



**Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de plantas de almohadillas
de la familia Apiaceae en Bosques Andinos del Ecuador.**

Chalco Loya, César David

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo

PhD. Segovia Salcedo, María Claudia

28 de septiembre del 2023



Chalco UIC para el copyleaks.docx

Scan details

Scan time:
August 30th, 2023 at 0:55 UTC

Total Pages:
61

Total Words:
15046

Plagiarism Detection



| Types of plagiarism | | Words |
|---------------------|------|-------|
| Identical | 0.7% | 104 |
| Minor Changes | 0.3% | 39 |
| Paraphrased | 4.3% | 651 |
| Omitted Words | 0% | 0 |

AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text



MARIA CLAUDIA
SEGOVIA SALCEDO



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 plantas de almohadillas de la familia Apiaceae en Bosques Andinos del Ecuador”** fue realizado por el señor **Chalco Loya, César David**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y 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, 13 de noviembre de 2023



MARÍA CLAUDIA
SEGOVIA SALCEDO

Segovia Salcedo, María Claudia Ph.D

C. C. 1709055998



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Chalco Loya, César David**, con cédula de ciudadanía n° 1719694760, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de plantas de almohadillas de la familia Apiaceae 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, 30 de octubre de 2023

Chalco Loya, César David

C.C.: 1719694760



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Chalco Loya, César David**, con cédula de ciudadanía n° 1719694760, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Caracterización de parámetros morfológicos y germinativos de semillas de plantas de almohadillas de la familia Apiaceae en Bosques Andinos del Ecuador** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolqui, 30 de octubre de 2023

Chalco Loya, César David

C.C.: 1719694760

Índice de contenidos

| | |
|---|----|
| Índice de contenidos | 6 |
| Índice de tablas | 9 |
| Índice de figuras | 10 |
| Resumen | 11 |
| Abstract | 12 |
| Capítulo I: Introducción | 13 |
| Planteamiento del problema | 13 |
| Justificación del problema | 14 |
| Objetivos | 16 |
| Objetivo General | 16 |
| Objetivos Específicos..... | 16 |
| Hipótesis | 16 |
| Capítulo II: Marco teórico | 17 |
| Páramo andino..... | 17 |
| Distribución geográfica de los páramos en el Ecuador..... | 18 |
| Parque Nacional Antisana..... | 19 |
| Parque Nacional Cayambe-Coca..... | 19 |
| Bosque Andino | 20 |
| Turberas | 20 |
| Importancia vegetativa | 21 |
| Agrupación de plantas en forma de cojín o almohadillas..... | 22 |
| Amenazas y prevención | 23 |
| Familia Apiaceae | 24 |
| Género Azorella | 25 |
| Características generales | 26 |
| Especies de almohadillas de la Familia Apiaceae en los Bosques Andinos..... | 27 |
| Taxonomía y distribución..... | 28 |
| Distribución | 28 |
| Parámetros morfológicos..... | 29 |
| Descriptores morfológicos | 30 |
| Cualitativo de la planta | 30 |
| Cualitativo de la semilla | 30 |
| Cuantitativo de la semilla..... | 30 |
| Viabilidad de semillas..... | 31 |

| | |
|--|----|
| Pruebas colorimétricas | 32 |
| Germinación <i>in vitro</i> de semillas..... | 33 |
| Desinfección y preparación para las semillas | 34 |
| Medios para germinación | 35 |
| Parámetros germinativos..... | 36 |
| Pruebas germinativas <i>in vitro</i> | 36 |
| Almacenamiento y conservación de la flora..... | 37 |
| Bancos de germoplasma | 37 |
| Herbarios..... | 38 |
| Restauración Ecológica | 38 |
| Capítulo III: Metodología | 40 |
| Manejo de Material Vegetal en Campo..... | 40 |
| Recolección de Semillas..... | 40 |
| Manejo y Procesamiento de Semillas en Laboratorio | 40 |
| Caracterización Morfológica | 41 |
| Parámetros Cualitativos..... | 41 |
| Parámetros Cuantitativos | 41 |
| Ensayo de Viabilidad | 42 |
| Prueba de Tetrazolio | 42 |
| Caracterización Germinativa..... | 43 |
| Ensayo de Desinfección de Semillas | 43 |
| Ensayo de Germinación <i>in vitro</i> de Semillas..... | 44 |
| Análisis Estadístico | 45 |
| Caracterización Morfológica | 45 |
| Diseño experimental..... | 46 |
| Diseño Experimental del Ensayo de Viabilidad..... | 46 |
| Diseño Experimental del Ensayo de Desinfección de Semillas | 47 |
| Diseño Experimental del Ensayo de Germinación <i>in vitro</i> de Semillas..... | 48 |
| Capítulo IV: Resultados | 50 |
| Manejo de Material Vegetal en Campo..... | 50 |
| Parámetros morfológicos de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> | 52 |
| Parámetros morfológicos cualitativos | 52 |
| Parámetros morfológicos cuantitativos..... | 53 |
| Ensayo de viabilidad de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> | 56 |
| Ensayos de germinación <i>in vitro</i> | 59 |
| Ensayo de desinfección de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> | 59 |

| | |
|--|----|
| Ensayo de germinación de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> | 62 |
| Capítulo V: Discusión | 67 |
| Caracterización morfológica | 68 |
| Viabilidad | 70 |
| Capacidad Germinativa | 71 |
| Capítulo VI: Conclusiones..... | 74 |
| Capítulo VII: Recomendaciones | 76 |
| Capítulo VIII: Bibliografía | 77 |
| Apéndices..... | 87 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1 <i>Clasificación taxonómica para Azorella pedunculata</i> | 28 |
| Tabla 2 <i>Clasificación taxonómica para Azorella multífida</i> | 28 |
| Tabla 3 <i>Tratamientos para el ensayo de viabilidad</i> | 47 |
| Tabla 4 <i>Tratamientos para el ensayo de desinfección</i> | 48 |
| Tabla 5 <i>Tratamientos para el ensayo de germinación</i> | 49 |
| Tabla 6 <i>Identificación de las semillas de Azorella pedunculata por el color</i> | 54 |
| Tabla 7 <i>Resultados de la prueba Tukey para las dimensiones de los dos tipos de semillas</i> | 55 |
| Tabla 8 <i>Resultados del peso y porcentaje humedad de las semillas de Azorella pedunculata</i> | 56 |
| Tabla 9 <i>Resultados de la prueba Tukey para las dimensiones de los dos tipos de semillas</i> | 58 |
| Tabla 10 <i>Resultado total del porcentaje general de viabilidad</i> | 59 |
| Tabla 11 <i>Resultados de la prueba Tukey para el tratamiento de desinfección</i> | 61 |
| Tabla 12 <i>Resumen del número de semillas germinadas de Azorella pedunculata para cada tratamiento</i> | 65 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 <i>Distribución geográfica de los páramos en el Ecuador</i> | 18 |
| Figura 2 <i>Patrones de tinción para tejido no viable permitido según el ISTA (2016)</i> | 33 |
| Figura 3 <i>Ficha técnica de la especie</i> | 50 |
| Figura 4 <i>Etapas del desarrollo de <i>Azorella pedunculata</i></i> | 51 |
| Figura 5 <i>Identificación de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> por el color</i> | 52 |
| Figura 6 <i>Identificación del tipo de embrión y endospermo de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i></i> .. | 53 |
| Figura 7 <i>Medición de las dimensiones de la semilla en el programa ImageJ v 1.49</i> | 54 |
| Figura 8 <i>Resultados de la tinción de la prueba de tetrazolio</i> | 57 |
| Figura 9 <i>Gráfico de comparación para los tratamientos de las semillas verdes y cafés a las distintas concentraciones de TZ</i> | 58 |
| Figura 10 <i>Tipo de contaminación en las semillas de <i>Azorella pedunculata</i></i> | 60 |
| Figura 11 <i>Porcentajes de contaminación según el tratamiento con NaClO</i> | 61 |
| Figura 12 <i>Semillas de <i>Azorella pedunculata</i> con ruptura de la testa</i> | 63 |
| Figura 13 <i>Germinación de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i></i> | 63 |
| Figura 14 <i>Comparación de los porcentajes de germinación de semillas de <i>Azorella pedunculata</i> según los distintos tratamientos</i> | 64 |
| Figura 15 <i>Gráfica de la velocidad de germinación de las semillas de <i>Azorella pedunculata</i> a las dos concentraciones utilizadas en las diferentes condiciones</i> | 66 |

Resumen

Este estudio se centra en la caracterización morfológica, viabilidad y germinación de las semillas de *Azorella pedunculata*, una planta en cojín de la familia Apiaceae que desempeña un papel crucial en la biodiversidad de los páramos andinos ecuatorianos. La recolección en campo permitió la creación de una ficha técnica con información esencial sobre esta especie. Las semillas, de forma ovoide y de colores variables (verde o marrón), están cubiertas por una fina capa oleosa que rodea a un embrión alargado ubicado en la base de la semilla y un endospermo escaso y rígido. Estas características son fundamentales para la resistencia de las semillas a las condiciones extremas del páramo. Las dimensiones de las semillas, que incluyen longitud, ancho y grosor, muestran una variabilidad significativa entre las semillas verdes y marrones. Las semillas tienen un peso promedio de 1.418 ± 0.02 mg y un contenido de humedad del $13.263 \pm 2.13\%$. Estos hallazgos sugieren que las semillas de *Azorella pedunculata* se las clasifica como intermedias según su contenido de humedad. En los ensayos de germinación, se utilizó hipoclorito de sodio para la desinfección de las semillas, el tratamiento con un 7% de hipoclorito de sodio durante 7 minutos demostró ser efectivo sin causar oxidación o promover el crecimiento de agentes fúngicos o bacterianos. Para superar la latencia, se aplicaron giberelinas (GA3) a concentraciones de 2 y 4 mg/L bajo condiciones de incubación a 21°C, lo que resultó en una tasa de germinación del 10% en la sexta semana. Este estudio proporciona una caracterización integral de las semillas de *Azorella pedunculata*, una especie de vital importancia para la biodiversidad de los páramos andinos, ofreciendo información detallada sobre su morfología, comportamiento de germinación y posibles estrategias de conservación.

Palabras clave: Azorella, morfología, viabilidad, germinación, páramo.

Abstract

This study focuses on the morphological characterization, viability and germination of the seeds of *Azorella pedunculata*, a cushion plant of the Apiaceae family that plays a crucial role in the biodiversity of the Ecuadorian Andean páramos. The field collection allowed the creation of a data sheet with essential information on this species. The seeds, ovoid in shape and of variable colors (green or brown), are covered by a thin oily layer that surrounds an elongated embryo located at the base of the seed and a sparse and rigid endosperm. These characteristics are fundamental for the resistance of the seeds to the extreme conditions of the páramo. Seed dimensions, including length, width and thickness, show significant variability between green and brown seeds. Seeds have an average weight of 1.418 ± 0.02 mg and a moisture content of $13.263 \pm 2.13\%$. These findings suggest that *Azorella pedunculata* seeds are classified as intermediate according to their moisture content. In germination trials, sodium hypochlorite was used for seed disinfection, treatment with 7% sodium hypochlorite for 7 min proved to be effective without causing oxidation or promoting the growth of fungal or bacterial agents. To overcome dormancy, gibberellins (GA3) were applied at concentrations of 2 and 4 mg/L under incubation conditions at 21°C, resulting in a 10% germination rate at week 6. This study provides a comprehensive characterization of *Azorella pedunculata* seeds, a species of vital importance for the biodiversity of the Andean páramos, offering detailed information on its morphology, germination behavior, and potential conservation strategies.

Key words: Azorella, morphology, viability, germination, paramo.

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del problema

El páramo andino es un ecosistema frágil de las zonas neotropicales de alta montaña. En Ecuador, los páramos se encuentran desde los 3300 m.s.n.m. hasta la zona rocosa o nevada. Estos páramos proveen principalmente de servicios ecosistémicos como las fuentes hídricas y sumideros de carbono (Carrillo & Rucabado, 2021). Los bosques en los páramos, abarcan una gran diversidad de especies de flora y fauna. Estos bosques almacenan materia orgánica del suelo, ayudando de esta forma con el ciclo de dióxido de carbono, por lo que son importantes en el mantenimiento del clima a escala regional y continental (Aguirre Mendoza *et al.*, 2018).

Los bosques andinos presentan parches o planicies conocidos como bofedales o turberas. Los bofedales abarcan aproximadamente cerca del 2% del territorio Altoandino y son principalmente utilizadas para el pastoreo de rebaños domésticos de alpacas, llamas y ovejas, que a menudo constituyen la base de las economías campesinas (Peyre *et al.*, 2018). Gran parte del suelo en las turberas está constituido por estructuras vegetales formadas por la simbiosis del entorno con plantas de tipo cojín, comúnmente llamadas almohadillas (Valderrama *et al.*, 2017). Esta asociación de plantas retiene gran cantidad de agua la cual es renovada constantemente. Una de las especies que presenta estas estructuras y es característica dentro de los bofedales en los páramos de la sierra ecuatoriana pertenece a la familia Apiaceae (Duarte Sánchez, 2018).

Lamentablemente, el ser humano al aprovechar los recursos hídricos provenientes de los páramos en los bosques andinos, se ha extendido y realizado actividades cada vez más cerca a estas zonas, ocasionando graves daños. La polución y la reducción de estas zonas por la actividad antropogénica hace ver amenazada la fauna y flora presente en estos páramos. En los últimos años, la fauna que allí habita se ha visto reducida en número por la pérdida de su hábitat (Chuncho, 2019). Actualmente en Ecuador se han concesionado áreas de páramo para la minería, en provincias como Pichincha, Azuay y Loja ubicados entre 3500 a 3900 m.s.n.m. con las cuales más del 28 % del páramo

andino podría ser afectado por esta actividad (Rangel & Pinto-Zárate, 2012). Así también, la tala de bosques y la creación de monocultivos por empresas agrícolas, ganaderas y madereras en el Ecuador que aprovechan la cercanía de estas fuentes hídricas en los bosques andinos, reduciendo y contaminando las reservas de este recurso hídrico, provocando la disminución de las especies vegetales que allí habitan.

A pesar del número de especies caracterizadas a nivel taxonómico en el páramo, es necesario realizar estudios técnicos a profundidad. Existe gran carencia de información sobre los ciclos de reproducción, la necesidad fisiológica, la afectación al cambio a distintas temperaturas, la actividad metabólica y el rol que tienen en el entorno las plantas nativas del páramo andino (Beltran *et al.*, 2023). Es por esta razón, la necesidad de generar información desde la fenología de la planta y la morfología de las semillas y la estandarización de protocolos de germinación, para la creación de bancos de semillas que permitan una posible reforestación o recuperación del páramo andino con plantas nativas del páramo.

