entre fenología y temperatura de especies nativas forestales y su respuesta en la floración en los bosques del Parque Nacional Cajas, provincia del Azuay* [Trabajo de titulación]. Universidad de Cuenca.
- Cruz, D., & Stevenson, P. (2017). *¿Adelantan las semillas su desarrollo con respecto a la maduración del fruto?* [Trabajo de titulación de pregrado]. Universidad de los Andes.

- Damascos, M. (1997). Caracteres morfológicos de las plantas del bosque y su relación con la alteración del ambiente Morphological traits of forest plants and their relation with environmental disturbance. *BOSQUE*, 18(2), 109–114. <https://doi.org/10.4206/bosque.1997.v18n2-12>
- di Sacco, A., Way, M. J., Suárez, C. I., & León, P. (2018). Manual de recolección, procesamiento y almacenamiento de semillas de plantas silvestres. *Royal Botanic Gardens Kew*, 1(2). <http://brahmsonline.kew.org/msbp/Training/Resources>
- di Sacco, A., Way, M., León, P., Suárez, C., & Díaz, J. (2020). Manual de recolección, procesamiento y conservación de semillas de plantas silvestres. In *Royal Botanic Gardens, Kew e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt*. <https://doi.org/10.34885/175>
- Fajardo, F. (2008). *Línea de restauración ecológica*.
- González, L., & Orozco, A. (1996). Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Botanical Sciences*, 58, 15–30. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1484>
- Hidalgo, R. (1991). *Conservación ex situ*. En: *Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales* (R. Castillo, J. Estrella y C. Tapia, eds.). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Ecuador.
- Hofstede, R., Calles, J., López, V., Polanco, R., Torres, F., Ulloa, J., Vásquez, A., & Cerra, M. (2014). *Los Páramos Andinos ¿Qué Sabemos?* (UIC). [www.uicn.org/sur](http://www.uicn.org/sur)
- Isch, E. (2012). *El cambio climático y la gestión de páramos*. [www.camaren.org](http://www.camaren.org)
- ISTA. (2016). International Rules for Seed Testing. In *International Rules for Seed Testing* (Vol. 2016, Issue 1). International Seed Testing Association. <https://doi.org/10.15258/istarules.2016.f>
- Magnitskiy, S. v, & Plaza, G. A. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales Physiology of recalcitrant seeds of tropical trees. *Agron. Colomb*, 25(1).
- Martin, A. C. (1946). The American Midland Naturalist the Comparative Internal Morphology of Seeds1. In *Source: American Midland Naturalist* (Vol. 36, Issue 3).



- Martinez, A. L., Lucumi, R. E., & Torres, A. M. (2020). Germinación de semillas y establecimiento de plántulas de *Schefflera morototoni* (Araliaceae) y *Geonoma interrupta* (Arecaceae). *Revista de Ciencias*, 23(2). <https://doi.org/10.25100/rc.v23i2.8613>
- MECN - INB. (2015). *Plantas de los Páramos del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador*.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2015). *Quinto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica*.
- Mocha, J. (2020). *Banco de semillas del suelo en el bosque montano en el parque Universitario "Francisco Vivar Castro", Loja, Ecuador* [Tesis de Grado]. Universidad Nacional de Loja.
- Morales, M. E., Gil, P., Díaz, C., Torres, L., Alvarado, V., Hernández, A., Arias, S., Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, & Corpobocayá. (2011). *Guía ilustrada de propagación de especies silvestres del Parque Natural Municipal Ranchería y su área de influencia Paipa-Boyacá (Colombia)*. UPTC.
- Moreta, M., Castillo, L., & Benalcázar, W. (2018). *11 provincias del Ecuador se integran a favor del páramo - El Comercio*. El Comercio, Actualidad, Ecuador. .  
<https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/ecuador-provincias-agua-paramo-humedales.html>
- Morocho, D. (2016). *Producción en vivero de tres especies forestales acacia, aliso y pumamaqui, mediante aplicación de diferentes sustratos en la parroquia la Esperanza del cantón Pedro Moncayo*.
- Nicholls, M. (2018). *Efectos de luz, temperatura, salinidad y GA3 en la germinación de semillas de Pumamaqui (Oreopanax spp)*. Universidad San Francisco de Quito.
- Nieto, C., Vimos, C., Monteros, C., Caicedo, C., & Rivera, M. (1992). *INIAP - Ingapirca e INIAP - Tunkahuan dos variedades de quinua de bajo contenido de saponinas* (Vol. 228).
- Ojada, C. (2010). *Caracterización del perfil de sensibilidad de un panel de líneas celulares tumorales humanas, para la valoración citotóxica in vitro de extractos vegetales y metabolitos*

*secundarios, mediante el ensayo de tinción con violeta cristal.* Universidad Técnica Particular de Loja.