Justificación del problema

Los bosques andinos son importantes fuentes de recursos hídricos, sobre todo los parches y planicies conocidos como bofedales, los cuales están conformados por estructuras en forma de cojín conocidos como almohadillas (Llambí *et al.*, 2019). En Ecuador, los bosques andinos son amenazados constantemente por la actividad minera, la deforestación, los incendios forestales, la polución por parte de fábricas, la erosión del suelo a causa de monocultivos y la constante expansión de la población urbana a zonas más elevadas (Beltran *et al.*, 2023). Estas actividades tienden a extenderse y amenazar las especies vegetales nativas.

El páramo andino es considerado una importante fuente de agua dulce y es la principal reserva de agua para la población de la sierra ecuatoriana, (Beltran *et al.*, 2023). Dentro de los páramos podemos encontrar zonas pantanosas conocidas como turberas o bofedales (Carrillo-Perdomo *et al.*, 2015). En los bofedales habitan plantas que forman asociaciones en forma de cojín

llamados almohadillas, estas ayudan al almacén y transporte de agua en el páramo (Crispin Cunya, 2015). En el Ecuador, una de las especies representativas de esta zona pertenece al género *Azorella* de la familia Apiaceae, la cual se encuentra distribuida en gran parte desde el Carchi hasta Loja (Aguirre Mendoza *et al.*, 2018). Las almohadillas al tener una gran distribución dentro del páramo pueden ser utilizadas como indicadores de la calidad de estos ecosistemas y por tanto de los recursos hídricos disponibles, es por esto que es de gran importancia la conservación, mantenimiento, control y estudio constante de estas plantas (Carrillo & Rucabado, 2021).

Actualmente los estudios acerca de las almohadillas de la familia Apiaceae son sumamente escasos, no existe suficiente información sobre la ubicación, fenología, temporada de reproducción, morfología de la semillas y proceso germinativo de estas especies. Esta información es un factor esencial a tomar en cuenta en la reforestación o en la recuperación de los espacios afectados por la actividad antropogénica (Beltran *et al.*, 2023).

Por tal razón, el presente trabajo pretende reunir información valiosa sobre la morfología y el proceso germinativo de semillas de almohadillas de la familia Apiaceae, para consolidar información necesaria para proyectos de conservación y reforestación. Uno de estos proyectos es el del banco de semillas andinas HANS-BANK, el cual tiene el apoyo del proyecto BIO-GEEC, un Consorcio alemán-ecuatoriano sobre la Biodiversidad. Este proyecto está enfocado en conocer la diversidad de los páramos, así como el análisis de las semillas, para salvaguardar la diversidad genética y biológica de los páramos ecuatorianos. De esta forma, se logrará crear estrategias y alternativas viables que permitan la conservación de especies vegetales amenazadas en los bosques andinos.

Objetivos

Objetivo General

Caracterizar parámetros morfológicos y germinativos de semillas de plantas de almohadillas de la familia Apiaceae en Bosques Andinos del Ecuador.

Objetivos Específicos

-Recolectar de forma aleatoria, muestras de semillas de almohadillas de la familia Apiaceae en Bosques Andinos del Ecuador.

-Identificar parámetros morfológicos cualitativos y cuantitativos de las semillas de almohadillas de la familia Apiaceae recolectadas en Bosques Andinos del Ecuador.

-Analizar las semillas de almohadillas de la familia Apiaceae mediante la coloración del embrión con la prueba de Tetrazolio, para establecer su viabilidad.

-Determinar los parámetros germinativos de las semillas de almohadillas de la familia Apiaceae viables, mediante pruebas de germinación *in vitro*.

Hipótesis

Los parámetros morfológicos y los tratamientos de germinación aplicados incrementan de forma estadísticamente significativa la capacidad germinativa de semillas viables de almohadillas de la familia Apiaceae.

Capítulo II: Marco teórico

Páramo andino

El ecosistema del páramo andino destaca por su singularidad y vitalidad. Situado en las elevadas altitudes de la cordillera de los Andes en América Latina, el páramo se caracteriza por su diversidad y relevancia. En su extenso territorio coexisten áreas de pastizales, humedales y bosques andinos, cada uno marcado por su vegetación y condiciones climáticas particulares. El páramo circundante a la cordillera de los Andes abarca más de 30.000 kilómetros cuadrados, ubicándose entre los 3.000 y 4.500 metros sobre el nivel del mar (Buytaert *et al.*, 2023). Su presencia se extiende por varios países, como Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia, formando un corredor ecológico fundamental y exclusivo en la región andina.

La importancia del páramo radica en los servicios ecosistémicos esenciales que brinda a toda la región, los cuales son: La regulación del agua, el almacenamiento de carbono en el suelo y la conservación de la biodiversidad. Sus condiciones ambientales únicas, como la altitud, las bajas temperaturas y la abundante humedad, ayuda a la formación de comunidades vegetales especializadas y adaptadas a estas duras condiciones, lo que convierte al páramo andino en un punto caliente de biodiversidad y un importante reservorio de especies endémicas (Giné & Sánchez, 2015).

Parque Nacional Antisana

El Parque Nacional Antisana en Ecuador resguarda un vasto territorio de páramo que abarca desde altas montañas hasta lagunas y valles andinos. Este ecosistema diverso de aproximadamente 120,000 hectáreas alberga una mezcla única de turberas, bosques andinos, páramos herbáceos y humedales con musgos esfagnos, proporcionando hábitats esenciales para una variada vida vegetal y animal (Cevallos Guacapiña, 2022).

Entre las notables especies de flora se encuentran gramíneas de gran altitud, plantas en forma de cojín y arbustos resistentes que desempeñan un papel crucial en la estabilización de los páramos y en el sustento de la fauna local.

Los diversos hábitats prístinos del parque, incluidas las lagunas y los humedales, también brindan refugio y sustento a aves migratorias (Cevallos Guacapiña, 2022). En conjunto, el Parque Nacional Antisana revela la importancia vital de los ecosistemas de páramo en la conservación de la biodiversidad única de la región.

Parque Nacional Cayambe-Coca

El Parque Nacional Cayambe-Coca, localizado en las provincias ecuatorianas de Pichincha, Napo e Imbabura, es reconocido por la riqueza de sus extensos páramos, abarcando una superficie aproximada de 400,000 hectáreas y una variada gama de altitudes y hábitats. Destaca por albergar diversos tipos de páramos, siendo el bosque andino uno de los más sobresalientes (Farinango Colcha & López Jácome, 2022). Estos ecosistemas cumplen un rol esencial en la regulación y conservación del agua, actuando como fuentes naturales para ríos y arroyos, fundamentales para el equilibrio hidrológico regional.

El Parque Nacional Cayambe-Coca exhibe una marcada diversidad de especies vegetales y animales en distintos entornos. La flora del parque incluye una variedad de hierbas, juncias y arbustos adaptados al contexto del páramo (Vega Trávez, 2017). Estas plantas no solo contribuyen a la estética del entorno, sino que también proveen alimento y refugio para diversas especies animales autóctonas.

En lo referente a la fauna, el parque alberga una amplia variedad de vida silvestre. Es especialmente reconocido por su diversidad aviar. Los cursos de agua en el parque albergan diversas especies de peces autóctonos (Valdivieso Enríquez, 2013). En conjunto, el Parque Nacional Cayambe-Coca emerge como un importante santuario de biodiversidad, proporcionando hábitats esenciales para numerosas especies de plantas y animales.

Bosque Andino

Los páramos de los Andes no se caracterizan únicamente por sus pajonales y humedales, sino también por la presencia de bosques andinos únicos. Estos bosques sirven como importantes zonas de transición entre el alto páramo y los bosques montanos bajos, contribuyendo a la diversidad ecológica general de la región desde los 3.000 pero por debajo de los 4.000 metros sobre el nivel del mar. El bosque andino de páramo se compone típicamente de árboles achaparrados, arbustos y diversa vegetación en el sotobosque (Bussmann, 2005). Estos bosques están adaptados a las duras condiciones del entorno de gran altitud, incluidos los fuertes vientos y las bajas temperaturas, además delimitan el espacio de las zonas pantanosas conocidas como turberas (Curipoma *et al.*, 2018).

Turberas

Los páramos de los Andes se caracterizan por la presencia de ecosistemas de humedales únicos conocidos como tuberías o turberas. Estos humedales son componentes esenciales del paisaje de páramo, desempeñando un papel crucial en la regulación hídrica, el secuestro de carbono y la conservación de la biodiversidad. Las tuberías se forman por la acumulación de materia orgánica, principalmente musgos como el *Sphagnum*, en zonas encharcadas (Larriva Carrasco, 2020).

Estos humedales se caracterizan por su alto contenido y absorción de agua, sus condiciones ácidas y una vegetación especializada adaptada al medio saturado las cuales proporcionan hábitats importantes para diversas especies vegetales, como juncias (familia Cyperaceae), plantas en cojín (familias Asteraceae y Apiaceae) y orquídeas de pantano (*Platanthera* spp.) (Valdivieso Enríquez, 2013). Las tuberías sirven como esponjas naturales, almacenando agua durante la estación lluviosa y

liberándola lentamente durante los periodos más secos, contribuyendo así a la regulación del flujo de agua en los páramos.

Las tuberías o humedales de los páramos albergan una rica biodiversidad tanto de flora como de fauna. Estos ecosistemas encharcados proporcionan hábitats únicos para una gran variedad de especies especializadas (Larriva Carrasco, 2020). La vegetación de las tuberías incluye musgos, juncos y otras plantas acuáticas adaptadas a las condiciones ácidas y saturadas. Estas plantas de turbera desempeñan un papel crucial en el secuestro de carbono y el ciclo de nutrientes.

Las tuberías también albergan diversas especies de aves, como la cerceta andina (*Anas flavirostris*), el pato andino (*Oxyura ferruginea*) y el ibis andino (*Theristicus branickii*). Mamíferos como el coatí andino (*Nasua nasua*), la nutria andina (*Lontra provocax*) y varias especies de roedores pueden encontrarse en los humedales y sus alrededores (Guzmán & Esquivel, 2017). Las tuberías de los páramos no sólo son importantes desde el punto de vista ecológico, sino que también proporcionan valiosos recursos a las comunidades locales, como el abastecimiento de agua y zonas de pastoreo para el ganado.

Importancia vegetativa

Los páramos desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de una vegetación diversa y única, lo que los hace ecológicamente significativos. La cubierta vegetal de los páramos está formada por una variedad de especies vegetales adaptadas a las condiciones de altitud, frío y, a menudo, dureza de estos ecosistemas (Larriva Carrasco, 2020). Uno de los principales tipos de vegetación de los páramos son las gramíneas (*Chusquea* spp. y *Festuca* spp.), que forman densas matas y proporcionan alimento y refugio a los herbívoros. Otras especies vegetales notables de los páramos son los arbustos que se aferran al suelo, las plantas en forma de cojín o almohadillas y las plantas en roseta como *Espeletia* spp., *Valeriana* spp. y *Gentiana* spp. Estas plantas tienen adaptaciones únicas para hacer frente a las condiciones climáticas extremas, incluidas las hojas peludas para aislar y las formaciones en roseta para minimizar la pérdida de agua (Valderrama *et al.*, 2017).

Agrupación de plantas en forma de cojín o almohadillas

Las plantas en forma de cojín, también conocidas como plantas en roseta o almohadillas, son un grupo diferenciado de especies vegetales que prosperan en los ecosistemas del páramo. Estas plantas tienen formas de crecimiento únicas caracterizadas por cojines compactos y redondeados de hojas y tallos apretados. Pertenecen a varias familias, como las Apiaceae, Asteraceae, Rosaceae y Caryophyllaceae (Fernández *et al.*, 2015).

Las almohadillas han desarrollado adaptaciones especializadas para hacer frente a las duras condiciones ambientales de los páramos, como las bajas temperaturas, los fuertes vientos y los altos niveles de radiación solar (Anthelme, 2015). Su forma de crecimiento en cojín ayuda a atrapar el calor y la humedad, proporcionando aislamiento y protección a los tejidos de la planta. Además, la densa estructura en cojín reduce la velocidad del viento y crea condiciones microclimáticas favorables para que otras especies vegetales crezcan dentro del cojín, aumentando la biodiversidad general de los ecosistemas de páramo.

Las plantas de cojín proporcionan microhábitats esenciales y refugio para una gran variedad de invertebrados, como insectos, arañas y microorganismos. Sus densas formas de crecimiento también facilitan la retención del suelo y evitan la erosión, ayudando a mantener la estabilidad de las laderas del páramo (Castro Mantilla, 2019). Además, las plantas en cojín desempeñan un papel crucial en la regulación hídrica al captar la humedad de la niebla, el rocío y la lluvia, y liberarla lentamente en el entorno circundante, contribuyendo al equilibrio hidrológico de los ecosistemas de páramo.

Las almohadillas están ampliamente distribuidas por las regiones de páramo de los Andes, sobre todo en países como Ecuador, Colombia, Perú, Bolivia y Chile. Suelen encontrarse a gran altitud, normalmente por encima del límite arbóreo y en zonas donde otras formas de plantas luchan por sobrevivir debido a las condiciones ambientales extremas. Estas plantas se consideran especies clave dentro de los ecosistemas de páramo debido a sus numerosas funciones y contribuciones ecológicas (Fernández *et al.*, 2015).

Amenazas y prevención

Los páramos ecuatorianos se enfrentan a varias amenazas importantes que ponen en peligro su integridad ecológica y los servicios que prestan. Una de las principales amenazas es el cambio de uso del suelo y la expansión agrícola. La conversión de zonas de páramo en tierras agrícolas para el pastoreo de ganado y el cultivo de cosechas altera el delicado equilibrio de estos ecosistemas, provocando la erosión del suelo, la pérdida de la cubierta vegetal y la reducción de la capacidad de regulación del agua. Además, las actividades mineras, tanto legales como ilegales, suponen una grave amenaza para los páramos, ya que provocan la destrucción del hábitat, la contaminación y la liberación de sustancias químicas tóxicas en el medio ambiente circundante (Pérez-Martínez *et al.*, 2021).

El cambio climático es otra amenaza importante, ya que el aumento de las temperaturas y la alteración de los patrones de precipitaciones afectan a los ecosistemas de páramo. Esto puede provocar la pérdida de especies vegetales especializadas, cambios en el equilibrio hídrico y un mayor riesgo de incendios forestales. Las prácticas inadecuadas de gestión de la tierra, como el pastoreo excesivo, la eliminación inadecuada de residuos y la falta de medidas eficaces de conservación, agravan aún más las amenazas a las que se enfrentan los páramos ecuatorianos (Gómez *et al.*, 2017).

Los esfuerzos para prevenir y mitigar las amenazas a las que se enfrentan los páramos ecuatorianos requieren una combinación de estrategias de conservación, intervenciones políticas y la participación de la comunidad. En primer lugar, el establecimiento de áreas protegidas, como parques y reservas nacionales, es crucial para salvaguardar los ecosistemas de páramo y su biodiversidad. Estas áreas protegidas deben contar con planes de gestión claros y mecanismos de aplicación para controlar el cambio de uso del suelo, las actividades mineras y otras prácticas perjudiciales. Además, es esencial promover prácticas sostenibles de gestión de la tierra. La aplicación de medidas para reducir el sobrepastoreo, como los sistemas de pastoreo rotativo y el

control del número de cabezas de ganado, puede ayudar a restaurar y mantener la cubierta vegetal de los páramos.

El fomento de prácticas agrícolas sostenibles que minimicen la alteración del suelo y promuevan enfoques agroecológicos también puede contribuir a la conservación de estos frágiles ecosistemas. La colaboración entre las partes interesadas, incluidos los organismos gubernamentales, las comunidades locales y las instituciones científicas, es vital para el éxito de las iniciativas de conservación (Banegas, 2018). Las campañas de concienciación pública, los programas educativos y las actividades de capacitación pueden fomentar un sentido de custodia y promover la importancia de la conservación de los páramos entre las comunidades locales y la sociedad en general.

Familia Apiaceae

La familia Apiaceae conocida como la familia de la zanahoria o el perejil, abarca más de 3.700 especies, lo que la convierte en una de las mayores familias de plantas con flores. La familia Apiaceae se encuentran tanto en regiones templadas como subtropicales, con notables representantes en Eurasia, América, África y Australia (Sayed-Ahmad *et al.*, 2017).

En Ecuador, las especies de Apiaceae están presentes en diversos hábitats, como los páramos, los bosques nublados y las regiones montañosas. Dentro de la familia, hay varias subfamilias y géneros, incluyendo géneros prominentes como *Apium*, *Pastinaca*, *Daucus*, *Azorella* y *Eryngium*. La familia Apiaceae se caracteriza por sus inflorescencias en forma de umbela, hojas compuestas y tallos huecos. Esta familia incluye tanto especies silvestres como plantas cultivadas de importancia económica, como la zanahoria (*Daucus carota*), el apio (*Apium graveolens*) y el perejil (*Petroselinum crispum*) (Amiri & Joharchi, 2016).

La familia Apiaceae tiene una gran importancia vegetativa debido a la diversidad de sus especies y a su contribución ecológica. Muchas plantas Apiaceae presentan un follaje intrincado y características vegetativas atractivas, lo que las hace estéticamente atractivas y valoradas en horticultura y paisajismo. Además, algunas especies de la familia tienen notables propiedades

medicinales y se utilizan en la fitoterapia tradicional con diversos fines. Por ejemplo, especies como *Angelica archangelica* y *Levisticum officinale* se han utilizado históricamente por sus propiedades diuréticas y digestivas (Que *et al.*, 2019).

Las plantas apiáceas también desempeñan funciones ecológicas en sus respectivos hábitats. En los ecosistemas de páramo, ciertas especies de Apiaceae contribuyen a la cubierta vegetal y desempeñan un papel en la estabilización del suelo, la prevención de la erosión y la regulación del agua. El denso follaje de estas plantas ayuda a reducir la evaporación y retiene la humedad, lo que es crucial para el equilibrio hidrológico del entorno del páramo (Wang *et al.*, 2022). Además, la familia Apiaceae sirve como fuente de alimento para varios herbívoros, incluyendo insectos y mamíferos, apoyando las redes alimentarias locales y la biodiversidad dentro de los ecosistemas de páramo.

Género *Azorella*

El género *Azorella*, perteneciente a la familia Apiaceae, engloba un grupo diverso de especies de plantas con flores conocidas por sus adaptaciones únicas a entornos alpinos extremos. Las especies de *Azorella* se encuentran principalmente en las regiones de gran altitud de los Andes, sobre todo en Sudamérica, en países como Ecuador, Perú, Bolivia y Argentina. Estas extraordinarias plantas han llamado la atención de botánicos y ecologistas por su capacidad para prosperar en condiciones adversas, como temperaturas frías, fuertes vientos y altos niveles de radiación ultravioleta (Calviño *et al.*, 2016).

Las plantas del género *Azorella* se caracterizan por sus formas de crecimiento en cojín y de baja altura, consistentes rosetas de hojas pequeñas muy apretadas. Este hábito de crecimiento ofrece varias ventajas en entornos alpinos. El follaje compacto ayuda a atrapar el calor y conservar la humedad, creando un microclima que protege los tejidos vegetales de las temperaturas bajo cero y la desecación. Además, la estructura en cojín reduce la velocidad del viento y proporciona refugio a otras especies vegetales, fomentando la biodiversidad en los ecosistemas alpinos (Fernández & Calviño, 2019).

El género *Azorella* es conocido por su riqueza de especies y su diversidad morfológica. Se han descrito más de 90 especies dentro del género, que muestran una gama de adaptaciones a diferentes altitudes, tipos de suelo y condiciones climáticas (Calviño *et al.*, 2016). Estas variaciones se reflejan en las formas de las hojas, los hábitos de crecimiento y las características florales observadas entre las diferentes especies de *Azorella*.

Características generales

El género *Azorella* presenta varias características morfológicas distintivas que contribuyen a su aspecto único y a sus adaptaciones ecológicas. Las especies de *Azorella* se caracterizan por su hábito de crecimiento compacto y bajo, formando densas estructuras en forma de almohadilla cerca del suelo. Los cojines se componen de rosetas apretadas de hojas pequeñas, a menudo suculentas (Calviño *et al.*, 2016).

Las hojas de las plantas *Azorella* suelen ser coriáceas y presentan adaptaciones para soportar las duras condiciones alpinas, como cutículas gruesas y tricomas que reducen la pérdida de agua por evaporación. La coloración de las hojas puede variar según la especie, de verde a gris o plateado, lo que puede ayudar a reflejar el exceso de radiación solar. Las flores de las plantas *Azorella* suelen ser pequeñas y discretas, a menudo dispuestas en racimos o umbelas (Calviño *et al.*, 2016).

Se presentan en varios colores, como blanco, amarillo o morado, y son polinizadas por insectos y pequeños pájaros. La combinación de estas características morfológicas contribuye a la resistencia general y la supervivencia de las plantas *Azorella* en los difíciles entornos alpinos en los que prosperan (Fernández & Calviño, 2019).

El género *Azorella* presenta una serie de características ecológicas que contribuyen a su éxito en los entornos de alta montaña. Una característica esencial es su habilidad para formar densos cojines, los cuales generan microclimas propicios para el desarrollo y la supervivencia de otras plantas. Esta estructura en forma de cojín ofrece un escudo contra condiciones extremas como

temperaturas bajas, vientos intensos y alta radiación solar, proporcionando protección a los tejidos delicados de las plantas y evitando la desecación y el estrés por frío (Irazábal Morales, 2016).

El crecimiento compacto en forma de cojín de *Azorella* reduce la exposición al viento, disminuyendo la pérdida de agua por transpiración y favoreciendo la retención de nutrientes en la comunidad vegetal. La estructura en forma de almohadilla también aumenta la captura de humedad, permitiendo que las plantas aprovechen los limitados recursos hídricos presentes en los ecosistemas alpinos (Calviño *et al.*, 2016). Estas características ecológicas se combinan para fortalecer la resistencia y el funcionamiento general del género *Azorella* en los desafiantes entornos en los que prospera.

Especies de almohadillas de la Familia Apiaceae en los Bosques Andinos

Los bosques andinos de Ecuador son famosos por su notable biodiversidad, que alberga una rica variedad de especies vegetales. Entre ellas, la familia Apiaceae, incluye varias plantas notables en forma de cojín o almohadilla. Estas están adaptadas a los difíciles entornos alpinos, soportando temperaturas extremas, altos niveles de radiación solar y suelos pobres en nutrientes (Amiri & Joharchi, 2016). Entender la clasificación e identificar las especies dentro de este grupo es esencial para la conservación y el estudio científico de los ecosistemas de bosques andinos en Ecuador.

Las almohadillas de la familia Apiaceae en los bosques andinos del Ecuador pertenecen principalmente al género *Azorella*, comprende numerosas especies distribuidas en toda la región. Estas plantas se clasifican basándose en varias características morfológicas, incluyendo la forma de las hojas, la estructura de las flores y el hábito de crecimiento (Fernández & Calviño, 2019). Estudios taxonómicos y botánicos han contribuido a la identificación y clasificación de las especies dentro de la familia Apiaceae.

En el Ecuador las especies más representativas de esta familia son: *Azorella pedunculata* y *Azorella multifida*.

Taxonomía y distribución

Tabla 1

Clasificación taxonómica para Azorella pedunculata

| <i>Azorella pedunculata</i> (Spreng.) Mathias & Constance | |
|--|-----------------------------|
| Reino | Plantae |
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Apiales |
| Familia | Apiaceae |
| Género | <i>Azorella</i> |
| Especie | <i>Azorella pedunculata</i> |

Tabla 2

Clasificación taxonómica para Azorella multifida

| <i>Azorella multifida</i> (Ruiz & Pav.) Pers. | |
|--|---------------------------|
| Reino | Plantae |
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Apiales |
| Familia | Apiaceae |
| Género | <i>Azorella</i> |
| Especie | <i>Azorella multifida</i> |

Distribución

Azorella pedunculata y *Azorella pedunculata multifida* son dos especies estrechamente relacionadas dentro del género *Azorella* que presentan patrones de distribución distintos en Ecuador.

Azorella pedunculata se distribuye principalmente en las regiones central y meridional de los Andes ecuatorianos. Se puede encontrar en varias provincias, incluyendo Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo. Esta especie es particularmente abundante en los ecosistemas de páramo, caracterizados por sus pastizales y matorrales de gran altitud. *Azorella pedunculata* prospera en las praderas alpinas y laderas rocosas, a menudo formando densos cojines cerca del suelo (Walck *et al.*, 2002).

En cambio, *Azorella pedunculata* y *multifida* tiene una distribución más restringida en Ecuador, principalmente en la provincia de Carchi, situada en el norte del país. Esta especie prefiere las zonas altas de las zonas de páramo y subpáramo, donde se puede encontrar en pastizales abiertos y hábitats rocosos. *Azorella pedunculata* y *multifida* se caracteriza por sus hojas profundamente lobuladas o disecadas, que contribuyen a su aspecto único dentro del género (Fernández & Calviño, 2019).

La distribución de *Azorella pedunculata* y *Azorella multifida* en las regiones de gran altitud de Ecuador pone de manifiesto su adaptación a los ambientes alpinos y su importancia en la conformación de la biodiversidad única de los ecosistemas de páramo.

Parámetros morfológicos

Los parámetros morfológicos son características esenciales utilizadas para describir y analizar el aspecto físico de una planta. Estos parámetros proporcionan información valiosa sobre la estructura de la planta, sus hábitos de crecimiento y sus estrategias de adaptación. En el estudio de las plantas se suelen tener en cuenta varios parámetros morfológicos clave.

Es importante señalar que los parámetros morfológicos pueden variar de una especie vegetal a otra y también pueden presentar variaciones dentro de una misma especie debido a factores medioambientales, fases de desarrollo y variabilidad genética (Boochs *et al.*, 1990).

Descriptores morfológicos

Cualitativo de la planta

Los descriptores morfológicos representan características específicas para la descripción y cuantificación de diversos aspectos físicos de las plantas. Estas medidas estandarizadas permiten análisis comparativos entre diferentes especies (Koch *et al.*, 2008). Los descriptores incluyen la morfología de la hoja (forma, tamaño, margen, venación, superficie), características del tallo (color, textura, superficie, ramificación), características de la flor (tamaño, color, inflorescencia, disposición de pétalos, estructuras especializadas), y descriptores de frutos y semillas (forma, tamaño, color, textura, dispersión). Se enfocan también en características de la raíz (tipo, color, ramificación, longitud, diámetro) y el tamaño y porte de la planta (altura, extensión, hábito de crecimiento).

Cualitativo de la semilla

Las semillas pertenecientes a la familia Apiaceae exhiben distintivas características externas que las diferencian de otras familias de plantas. Estos atributos incluyen diversidad en tamaño y forma, con una tendencia a ser pequeñas y ovaladas, con longitudes variables, desde unos pocos milímetros hasta varios milímetros. La gama de colores abarca blanco, amarillo, verde y marrón claro hasta tonos más oscuros. Las semillas pueden presentar superficies lisas, rugosas o estriadas, a veces con crestas o alas en los bordes. Algunas semillas tienen hilos o estructuras fibrosas relevantes para su dispersión. El embrión generalmente consiste en dos cotiledones delgados y planos, mientras que en ciertas especies puede encontrarse endosperma, aportando nutrientes adicionales durante la germinación. La testa, o cubierta de la semilla, puede variar en grosor, y ocasionalmente, algunas semillas tienen una capa adicional llamada perisperma, que rodea el embrión y actúa como tejido alimenticio (Romero, 2016).

Cuantitativo de la semilla

Los parámetros morfológicos cuantitativos que comprenden la longitud, anchura y grosor de las semillas desempeñan un papel crucial en la descripción de sus atributos físicos. Estos parámetros proporcionan información esencial sobre el tamaño y la forma de las semillas, influenciando

aspectos como la dispersión, germinación y desarrollo de plántulas (Balduzzi *et al.*, 2017). La longitud de una semilla se mide a lo largo de su dimensión más larga, ofreciendo una indicación significativa del tamaño y las reservas de nutrientes. Por otro lado, la anchura, medida en su parte más extensa, ofrece perspicacia sobre la forma de la semilla y su relación con la masa y la energía almacenada (Koch *et al.*, 2008).

El grosor de la semilla, que refleja su espesor o profundidad, es otro parámetro importante y afecta aspectos como la latencia y absorción de agua (Koch *et al.*, 2008). La exactitud en la medición de estos parámetros es esencial para caracterizar semillas, evaluar su calidad y comprender sus adaptaciones funcionales. La medición precisa se logra con herramientas especializadas, como calibradores o programas de análisis de imágenes digitales. La longitud se obtiene de una línea recta entre sus extremos, mientras que la anchura se mide perpendicularmente a su longitud. El grosor se determina con instrumentos apropiados, generalmente registrados en milímetros (mm) o micrómetros (μm) para asegurar precisión (Balduzzi *et al.*, 2017).

Viabilidad de semillas

La viabilidad de las semillas es esencialmente su capacidad para germinar y dar origen a una plántula saludable en condiciones propicias. Este rasgo crucial determina la probabilidad de éxito en el establecimiento de una planta. Múltiples factores contribuyen a la viabilidad, incluyendo la edad de las semillas, características genéticas, entorno y presencia de mecanismos de latencia (Basu, 1995).