- Orantes, C., Pérez, M., Rioja, T., & Garrido, E. (2013). Viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas nativas de la selva tropical, Chiapas, México. *Polibotánica*, 36, 117–127.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62127866008>
- Palomeque, X., Günter, S., Hildebrandt, P., Stimm, B., Aguirre, N., & Weber, M. (2020). Reforestación con especies nativas y exóticas: como del valle de San Francisco, Zamora Chinchipe. In *De la parcela al paisaje: restauración forestal en los Andes ecuatorianos* (pp. 16–26).
- Patiño, C., Jiménez, J., Marín, F., & Palomeque, X. (2019). Respuesta de semillas de tres especies nativas altoandinas a diferentes condiciones de almacenamiento. *MASKANA*, 10(2), 64–75.  
<https://doi.org/10.18537/mskn.10.02.07>
- Pérez, F., & Pita, J. (2016). *Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas* (Hojas Divulgadoras). Universidad Politécnica de Madrid. <https://www.coiaclc.es/wp-content/uploads/2016/05/Viabilidad.pdf>
- Pozo, D. (2010). *Estudio de las áreas potenciales para la reforestación en la hacienda el prado IASA I Sangolquí.* Escuela Politecnica del ejército.
- Qibai, X., & Lowry, P. P. (2007). ARALIACEAE. In: *Flora of China*, 13, 435–491.
- Rodríguez, F., Galarraga, R., Salazar, R., Narváez, N., & Ananganó, P. (2018). Beneficios económicos de la conservación de las áreas protegidas andinas. *Revista Geoespacial*, 15(2), 112–126.
- Romero, J. (2016). *Caracterización morfofisiológica de semillas de especies leñosas distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur del Ecuador* [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Madrid.
- Romero, J., & Granda, M. (2020). Variación del número de semillas en frutos de 156 especies leñosas del Ecuador. *AXIOMA*, 1(23), 52–60.  
<https://doi.org/10.26621/xvi23.2020.12.a09.pucesi.2550.6684>

- Romero, J., & Pérez, C. (2016). Seed morphological traits and their implication in the ex-situ conservation of woody species in Tumbesian dry forests. *Ecosistemas*, 25(2), 59–65.  
<https://doi.org/10.7818/ECOS.2016.25-2.07>
- Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Erler, R., & Navarrete, H. (2019). *Oreopanax seemannianus*. En: Plantas Vasculares de Los Bosques de Polylepis En Los Páramos de Oyacachi.  
<https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Oreopanax%20seemannianus>
- Ruiz, L., Correa, V., Alfaro, F., Ramírez, N., & Verónica, R. (2011). Diversidad genética de *Oreopanax xalapensis* (Araliaceae) en los altos de Chiapas. *GENÉTICA Bol.Soc.Bot.Méx*, 88, 15–25.
- Ruiz, V., Olán, M., Espitia, E., Sangerman, D., Hernández, J., & Schwentesius, R. (2013). Variabilidad cualitativa y cuantitativa de accesiones de amaranto determinada mediante caracterización morfológica. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(5).  
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342013000500011](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000500011)
- Sánchez, M. C., & Salaverría, J. L. (2004). Control de la oxidación y la contaminación en el cultivo *in vitro* de fresa (*Fragaria Xananassa* Duch.). *UDO Agrícola*, 4(1), 21–26.
- Santamaria, A., Páez, T., Soria, N., & Reyes, C. (2012). Establecimiento de un protocolo para la germinación *in vitro* e inducción a callo embriogénico de cedro (*Cedrela montana*) a partir de embriones zigóticos. *EPMMO-Q*.
- Serrada, R. (2000). *Apuntes de repoblaciones forestales. Generalidades sobre semillas forestales*.
- Ulloa, C., & Moller, P. (2022a). *Araliaceae in Trees and shrubs of the Andes of Ecuador @ efloras.org*.  
[http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=10058](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=10058)
- Ulloa, C., & Moller, P. (2022b). *Oreopanax in Trees and shrubs of the Andes of Ecuador @ efloras.org*.  
[http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=123126](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=123126)
- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*.

## Capítulo IX: Apéndices