A medida que las semillas envejecen, su viabilidad suele decaer debido a procesos de deterioro, como daño celular y degradación de nutrientes almacenados. Los aspectos genéticos también influyen, ya que diferentes especies y hasta individuos de una misma especie pueden mostrar distintos niveles de viabilidad (Amiri & Joharchi, 2016). Asimismo, factores ambientales como temperatura, humedad y luz pueden influir en su viabilidad; condiciones inadecuadas o extremas pueden reducir su potencial de germinación.

La latencia de las semillas, un estado de suspensión temporal del crecimiento, también puede impactar en su viabilidad al retrasar la germinación. Pruebas de germinación y técnicas de tinción se emplean para evaluar la capacidad de germinación y la viabilidad (Xia *et al.*, 2019). Entender la viabilidad es clave para la conservación, prácticas agrícolas y esfuerzos de restauración ecológica. Para conservar la viabilidad, el manejo y almacenamiento adecuados son cruciales; esto involucra almacenarlas en condiciones controladas, con baja temperatura y humedad, para frenar el envejecimiento (Basu, 1995). Bancos de semillas y bancos de genes son fundamentales para preservar la diversidad genética de diversas especies vegetales.

Mejorar la viabilidad es posible mediante tratamientos como escarificación, estratificación o remojo, que rompen la latencia (De Vitis *et al.*, 2020). Además, tecnologías de recubrimiento pueden mejorar la viabilidad, aumentando la probabilidad de germinación y éxito en el establecimiento (Hassanisaadi *et al.*, 2022). Comprender los factores que afectan la viabilidad y aplicar técnicas adecuadas de conservación y mejora puede fomentar la supervivencia y propagación exitosa de especies vegetales a largo plazo.

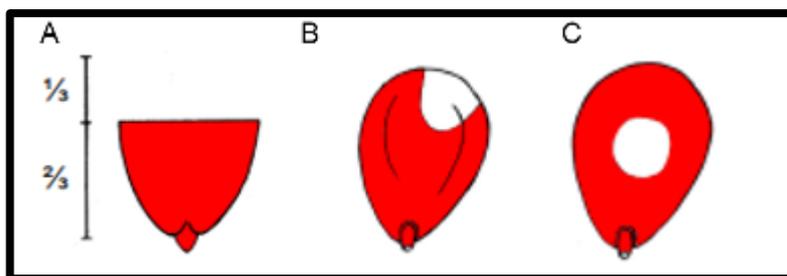
Pruebas colorimétricas

Las pruebas colorimétricas son ampliamente utilizadas para evaluar la viabilidad de las semillas, aprovechando los cambios de color generados por la actividad metabólica y las reacciones enzimáticas internas (França-Neto & Krzyzanowski, 2019). Estas pruebas ofrecen una manera ágil y efectiva de determinar la viabilidad de las semillas, especialmente en análisis a gran escala. Un ejemplo común de esta técnica es la prueba del cloruro de tetrazolio (TZ), donde el TZ incoloro se convierte en un colorante formazán por las enzimas metabólicas en semillas viables. Esto provoca un cambio de color distintivo, ausente en semillas no viables o dañadas, que carecen de actividad metabólica (Sawma & Mohler, 2002). Las pruebas colorimétricas, como la de TZ, brindan una alternativa eficiente y económica para evaluar la viabilidad de las semillas en contextos de producción, conservación e investigación.

El proceso de una prueba colorimétrica involucra varios pasos. En primer lugar, se prepara una solución de cloruro de tetrazolio en las concentraciones y pH indicados. Luego, las semillas se sumergen en la solución durante un tiempo definido, permitiendo que el colorante penetre en sus tejidos. Tras esta etapa de incubación, las semillas se retiran, se enjuagan y se secan para eliminar el exceso de humedad. Posteriormente, se cortan o seccionan para exponer los tejidos internos y revelar cualquier cambio de color. Las semillas viables presentarán una coloración específica en los tejidos metabólicamente activos, mientras que las no viables permanecerán sin color o con cambios limitados (Soares *et al.*, 2016). La observación de patrones de color proporciona información sobre la viabilidad y vitalidad de las semillas, contribuyendo significativamente al conocimiento de su estado fisiológico y potencial germinativo.

Figura 2

Patrones de tinción para tejido no viable permitido según el ISTA (2016).



Germinación *in vitro* de semillas

La germinación *in vitro* de semillas se realiza en un entorno de laboratorio controlado, y se emplea para iniciar y estudiar la germinación de manera precisa. Esta técnica es particularmente útil para especies vegetales escasas o en peligro de extinción, así como para investigar factores específicos que influyen en la germinación (Pujasatria *et al.*, 2020). El proceso implica la esterilización superficial de las semillas para eliminar contaminantes, seguida de su colocación en un medio de germinación estéril con nutrientes y reguladores del crecimiento, que crean condiciones óptimas para la germinación (Patel & Mankad, 2014).

Los recipientes con las semillas se mantienen en un entorno controlado con temperatura, luz y humedad adecuadas. El avance de la germinación se monitorea mediante observación visual o la medición de la emergencia de las radículas (Pujasatria *et al.*, 2020). Esta técnica es valiosa para investigar la fisiología de la germinación, entender influencias abióticas y bióticas, y optimizar los protocolos para conservación y propagación.

En comparación con métodos tradicionales, la germinación *in vitro* ofrece beneficios significativos. Asegura un ambiente estéril, minimizando el riesgo de contaminación, y permite un control preciso de las condiciones (Patel & Mankad, 2014). Esto posibilita el estudio detallado de influencias específicas y la optimización de protocolos para especies difíciles. También facilita la manipulación del tiempo de germinación y la recogida de embriones germinados para experimentación adicional (Pujasatria *et al.*, 2020). En programas de mejoramiento, se usa para selección de rasgos deseables y acelerar la producción de plántulas uniformes. Además, supera barreras naturales de latencia y mejora la propagación y conservación de especies raras o amenazadas (Pujasatria *et al.*, 2020).

Desinfección y preparación para las semillas

La germinación *in vitro* de semillas requiere técnicas de desinfección cruciales para minimizar el riesgo de contaminación y asegurar el éxito del proceso. Una estrategia común es la esterilización de la superficie, que implica eliminar microorganismos de la parte externa de las semillas antes de su colocación en el medio de germinación estéril. Esto implica pasos como el lavado de semillas con una solución detergente y la inmersión en un desinfectante como hipoclorito de sodio (lejía) o etanol (Ding *et al.*, 2013). Después, se enjuagan con agua estéril para eliminar residuos (Abdul & Moore, 1979). Un procedimiento adecuado es fundamental para crear un ambiente aséptico y prevenir la contaminación, lo cual podría afectar la germinación y el crecimiento posterior *in vitro*.

Además de la esterilización superficial, otras técnicas pueden usarse según las necesidades de las semillas y el nivel de esterilidad requerido. Calor o frío pueden ser empleados para romper la

latencia o mejorar la esterilización superficial. La termoterapia, que expone semillas a temperaturas específicas durante cierto tiempo, puede eliminar microorganismos patógenos (Ding *et al.*, 2013).

La crioterapia, con temperaturas bajo cero, es eficaz para eliminar hongos. También, antioxidantes o antimicrobianos pueden emplearse para mejorar la desinfección (Kim *et al.*, 2022). Las técnicas de desinfección se seleccionan en función de las semillas, la meta de la germinación *in vitro* y el nivel de esterilidad necesario para el cultivo exitoso.

Medios para germinación

Para la germinación *in vitro* de semillas de páramo, es crucial seleccionar un medio de cultivo adecuado que provea los nutrientes, vitaminas y reguladores del crecimiento esenciales para la germinación y desarrollo subsiguiente. La elección del medio depende de las necesidades específicas de estas semillas y de los objetivos de la investigación (Pujasatria *et al.*, 2020). El medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) es ampliamente usado y ofrece un equilibrio nutricional óptimo con macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y fitohormonas como auxinas y citoquininas.

El medio MS se puede adaptar ajustando concentraciones de nutrientes o agregando suplementos específicos para satisfacer las demandas de las semillas de páramo. Agar se agrega para solidificar el medio, brindando una superficie sólida para germinación y desarrollo (Patel & Mankad, 2014). Este medio controlado facilita el estudio de germinación, evaluación de viabilidad y optimización de condiciones para plántulas.

Junto al MS, otras formulaciones pueden usarse. Variantes como MS de media o un cuarto de fuerza pueden ajustar nutrientes según necesidades de semillas de páramo. Otros medios como el Woody Plant Medium (WPM) o medio B5 de Gamborg pueden ser adecuados, considerando especie y requerimientos nutricionales (Patel & Mankad, 2014). Reguladores como el ácido giberélico (GA3) pueden también promover germinación o romper latencia.

El pH del medio también es relevante, afectando disponibilidad de nutrientes y germinación. Usualmente, semillas de páramo requieren pH levemente ácido a neutro. Con el medio adecuado y

óptimas condiciones, la germinación *in vitro* ofrece una valiosa perspectiva para entender la germinación y favorecer el arraigo de plántulas de páramo (Ding et al., 2013).

Parámetros germinativos

Las pruebas de germinación *in vitro* involucran evaluar parámetros germinativos para entender cómo las semillas se desempeñan en condiciones controladas. Estos parámetros ofrecen información sobre cómo las semillas germinan y sus características (Hunter et al., 1984). Un parámetro común es el porcentaje de germinación, que muestra cuántas semillas germinan en un período. La tasa de germinación también es importante y mide la velocidad de germinación (Pujasatria et al., 2020). Otros parámetros incluyen el tiempo promedio de germinación y la uniformidad entre semillas germinadas. Estas mediciones ofrecen información valiosa para comparar tratamientos y condiciones (Dürr et al., 2015).

Además, se considera la longitud de la raíz y brote, que indican el crecimiento inicial, así como biomasa de plántulas (Hassanisaadi et al., 2022). Descriptores como área foliar y número de hojas también se analizan. Con estos parámetros adicionales, los investigadores obtienen una visión completa de la germinación y crecimiento, lo que contribuye a evaluar la calidad de las semillas y el rendimiento general (Hunter et al., 1984).

Pruebas germinativas *in vitro*

Las pruebas de germinación *in vitro* para semillas de páramo ofrecen métodos controlados para su germinación y crecimiento. La prueba en placa de agar es común: se esterilizan las semillas y se colocan en un medio de agar con nutrientes y reguladores de crecimiento, incubándolas en condiciones controladas (Kim et al., 2022). Se evalúan parámetros germinativos como el porcentaje y tasa de germinación. Esta técnica proporciona información valiosa y prepara para análisis posteriores (Pujasatria et al., 2020).

Otra técnica útil es la prueba en cultivo líquido. Las semillas esterilizadas se incuban en medio líquido con nutrientes y reguladores de crecimiento en condiciones controladas (Patel & Mankad, 2014). Esto fomenta la germinación y desarrollo, permitiendo observar características

como longitud de raíces y brotes. Este método es eficiente para estudiar respuestas de semillas a diferentes tratamientos o factores (Pujasatria *et al.*, 2020).

Almacenamiento y conservación de la flora

El proyecto HANS-BANK se dedica a la preservación de especies vegetales en peligro de extinción mediante la creación de un banco de semillas avanzado. Este banco almacena semillas viables en condiciones controladas, utilizando técnicas como la crioconservación, que congela las semillas a temperaturas muy bajas para mantener su viabilidad a largo plazo.

Esta iniciativa es esencial para conservar la diversidad genética y proveer recursos para futuras investigaciones y esfuerzos de restauración. Además, el proyecto incorpora la conservación *in vitro*, donde las técnicas de cultivo de tejidos permiten multiplicar rápidamente material vegetal, incluso de especies difíciles de conservar (James *et al.*, 2018). Esto asegura la disponibilidad continua de recursos genéticos valiosos para la investigación y la restauración de hábitats.

Bancos de germoplasma

El proyecto HANS-BANK destaca la importancia de los bancos de germoplasma en la conservación de especies vegetales amenazadas. Estos bancos almacenan el material genético de plantas, como semillas y tejidos, y son esenciales para preservar la diversidad genética de especies en peligro de extinción (James *et al.*, 2018).

El proyecto establece bancos de germoplasma adaptados a las necesidades de conservación de la flora amenazada, asegurando su viabilidad y accesibilidad para investigaciones, fitomejoramiento, restauración y conservación de hábitats. Utilizan técnicas avanzadas como la crioconservación y el almacenamiento en frío controlado para prolongar la viabilidad de las semillas y mantener su integridad genética durante décadas o más.

Estos bancos de germoplasma brindan un enfoque confiable y sostenible para proteger las especies vegetales amenazadas y sus recursos genéticos para las generaciones futuras.

Herbarios

Los herbarios desempeñan un papel crucial en la documentación y estudio de la diversidad vegetal, especialmente en el caso de las especies de páramo, donde son esenciales para preservar y catalogar su flora única (Willis *et al.*, 2017). Los páramos albergan comunidades vegetales distintivas, incluyendo especies endémicas y raras, y las colecciones de herbario contribuyen a la identificación, distribución y taxonomía de estas especies (James *et al.*, 2018). Los especímenes de herbario son recolectados, prensados, secados y cuidadosamente almacenados, proporcionando referencia valiosa para investigadores y conservacionistas.

Además de su función de documentación, los herbarios también almacenan material genético de especies de páramo, que es crucial para análisis genéticos y estudios evolutivos (Willis *et al.*, 2017). Estos análisis genéticos permiten entender las adaptaciones y relaciones evolutivas de las plantas de páramo, contribuyendo a su conservación y ecología. Además, los herbarios ayudan en la planificación de la conservación, al mantener especímenes de especies amenazadas y proporcionar datos clave para evaluar su estado y desarrollar estrategias de protección (Heberling *et al.*, 2019). Las colecciones de herbario son pilares esenciales en la preservación de la biodiversidad y el conocimiento sobre los ecosistemas frágiles y amenazados de los páramos.

Restauración Ecológica

La restauración ecológica es esencial para combatir la degradación de los ecosistemas, como los páramos, y proyectos de conservación como HANS-BANK reconocen su importancia para recuperar estos entornos degradados. Estos proyectos buscan restaurar las funciones y biodiversidad de los páramos mediante estrategias como la mejora del hábitat, la reforestación y la reintroducción de especies nativas (Willis *et al.*, 2017). La restauración contribuye a la recuperación de servicios ecosistémicos esenciales y protege especies amenazadas y sus hábitats.

Los esfuerzos de restauración en los páramos también promueven la gestión sostenible y la resiliencia ecológica. Estos proyectos comienzan con evaluaciones para identificar áreas degradadas y sus causas. Luego, se elaboran planes de restauración adaptados al lugar y a objetivos específicos

(Heberling *et al.*, 2019). La reintroducción de especies nativas es común, seleccionando plantas adecuadas según requisitos ecológicos y contribuciones al ecosistema. La gestión adaptativa garantiza el éxito a largo plazo y la eficacia de la restauración (James *et al.*, 2018). Los proyectos de restauración no solo benefician a la biodiversidad, sino también a las comunidades locales que dependen de los páramos.

Capítulo III: Metodología

Manejo de Material Vegetal en Campo

Para la aplicación del presente estudio, las muestras recolectadas fueron semillas verdes y cafés de pedúnculos maduros de la especie *Azorella pedunculata* (Spreng.) Mathias & Constance. La especie en estudio se encontró entre los 3500 a 4150 m.s.n.m. en el área llamada Camino Viejo (17M 811469; 9963114) del Parque Nacional Cayambe Coca ubicado en la provincia de Napo, y los alrededores de la reserva hídrica del Parque Nacional Antisana (17M 809293.7; 9943623) ubicado entre las provincias de Napo y Pichincha.

Previo a la recolección, la muestra fue fotografiada con la aplicación móvil Timestamp Camera Free Version 2022, que proporciona los datos de ubicación, tiempo y fecha. Estos datos fueron necesarios para la guía de campo y ficha técnica establecida por el proyecto BIOGEEC al cual pertenece esta investigación.

Recolección de Semillas

Las semillas fueron recolectadas aleatoriamente entre semillas verdes y cafés de pedúnculos de más de 2 cm de crecimiento entre los meses de noviembre del 2022 y abril del 2023. Las semillas recolectadas en el campo se guardaron en cajas Petri y luego se colocaron en fundas de papel etiquetadas con información relevante, como la especie, el lugar de recolección y la fecha. Estas fundas de papel se protegieron adicionalmente al ser colocadas en fundas ziploc junto con alrededor de 10 gramos de sílica gel, con el propósito de prevenir la humedad excesiva y evitar posibles contaminaciones.

Manejo y Procesamiento de Semillas en Laboratorio

Las muestras selladas y etiquetas fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE Matriz Sangolquí. (17M 784325 9965450), en la Provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui.

Las semillas fueron separadas de los pedúnculos y se eliminaron impurezas como tierra y fragmentos de hojas. Las semillas libres de impurezas se almacenaron en cajas Petri esterilizadas. En cada caja Petri, se colocaron 500 semillas, las cajas Petri fueron almacenadas en fundas de papel, las cuales se introdujeron en fundas ziploc junto con sílica gel. Cada funda fue etiquetada con el número de acceso asignado según la ficha de campo del proyecto BIO-GEEC, así como la fecha de recolección. Estas cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad hasta que se llevaron a cabo los diferentes procedimientos.

Caracterización Morfológica

Parámetros Cualitativos

Los parámetros morfológicos cualitativos determinados de las semillas de *Azorella pedunculata* fueron: a) forma y características externas de la semilla, b) Endospermo, c) forma y tipo del embrión. La morfología externa de la semilla se determinó mediante la forma y el color. El endospermo se definió por su cantidad y distribución.

Los parámetros mencionados están respaldados por investigaciones previas en la familia Apiaceae, como señala el estudio de Lucena, (2001). La determinación de la forma y características del embrión se realizó mediante un corte longitudinal en la semilla para evaluar su posición interna. La morfología y ubicación del embrión se basaron en el enfoque morfológico de semillas descrito por Vandeloos, Janssens y Probert, (2012).

Parámetros Cuantitativos

Los parámetros morfológicos cuantitativos determinados de las semillas de *Azorella pedunculata* fueron:

Humedad: El contenido de humedad, se definió midiendo la masa de 150 semillas de color verde y 150 semillas de color café, con un máximo de 48 horas desde su recolección. Las semillas fueron pesadas en una balanza analítica 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:

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} * 100 \quad (1)$$

Los valores del peso fueron en gramos (g) de la muestra.

Largo: Para el dimensionamiento se tomaron fotografías de 100 semillas verdes y 100 semillas cafés sobre papel milimetrado y fueron observadas bajo un estereomicroscopio. El papel milimetrado se utilizó como referencia de escala en el programa ImageJ v 1.49. La medición fue realizada desde la base ancha hasta la punta apical de la semilla.

Ancho: Para el dimensionamiento se tomaron fotografías de 100 semillas verdes y 100 semillas cafés sobre papel milimetrado y fueron observadas bajo un estereomicroscopio. El papel milimetrado se utilizó como referencia de escala en el programa ImageJ v 1.49. La medición fue realizada desde la parte más ancha en la parte media de la semilla.

Grosor: La medición fue realizada a 100 semillas verdes y 100 semillas cafés desde la parte media de la semilla, con un calibrador digital.

La metodología fue corroborada en base a estudios morfológicos de semillas como los realizados por Victoria T *et al.*, (2007).

Ensayo de Viabilidad

Prueba de Tetrazolio

La prueba de tetrazolio se basó en la metodología sugerida según ISTA (2016). Para el ensayo se escogió 120 semillas verdes y 120 semillas cafés. Las semillas se remojaron en agua destilada por 24h a 25°C. Posteriormente, se realizó una escarificación química a la testa de las semillas, en donde se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 10% por 30 min con movimiento constante hasta transparentar y debilitar la testa. Al término de este proceso se realizaron 6 lavados de las semillas con agua destilada para retirar concentraciones de hipoclorito de sodio.

Con las semillas lavadas, se realizó una punción en la mitad de la semilla para estar en contacto el embrión y la solución de tetrazolio. Las semillas se sumergieron en soluciones de tetrazolio al 0.5% y 1% a pH 6.6 durante 48h a 30°C en la incubadora. Al finalizar este tiempo se extrajo los embriones de cada semilla y se determinó los embriones viables y no viables según la presencia o ausencia de su coloración roja carmesí respectivamente bajo la observación en el estereoscopio.

Se consideró viable si el embrión presentó coloración o si cumplía con los patrones de tinción para tejido no viable permitido por el ISTA (2016). El porcentaje de viabilidad se calculó mediante la ecuación:

El porcentaje de viabilidad se obtuvo mediante la ecuación 2:

$$\text{Porcentaje de viabilidad} = \frac{\text{Semillas pintadas}}{\text{Semillas totales}} * 100 \quad (2)$$

Caracterización Germinativa

Ensayo de Desinfección de Semillas

En el ensayo de desinfección de las semillas de *Azorella pedunculata*, se utilizaron 200 semillas escogidas aleatoriamente y separadas en lotes de 50 semillas en microtubos de 1.5mL. Previamente, las semillas se sumergieron en agua destilada durante 24 horas, luego se continuó con el proceso dentro de una cámara de seguridad con flujo laminar.

Las semillas preparadas fueron sumergidas en Etanol al 70% durante 1 min y posteriormente se enjuaga con agua destilada. Para el protocolo se utilizó distintas concentraciones de hipoclorito de sodio (0%, 3%, 5%, 7%) con dos gotas de Tween 20 por cada 50 mL de solución de NaClO. Cada microtubo se llenó con distintas concentraciones de las soluciones de hipoclorito de sodio, con agitación constante por 5 min. En conjunto, se realizó un tratamiento más con solución de NaClO al 7% sumergido por 7 min. Finalmente, se realizaron 3 lavados con agua destilada, se utilizó gasas para eliminar el exceso de agua de las semillas previo al cultivo en el medio. La metodología se basó en

los trabajos previos de Ding *et al.*, (2013) como sustentación para una correcta estandarización del protocolo de desinfección realizado.

A las semillas lavadas y secas se las cultivó en cajas Petri con medio MS y se selló con parafilm. Los medios cultivados fueron incubados a 25°C y se realizó observaciones a las 48 horas y 7 días posteriores del cultivo. El porcentaje de contaminación se determinó de cada semilla como individuo experimental. Se consideró como semilla contaminada aquella que tenga crecimiento de hongos, bacterias o mohos. En caso de existir contaminación se midió el halo de crecimiento y se identificó la morfología del agente contaminante, como recomiendan investigaciones previas de Capó, (2000).

El porcentaje de contaminación se calculó por cada placa por la siguiente ecuación 3:

$$\text{Porcentaje de contaminación} = \frac{\text{Semillas contaminadas}}{\text{Semillas totales}} * 100 \quad (3)$$

Ensayo de Germinación in vitro de Semillas

Para el ensayo de germinación de las semillas de *Azorella pedunculata* se utilizaron 200 semillas y se aplicó el tratamiento de desinfección, que constó de hipoclorito de sodio al 7% con dos gotas de Tween 20 por cada 50 mL de solución durante 7 minutos. Una vez secas las semillas, se procedió a realizar una escarificación mecánica a cada semilla con una punción en la parte media basal de la semilla con una aguja de jeringa de insulina, este tipo de escarificación fueron realizados en trabajos publicados por Curipoma (2018) y Ledezma (2022). La escarificación mecánica ayudó a romper la latencia de la semilla y permitió que el embrión entre en contacto con el medio.

Las semillas fueron sembradas en tubos de vidrio con capacidad máxima de 15 mL. Cada tubo contenía aproximadamente 8 mL ($\frac{1}{4}$) de medio MS, recomendado en estudios previos de Cox (2003) para evitar el exceso de sales que posee el medio basal MS. Para los diferentes tratamientos los medios fueron enriquecidos con dos diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA3) (2 y 4 ppm). Se sembró una semilla por tubo, se selló con plástico y se colocó dentro de una incubadora a

distintas condiciones. En el primer grupo de semillas, se realizó una estratificación; ambas concentraciones se pusieron a 4°C durante 21 días, posterior a los 21 días se subió la temperatura a 21°C, en ambos tratamientos de concentraciones de ácido giberelico tenían un fotoperíodo de 8 horas de oscuridad y 16 horas de luz. Para el segundo grupo, únicamente se incubó a 21°C con un fotoperíodo de 8 horas de oscuridad y 16 horas de luz. Se registró su progreso cada 10 días durante 60 días hasta la toma final de datos.

En los datos recolectados se consideró a las semillas germinadas cuando presentaban 0.5 mm de radícula, diferenciándose en trabajos previos de germinación de la misma familia como menciona Vandeloek (2007). Los parámetros evaluados fueron el índice de latencia y la capacidad germinativa. El índice de latencia fue el número de días necesarios para que emerja la radícula antes de empezar la germinación. Por otro lado, la capacidad germinativa, es el porcentaje de semillas germinadas al concluir el ensayo y se calculó en porcentaje mediante la ecuación 4:

$$\text{Porcentaje de germinación} = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Semillas totales de la repetición}} * 100 \quad (4)$$

Análisis Estadístico

Caracterización Morfológica

La caracterización morfológica cuantitativa se realizó mediante un análisis estadístico descriptivo de los datos tomados para los siguientes parámetros: peso, contenido de humedad de la semilla, y tamaño (largo, ancho y grosor). En el tamaño se utilizaron 4 lotes de 25 semillas tanto para semillas de color verde como para las semillas de color café. Para el contenido de humedad y el peso se utilizaron 4 lotes de 150 semillas para semillas verdes y cafés.

Los resultados de tamaño fueron analizados en primera instancia con la normalidad según los valores del promedio y desviación estándar de cada parámetro. También, se realizó una comparación de medias entre las semillas verdes y cafés para saber si existía diferencia entre las muestras. Mientras que para el peso y humedad únicamente se utilizó estadística descriptiva los cuales se realizaron en el software InfoStat versión 2020.

Diseño experimental

Los resultados de normalidad obtenidos en cada ensayo se comprobaron gráficamente con QQplot y de manera analítica empleando la prueba de Kolmogorov, en vista que la muestra era superior a 50 datos. Las medias de los tratamientos se clasificaron empleando el método de ANOVA con una confianza del 95% ($\alpha=0,05$). En cuanto a los supuestos que no cumplieran una distribución normal, se utilizó el método no paramétrico de Kruskal – Wallis.

Para la comparación de medias entre las muestras de semillas verdes y café se utilizó la prueba de Tukey con una confianza del 95%, con el fin de encontrar diferencias significativas entre las mismas según su morfología. 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 2x2 considerando los siguientes factores: a) concentración de tetrazolio 0.5 y 1% y b) el tipo de semilla a emplearse. La respuesta de interés en este ensayo fue la presencia de embriones viables y no viables. Para cada tratamiento se utilizó dos réplicas de 30 semillas. En la Tabla 3 se presentan los cuatro tratamientos del diseño factorial empleados.

Tabla 3*Tratamientos para el ensayo de viabilidad*

| ENSAYO DE VIABILIDAD | | | | | |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|----------|-----|-------|
| Tratamiento | Concentración de TZ (%) | Tipo de semilla (color) | Semillas | | |
| | | | R 1 | R 2 | Total |
| T1 | 0.5 | verde | 30 | 30 | 60 |
| T2 | 1 | Verde | 30 | 30 | 60 |
| T3 | 0.5 | Café | 30 | 30 | 60 |
| T4 | 1 | Café | 30 | 30 | 60 |
| Total: | | | | | 240 |

Para cada tratamiento se comprobó normalidad de los datos y el promedio de cada tratamiento se comparó mediante la prueba de Tukey para datos paramétricos. El nivel de significancia (α) utilizado para cada análisis fue de 0,05, es decir, una confianza del 95%. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software InfoStat, versión 2020.

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% por 5 minutos y un tratamiento extra de concentración al 7% (NaClO) con 7 minutos. La respuesta de interés fueron semillas contaminadas y no contaminadas. En cada tratamiento se utilizó 40 semillas, repartidas en 5 repeticiones. En la Tabla 4 se presentan los cinco tratamientos del diseño experimental utilizados.

Tabla 4*Tratamientos para el ensayo de desinfección*

| ENSAYO DE DESINFECCIÓN | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------------|--------------|----------|----|----|----|----|-------|
| Tratamiento | Concentración de NaClO (%) | Tiempo (min) | Semillas | | | | | Total |
| | | | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | |
| T1 | 0 | 5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 40 |
| T2 | 1 | 5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 40 |
| T3 | 3 | 5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 40 |
| T4 | 5 | 5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 40 |
| T5 | 7 | 7 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 40 |
| Total: | | | | | | | | 200 |

Para cada tratamiento se comprobó normalidad de los datos y el promedio de cada tratamiento se comparó mediante la prueba de Tukey para datos paramétricos. El nivel de significancia (α) utilizado para cada análisis fue de 0,05, es decir, una confianza del 95%. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software InfoStat, versión 2020.

Diseño Experimental del Ensayo de Germinación in vitro de Semillas

En este ensayo se realizó un diseño factorial de 2x2 para el análisis de los factores: a) concentración de GA3 2 y 4 (mg/L) y b) las condiciones de germinación a 21°C con un fotoperíodo de 8 horas oscuridad y 16 horas de luz. Para la segunda condición, se realizó una estratificación de temperatura a 4°C durante los primeros 21 días y luego incrementar a 21°C con el mismo fotoperíodo en ambas condiciones (8 horas oscuridad y 16 de luz). La respuesta de interés en este ensayo fueron semillas germinadas y no germinadas. Para cada tratamiento, se utilizó 5 réplicas de 10 semillas. En la Tabla 5 se presentan los cuatro tratamientos del diseño factorial empleados.

Tabla 5*Tratamientos para el ensayo de germinación*

| ENSAYO DE GERMINACIÓN | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|-------------|----------|----|----|----|----|-------|
| Trat. | Concentración de GA3 (mg/L) | Condiciones | Semillas | | | | | Total |
| | | | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | |
| T1 | 2 | 21°C | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| T2 | 4 | 21°C | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| T3 | 2 | 4°C - 21°C | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| T4 | 4 | 4°C - 21°C | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| Total: | | | | | | | | 200 |

Para cada tratamiento se comprobó normalidad de los datos y el promedio de cada tratamiento se comparó mediante la prueba de Tukey para datos paramétricos. El nivel de significancia (α) utilizado para cada análisis fue de 0,05, es decir, una confianza del 95%. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software InfoStat, versión 2020.

Capítulo IV: Resultados

Manejo de Material Vegetal en Campo

La especie *Azorella pedunculata* (Spreng.) Mathias & Constance. Se recolectó en el área llamada Camino Viejo (17M 811469; 9963114) del Parque Nacional Cayambe Coca, y en los bofedales del Parque Nacional Antisana (17M 809293.7; 9943623). 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

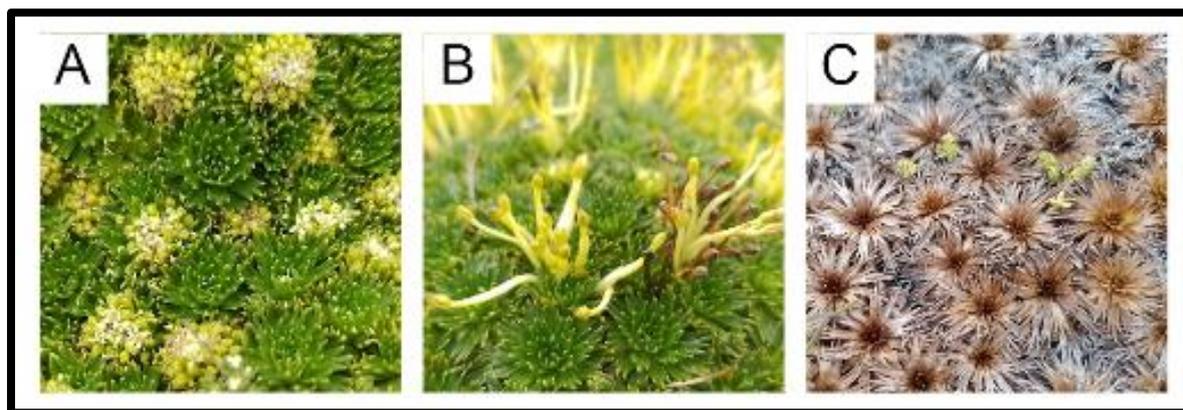
| FICHA TÉCNICA DE LA ESPECIE | |
|---|--|
| Fotografía | Descripción General de la especie |
|  <p>Foto: César Chalco</p> | <p>Nombre Científico: <i>Azorella pedunculata</i>.</p> <p>Nombre Común: Ichu (quechua)</p> <p>Familia: Apiaceae.</p> <p>Altitud: 3.500 – 4.150 m.s.n.m.</p> <p>Forma de vida: Agrupación de tipo cojín.</p> |
| | Descripción Morfología y Fisiología de la Especie |
| | <p>Altura: A nivel del suelo.</p> <p>Flor: Inflorescencia pequeña de hasta 20 flores diminutas con 5 pétalos, color blanco o verde amarillento.</p> <p>Hoja: Lanceolada lisas con márgenes dentados, envés con pubescencia.</p> <p>Tallo: Leñosa en la base, y herbáceas en las partes más jóvenes, con presencia de tricomas.</p> <p>Fruto: Frutos secos, bicarpelados unidos, encima de un pedúnculo.</p> |
| Datos Adicionales | Distribución en Ecuador |

| | |
|--|---|
| <p>Usos: Pastoreo de animales, extracción de metabolitos.</p> <p>Propiedades: Concentra gran cantidad de agua bajo su superficie.</p> <p>Especie: Nativa.</p> <p>Nota Ecológica: Crece junto a otras especies como <i>Senecio</i> spp., <i>Lupinus</i> spp., <i>Bolax</i> spp.</p> |  <p>Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Morona Santiago, Imbabura, Carchi y Sucumbíos.</p> |
| <p>Fuente: (Martinez, 1993). (Páez-Bimos <i>et al.</i>, 2020).</p> | |

La recolección de muestras vegetales de *Azorella pedunculata*. permitió observar el ciclo fenológico de la planta y el fruto en los meses de noviembre del 2022 y abril del 2023. La maduración de las flores se identificó en un ciclo de dos meses y el fruto se observó en estado vegetativo perenne dependiendo del lugar.

Figura 4

Etapas del desarrollo de Azorella pedunculata.



Nota. Fenología de *Azorella pedunculata*. (A) estado vegetativo y floración, (B) Pedúnculos maduros y fructificación, (C) Planta inerte, seca.

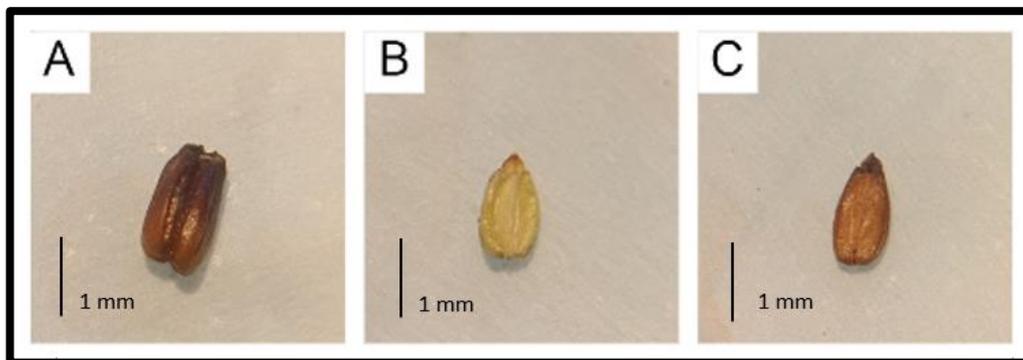
Parámetros morfológicos de las semillas de *Azorella pedunculata*.

Parámetros morfológicos cualitativos

En el análisis de los parámetros morfológicos cualitativos, se emplearon semillas de color verde y café recolectadas de pedúnculos maduros de más 2 cm de longitud de *Azorella pedunculata* (Figura 5). Los pedúnculos se caracterizaron por llevar dos semillas unidas por su parte plana basal. Las semillas presentaron una forma ovalada en punta de una testa dura y oleica.

Figura 5

Identificación de las semillas de Azorella pedunculata por el color.



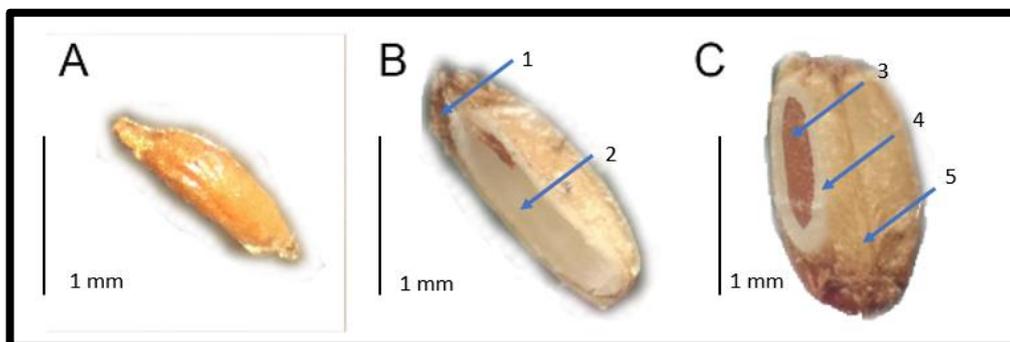
Nota. Semillas de *Azorella pedunculata*. (A) fruto bicarpelado formado por dos semillas, (B) semilla verde, (C) semilla café.

Los parámetros cualitativos que se analizaron fueron el color, la forma, el tipo de embrión y la presencia o ausencia de endospermo.

La Figura 5 muestra cada pedúnculo, el cual posee dos semillas unidas por su parte basal plana. Cada semilla se caracterizó por ser aplanada de forma ovoide y terminación en punta. Se encontró dos tipos semillas (verdes y cafés), de las cuales no se puede inferir que sean maduras, inmaduras o inviábiles.

Figura 6

Identificación del tipo de embrión y endospermo de las semillas de Azorella pedunculata.



Nota. parte interna de la semilla de *Azorella pedunculata*. (A) embrión de tipo recto, alargado, (B) Corte longitudinal donde se puede diferenciar 1) testa, 2) endospermo basal escaso que rodea al embrión, (C) Corte vertical en el cual se puede diferenciar: 3) embrión basal 4) endospermo escaso que rodea al embrión 5) testa brillante de tipo oleica.

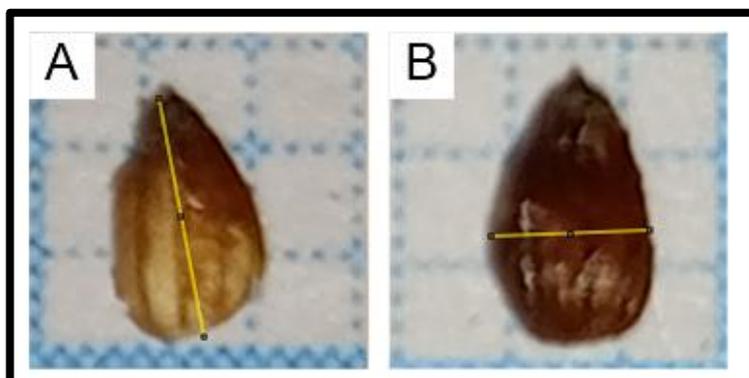
El embrión tanto en semillas verdes o como semillas cafés, presentó forma recta y alargada rodeada por una capa fina de un endospermo bastante duro en la parte basal de la semilla, el mismo que fue recubierto por una testa aceitosa u oleica como se aprecia en la Figura 6.

Parámetros morfológicos cuantitativos

En la Figura 7 se presenta el trazo para las mediciones dentro del programa ImageJ v 1.49 para el largo y ancho de la semilla.

Figura 6

Medición de las dimensiones de la semilla en el programa ImageJ v 1.49



Nota. (A) Medición de altura de la semilla (B) Medición del ancho de la semilla

En la Tabla 6 y Tabla 8 se resumió cada parámetro morfológico cuantitativo analizado en las semillas de *Azorella pedunculata*. Los parámetros analizados fueron: dimensiones (largo, ancho y grosor), peso y contenido de humedad de las semillas.

Tabla 6

Identificación de las semillas de *Azorella pedunculata* por el color.

| Parámetros morfológicos | Valor promedio y Desviación estándar (mm) | |
|-------------------------|---|---------------------|
| | Tipo de semilla | |
| | Verde | Café |
| Largo | 1.991245 ± 0.194543 | 2.0951 ± 0.1886927 |
| Ancho | 1.2075 ± 0.14354104 | 1.32749 ± 0.1450384 |
| Grosor | 0.2966 ± 0.0553085 | 0.3899 ± 0.0643458 |

Nota. Los valores indican el promedio y desviación estándar en milímetros (mm) para cada aspecto morfológico.

Las medias obtenidas para los datos de ancho, largo y grosor de las semillas verdes y cafés fueron comparadas para identificar si existe o no, una diferencia significativa entre las distintas

muestras para cada parámetro. El resumen de la comparación de medias (Tukey) fueron realizadas en el programa InfoStat versión 2020 para cada una de las dimensiones (Tabla 7).

Tabla 7

Resultados de la prueba Tukey para las dimensiones de los dos tipos de semillas.

| Resumen de la prueba Tukey para las dimensiones de semillas verdes y cafés de <i>Azorella pedunculata</i> | | | | |
|--|---------------|----------|-------------|---|
| Para el Largo | | | | |
| Semilla | Medias | n | E.E. | |
| Verde | 1.99 | 100 | 0.02 | A |
| Café | 2.10 | 100 | 0.02 | B |
| Para el Ancho | | | | |
| Semilla | Medias | n | E.E. | |
| Verde | 1.21 | 100 | 0.01 | A |
| Café | 1.33 | 100 | 0.01 | B |
| Para el Grosor | | | | |
| Semilla | Medias | n | E.E. | |
| Verde | 0.30 | 100 | 0.01 | A |
| Café | 0.39 | 100 | 0.01 | B |

Nota. El test de Tukey fue realizado con un Alfa del 0.05, es decir la prueba posee un 95% de confianza.

Los resultados obtenidos con un análisis del 95% de confianza, fueron que las dimensiones de las semillas verdes en comparación con las cafés no poseen una relación directa, es decir las semillas verdes y las cafés dimensionalmente no se pueden considerar como una sola muestra para sus dimensiones.

El porcentaje obtenido de las semillas de *Azorella pedunculata* (13.263 ± 2.1398) (Tabla 8), lo que sugiere que se trata de una semilla intermedia semillas descritas por Ellis *et al.*, (1991) y Pastrana-Ignes *et al.*, (2023).

Tabla 8

Resultados del peso y porcentaje humedad de las semillas de Azorella pedunculata.

| Parámetros morfológicos | Valor promedio y Desviación estándar |
|--------------------------------|---|
| Peso (mg) | 1.418 ± 0.02357 |
| Humedad (%) | 13.263 ± 2.1398 |

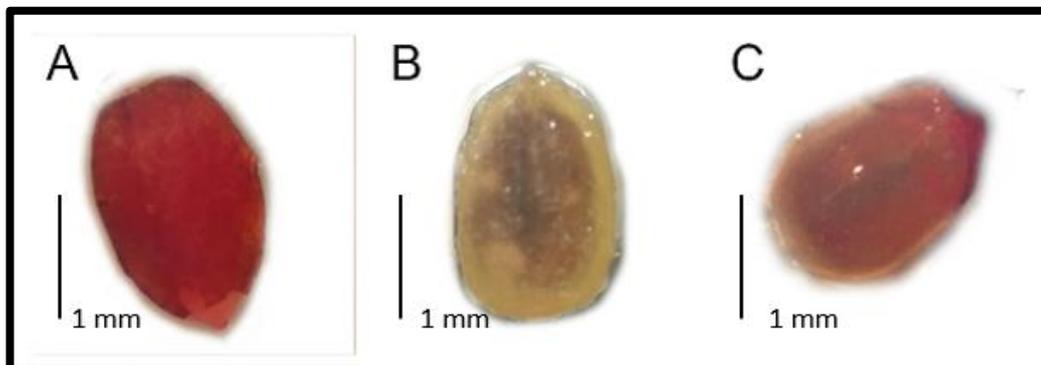
Nota. Los valores indican el promedio y desviación estándar en miligramos (mg) para el peso y en porcentaje (%) para la humedad.

Ensayo de viabilidad de las semillas de *Azorella pedunculata*

La prueba colorimétrica de Tetrazolio se empleó para determinar de forma rápida la viabilidad de 120 semillas verdes y 120 semillas cafés de *Azorella pedunculata*. Las semillas escarificadas se expusieron a dos concentraciones de la solución de Tetrazolio. Los embriones viables presentaban una coloración rojiza a roja carmesí en los 2/3 o la totalidad de la semilla según los parámetros permitidos en ISTA (2016). Por otro lado, los embriones no viables se mantuvieron sin tinción. Los embriones viables y no viables identificados para *Azorella pedunculata* se detallan en la Figura 7.

Figura 7

Resultados de la tinción de la prueba de tetrazolio

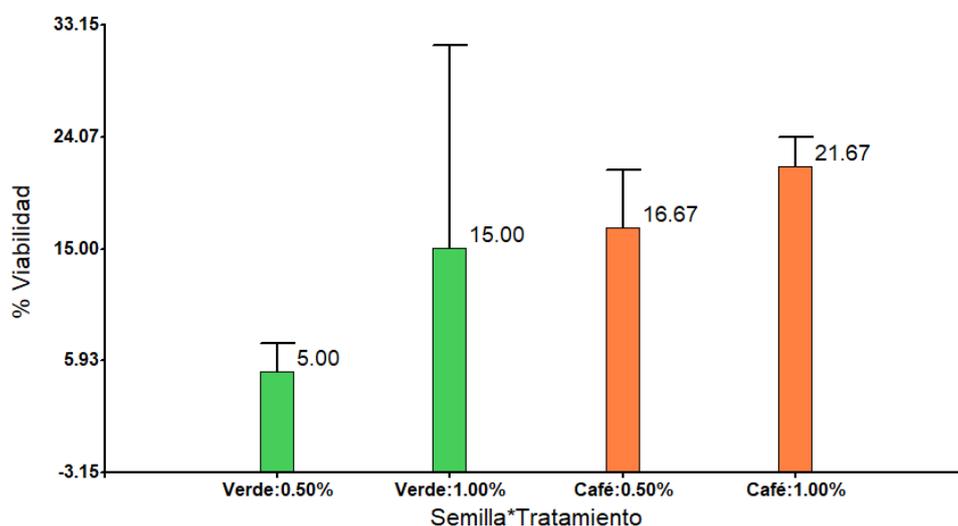


Nota. Resultados vistos bajo el estereomicroscopio de (A) semilla viable tinturada de rojo carmesí ya retirada la testa (B) embrión sin tinción, no viable, con testa (C) embrión con tinción, viable, con testa.

Los resultados de viabilidad de las semillas verdes y las semillas cafés fueron comparados según el tratamiento a distintas concentraciones de Tetrazolio como se muestra en la Figura 8. Los resultados de los porcentajes de viabilidad encontrados están en un rango del 5% al 21.67%. Al encontrar valores altos de desviación estándar para cada tratamiento se decide buscar diferencias significativas entre la viabilidad según el tratamiento y según el tipo de semillas como se resume en la Tabla 7.

Figura 8

Gráfico de comparación para los tratamientos de las semillas verdes y cafés a las distintas concentraciones de TZ



Nota. En el gráfico se observan las medias del porcentaje de viabilidad para cada tratamiento según el tipo de semilla clasificada por su color (verde y café)

Tabla 7

Resultados de la prueba Tukey para las dimensiones de los dos tipos de semillas.

Resumen de la prueba Tukey para las dimensiones de semillas

verdes y cafés de *Azorella pedunculata*

Para el Tratamiento

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|---|
| 0.50% | 10.83 | 4 | 3.99 | A |
| 1.00% | 18.33 | 4 | 3.99 | A |

Para la Semilla

| Semilla | Medias | N | E.E. | |
|---------|--------|---|------|---|
| Verde | 10.00 | 4 | 3.99 | A |

| | | | | |
|-------------|-------|---|------|---|
| Café | 19.17 | 4 | 3.99 | A |
|-------------|-------|---|------|---|

Nota. El test de Tukey fue realizado con un Alfa del 0.05, es decir la prueba posee un 95% de confianza.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que para un análisis del 95% de confianza, el tratamiento de semillas expuestas a dos concentraciones de Tetrazolio no posee diferencias significativas entre los resultados para cada tratamiento (Tabla 7).

Por otro lado, en cuanto a la viabilidad de las semillas verdes en comparación con las cafés poseen relación directa, es decir las semillas verdes y las cafés tienen la misma viabilidad y se puede tomar como una misma muestra en la medición de este parámetro.

Una vez analizada la relación directa de la viabilidad de las semillas verdes y las semillas cafés se pudo definir el porcentaje general de las semillas de la especie *Azorella pedunculata* (Tabla 8).

Tabla 8

Resultado total del porcentaje general de viabilidad

| | |
|------------------------------------|-------------------|
| Porcentaje de viabilidad de | |
| <i>Azorella pedunculata</i> | 14.583 ± 5.3033 % |

Nota. El porcentaje de viabilidad fue calculado mediante un método de tinción para 240 semillas entre verdes y cafés sumergidas en tetrazolio (TZ) a 30°C por 48 horas.

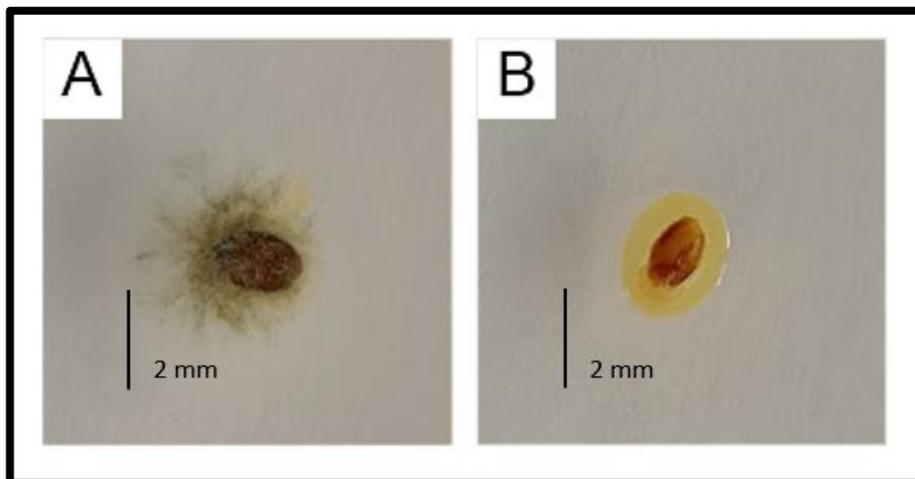
Ensayos de germinación *in vitro*

Ensayo de desinfección de las semillas de Azorella pedunculata

El ensayo de desinfección permitió determinar el mejor tratamiento para evitar contaminación y oxidación de NaClO en las semillas de *Azorella pedunculata*. El tratamiento de desinfección más eficiente fue aplicado posteriormente en el ensayo de germinación. Las semillas contaminadas presentaron agentes patógenos bacterianos como se puede evidenciar en la Figura 9.

Figura 9

Tipo de contaminación en las semillas de Azorella pedunculata



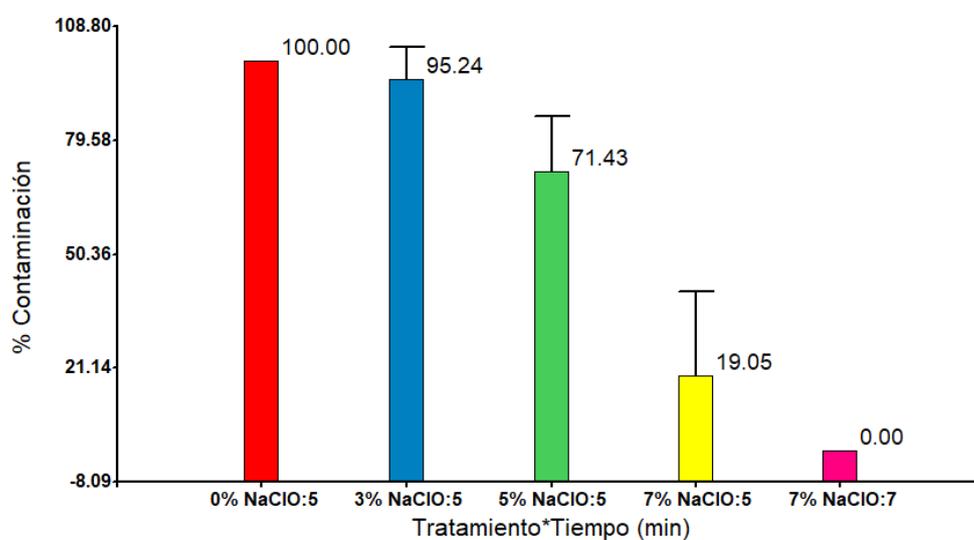
Nota. Semillas a las 48 horas aplicada el tratamiento de desinfección contaminadas por agentes (A) fúngicos (B) bacterianos.

Al aplicarse los distintos protocolos de desinfección se encontró dos tipos de contaminación propias de las semillas como se observa en la Figura 9, en donde, (A) representó las hifas en crecimiento de hongos filamentosos no caracterizado y (B) fue la contaminación bacteriana alrededor de la semilla creciendo en el medio MS.

Al no encontrar oxidación en las semillas tratadas con hipoclorito de sodio (NaClO) se decide aumentar un tratamiento experimental con el fin de reducir la contaminación al máximo, se aumentó el tiempo de contacto en dos minutos a la concentración de 7% de hipoclorito de sodio. Se realizó 5 tratamientos distintos, las medias de los porcentajes de contaminación para cada tratamiento con su desviación estándar se ven resumidas en la Figura 10. Se evidencia que el menor porcentaje de contaminación fue el tratamiento con la solución de NaClO al 7% y 7min.

Figura 10

Porcentajes de contaminación según el tratamiento con NaClO



Nota. El gráfico indica el porcentaje de contaminación encontrada en las semillas para cada tratamiento a las 48 horas desde la desinfección incubadas a 25°C.

Puesto que la desviación estándar del tratamiento con la solución de NaClO al 7% y 5min es muy amplia se realizó un estudio de la comparación de sus medias mediante la prueba Tukey con un alfa de 0.05 al 95% de confianza. Los resultados demuestran que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con la solución de NaClO al 7% para 5 y 7 minutos, como se evidencia en la Tabla 9.

Tabla 9

Resultados de la prueba Tukey para el tratamiento de desinfección

| Resumen de la prueba Tukey para la desinfección en semillas de <i>Azorella pedunculata</i> | | | | |
|--|--------|---|------|---|
| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
| 7% NaClO 7 min | 0.00 | 5 | 7.90 | A |
| 7% NaClO 5 min | 19.05 | 5 | 7.90 | A |

| | | | | |
|-----------------------|--------|---|-------|---|
| 5% NaClO 5 min | 71.43 | 5 | 7.90 | B |
| 3% NaClO 5 min | 95.24 | 5 | 7.90 | B |
| 0% NaClO 5 min | 100.00 | 5 | 13.68 | B |

Nota. El gráfico indica el porcentaje de contaminación encontrada en las semillas para cada tratamiento a las 48 horas desde la desinfección incubadas a 25°C. Los tratamientos que no poseen diferencias significativas indican una misma letra.

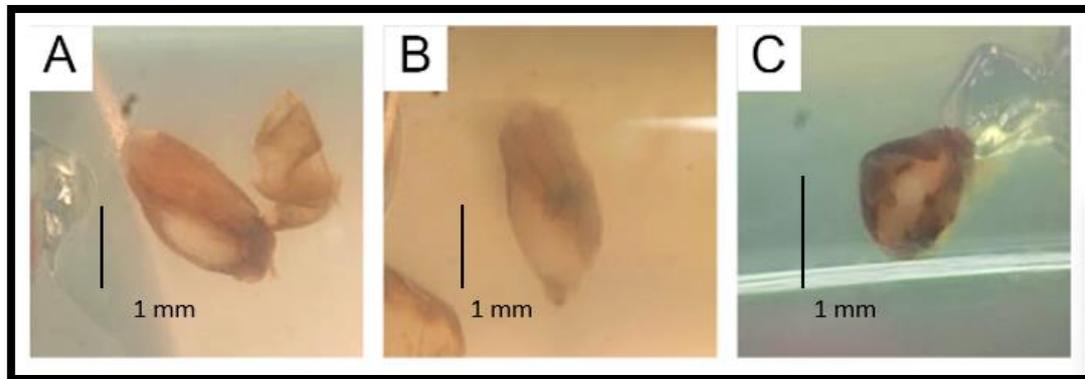
Los tratamientos con la solución de NaClO al 3% y 5% parecen no tener diferencias significativas frente al control experimental (Tabla 9), así también como no parece existir diferencias significativas para los tratamientos con la solución de NaClO al 7% para 5 y 7 minutos. Al no existir oxidación de la semilla frente al tratamiento con NaClO se decide optar por implementar el tratamiento de desinfección con la solución de NaClO al 7% a 7 minutos a el protocolo de germinación.

Ensayo de germinación de las semillas de *Azorella pedunculata*

El ensayo de germinación *in vitro* permitió determinar el tratamiento con mayor porcentaje de capacidad germinativa de las semillas de *Azorella pedunculata*. Las variables utilizadas en los tratamientos fueron dos diferentes concentraciones 2 y 4 mg/L de ácido giberélico (GA3) y dos condiciones temperaturas distintas una con estratificación de 4°C cambiando a 21°C a los 21 días para intentar romper la latencia y promover la germinación y otra sin estratificación a 21°C. Ambas condiciones tuvieron un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. La capacidad germinativa de la semilla se consideró con la ruptura de la testa por el embrión (Figura 11) y la presencia de radícula de un mínimo de 0.5mm de longitud (Figura 12).

Figura 11

Semillas de Azorella pedunculata con ruptura de la testa

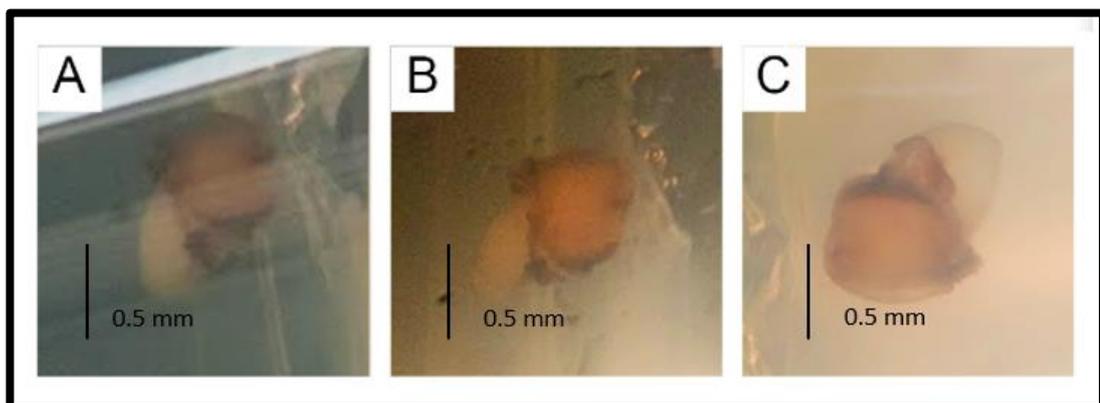


Nota. Se diferencia los embriones que han logrado salir de latencia y se abren paso al medio, iniciando la ruptura de la testa de la semilla.

Las dos primeras semanas no se observaron cambios significativos en las semillas sobre su germinación, Se observó ensanchamiento con ruptura de la testa como se observa en la Figura 11.

Figura 12

Germinación de las semillas de Azorella pedunculata

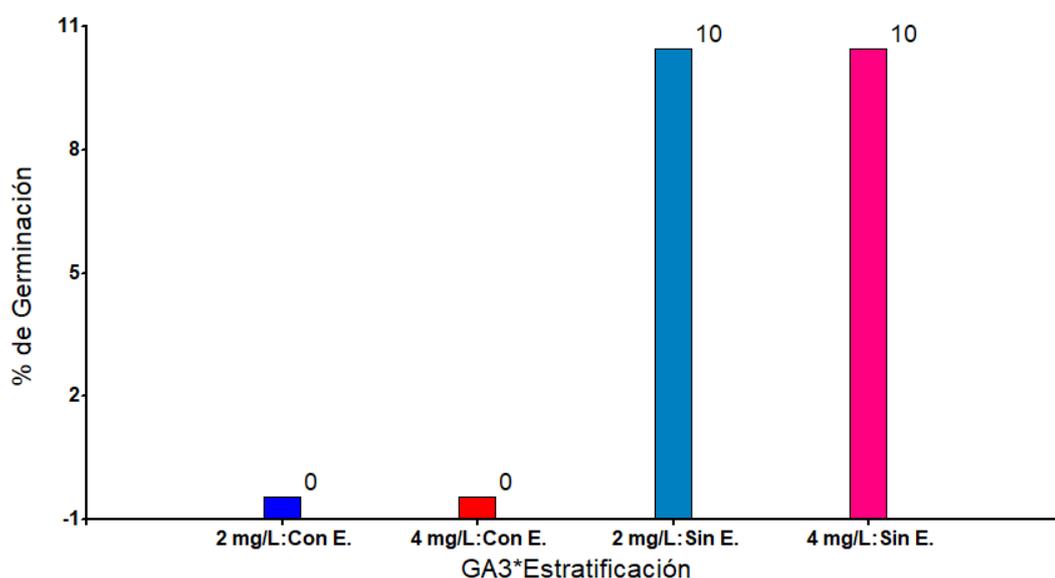


Nota. Se puede evidenciar que luego de romper la testa el embrión da paso a la salida de la radícula de la semilla.

La estratificación consiste en aplicar un cambio de temperatura para ayudar a interrumpir la latencia de las semillas, se realizó una estratificación de 4°C a 21°C a la cuarta semana desde la siembra. Los porcentajes de germinación que se muestran en la Figura 13 representan los datos tomados hasta la sexta semana desde la siembra.

Figura 13

*Comparación de los porcentajes de germinación de semillas de *Azorella pedunculata* según los distintos tratamientos*



Nota. Los resultados presentados son pertenecen a la sexta semana desde la siembra todas las semillas a sus distintas condiciones tuvieron un fotoperiodo de 8 horas de oscuridad y 16 de luz.

El número de semillas germinadas en cada tratamiento experimental consistió de una muestra de 50 semillas totales por tratamiento. El número de semillas germinadas hasta la sexta semana desde la siembra para cada tratamiento experimental son resumidas en la Tabla 10. Hasta la sexta semana de la toma de resultados se evidenció solamente ensanchamiento de las semillas para los tratamientos con estratificación, por lo cual no se presentan datos de germinación (Tabla 10).

Tabla 10

Resumen del número de semillas germinadas de Azorella pedunculata para cada tratamiento

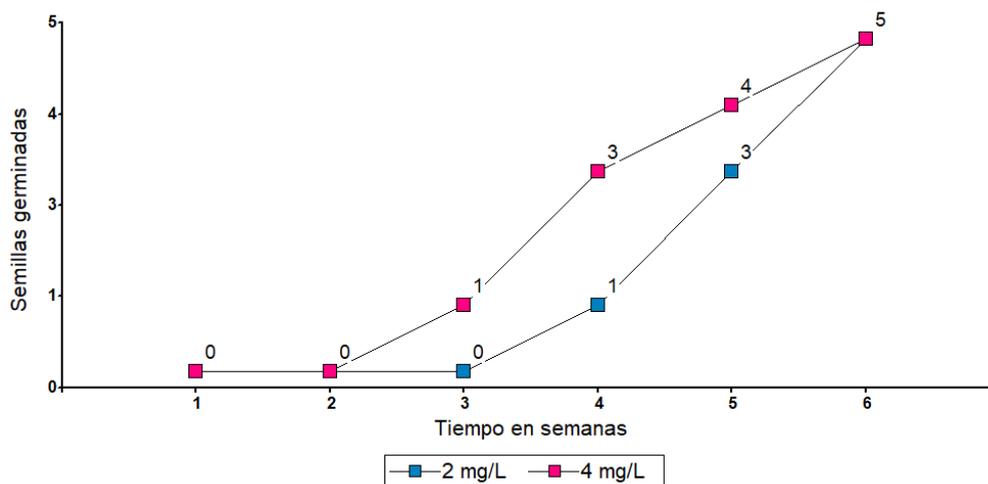
| [GA3] (mg/L) | Condiciones de Temperatura | % de Germinación | Número de semillas germinadas |
|-------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|--|
| 2 | 21°C | 10.00 | 5/50 |
| 2 | 4°C/21 días-21°C | 0.00 | 0/50 |
| 4 | 21°C | 10.00 | 5/50 |
| 4 | 4°C/21 días-21°C | 0.00 | 0/50 |

La velocidad de germinación se puede determinar con el número de semillas germinadas para el tiempo que ha pasado desde la siembra. La Figura 14 representa el número de semillas germinadas en función de las semanas en las que se obtuvo los datos de las semillas germinadas.

Los resultados del porcentaje de viabilidad resumidos en la Tabla 8 se relacionan con los resultados obtenidos del porcentaje de germinación hasta la sexta semana para las condiciones de 21°C sin estratificación (Tabla 10).

Figura 14

Gráfica de la velocidad de germinación de las semillas de Azorella pedunculata a las dos concentraciones utilizadas en las diferentes condiciones



Nota. El gráfico detalla el número de semillas germinadas en función del tiempo para los tratamientos de 2 y 4 mg/L de GA3 para las condiciones de incubación a 21°C con un fotoperiodo de 8 horas de oscuridad y 16 de luz.

Se puede evidenciar que el GA3 influye positivamente en la velocidad de germinación. El tratamiento de 4 mg/L de concentración de GA3 logró interrumpir la latencia de las semillas a la tercera semana en comparación de las semillas con el tratamiento de 2 mg/L de concentración de GA3 que la primera interrupción de la latencia de las semillas fue a la cuarta semana (Figura 14).

Capítulo V: Discusión

Los páramos andinos, a pesar de sus condiciones extremas, albergan una biodiversidad única con influencias regionales y globales cruciales, vital para aspectos agrícolas e hídricos en la sierra ecuatoriana (Grubb *et al.*, 2020). La conservación de estos ecosistemas enfrenta retos ecológicos y económicos, destacando el papel de las comunidades locales en su resiliencia (Kleier & Rundel, 2004). Las especies endémicas adaptadas, como las plantas almohadillas como *Azorella pedunculata*, son fundamentales en el ecosistema, creando microhábitats y reservas hídricas (Peyre *et al.*, 2018). Aunque estas especies endémicas están amenazadas por el cambio climático y actividades humanas (minería, ganadería, agricultura), proyectos como HANS-BANK y la colaboración con las comunidades son cruciales para la restauración y conservación del páramo.

La recolección del material vegetal constituye una fase crucial en las investigaciones botánicas. Más allá de brindar datos sobre la ubicación de la muestra, esta etapa es vital para asegurar la representatividad y calidad de las muestras. Estos aspectos tienen un impacto directo en la exactitud y confiabilidad de los resultados obtenidos en las siguientes etapas del estudio (ISTA, 2016). Inicialmente para el presente trabajo ubicó individuos de *Azorella pedunculata*, en los Parques Nacionales Cayambe Coca y Antisana. La elección de estas áreas está respaldada y sugerida por fichas descriptivas de la especie *Azorella pedunculata* encontradas en el Herbario Nacional del Ecuador (QCNE) que es parte del Instituto Nacional de Biodiversidad (INABIO) y su respectiva revisión bibliográfica.

La documentación fotográfica de las muestras con datos de ubicación, tiempo y fecha, respalda la trazabilidad y autenticidad de las muestras, lo que es esencial para garantizar la reproducción de la recolección de muestras de esta misma especie (Milivojevic *et al.*, 2018). El transporte adecuado de las muestras selladas y etiquetadas al laboratorio es crucial para evitar contaminación y daño (Milivojevic *et al.*, 2018). El uso de fundas de papel etiquetadas con información relevante, como el nombre de la especie, la ubicación de recolección y la fecha,

garantiza la trazabilidad y la coherencia en el manejo del material vegetal. Estos pasos, respaldados por protocolos establecidos por el ISTA (2016), el proyecto BIOGEEC y guías como la ficha de campo, enriquecen la credibilidad y la validez de los datos recopilados. Seguir estos parámetros de recolección nos ayudó a entender la fenología de la planta, su ciclo y distribución. Se pudo corroborar que la planta crece entre los 3500 y 4150 m.s.n.m. y así establecer puntos de recolección específicos, datos.

La selección aleatoria de semillas tanto de color verde como café de pedúnculos maduros constituye un enfoque crucial para garantizar la representatividad a diferentes etapas de desarrollo y condiciones fisiológicas. La mera evaluación de la madurez de una semilla basada únicamente en su color puede ser engañosa, ya que factores como el tiempo de recolección y la genética individual pueden influir en su estado fisiológico (Jaimes Albíter *et al.*, 2014). Este enfoque en la recolección de semillas de *Azorella pedunculata* busca minimizar los sesgos y asegurar que las muestras sean verdaderamente representativas de la población en cuestión. Considerando que la madurez de las semillas no es un rasgo exclusivo del color, sino que también involucra factores internos como la acumulación de nutrientes y la viabilidad del embrión (Fernández & Calviño, 2019). Al incorporar este enfoque, el estudio se vuelve más sólido y confiable, lo que contribuye a una interpretación más precisa de los resultados de viabilidad obtenidos.

Caracterización morfológica

La estructura interna de las semillas es clave para entender su desarrollo y, por ende, su germinación (Calviño *et al.*, 2016). La morfología de las semillas tiene implicaciones directas en su viabilidad y su capacidad para germinar (Irazábal Morales, 2016). Un análisis detallado de la morfología interna de las semillas proporciona información valiosa sobre las adaptaciones de la semilla a su entorno y los factores que pueden influir en su germinación (BOOCHS *et al.*, 1990). En este estudio, el comprender la ubicación y forma del embrión, así como las capas que lo protegen, es esencial para diseñar protocolos que no afecten su viabilidad. El embrión al estar ubicado en la parte

basal de la semilla y al estar rodeado completamente por un endospermo compacto, métodos como la escarificación química o desinfección no dañan su integridad ni afectan su capacidad para germinar, tal como respaldan investigaciones en la misma familia.

La testa en gran parte de semillas de la familia Apiaceae es de tipo oleica, la cual se identifica por su notable brillo exterior (Walck *et al.*, 2002). Estos aceites que recubren a la semilla le permiten una mayor resistencia a la pérdida de agua, en el páramo este mecanismo sirve como una adaptación esencial, ya que en el trópico ecuatorial y en zonas abiertas como la de los bofedales existe mayor radiación y el agua superficial es propensas a la evaporación (Baskin *et al.*, 2000). La testa de *Azorella pedunculata* es bastante delgada, pero al estar recubierta de esta capa oleica no sólo ofrece resistencia a la pérdida de humedad interior de la semilla, sino que también puede contribuir a la protección del embrión y el endospermo contra factores adversos del entorno como la radiación, lo que podría influir en su capacidad de germinación y supervivencia en estas condiciones desafiantes del páramo, así como en su conservación *ex situ*.

Las dimensiones de las semillas (longitud, ancho y grosor), desempeñan un papel crucial en la presente investigación, ya que estos parámetros pueden proporcionar información valiosa acerca de cómo la morfología de la semilla influye en la viabilidad y germinación de las mismas (Funes *et al.*, 1999). La extensa variabilidad de las dimensiones morfológicas así como el color de las semillas dentro de la misma especie no siempre se relaciona con madurez de la misma si no de las adaptaciones que tiene la semilla ante los diversos factores externos (Balbino *et al.*, 2021). En el presente estudio, las semillas de *Azorella pedunculata*, fueron separadas en dos grupos experimentales; semillas verdes y semillas cafés, para determinar diferencias significativas en su morfología, los resultados para las semillas verdes en altura, ancho y grosor resumidas en la Tabla 6 fueron comparadas con los resultados de las semillas cafés demostrando diferencias significativas, lo concluyó en mantener estos dos grupos para los ensayos de viabilidad.

El contenido de humedad en las semillas de *Azorella pedunculata* desempeña un rol crítico al influir en su longevidad, estado fisiológico y capacidad germinativa (Scholten *et al.*, 2009). Los datos obtenidos revelaron que tanto las semillas verdes como las semillas cafés presentaban niveles de humedad casi idénticos en todas las repeticiones, con un promedio de $13.263 \pm 2.1398\%$ de humedad en peso. Si bien la familia Apiaceae caracteriza a la mayoría de sus semillas como ortodoxas, con contenido de humedad inferior al 5%, las semillas que no cumplen esta característica se denominan recalcitrantes (Magnitskiy & Plaza, 2007). Estudios en semillas oleaginosas o que se adaptan a cambios extremos de temperatura, como los de Ellis *et al.*, (1991) y Pastrana-Ignes *et al.*, (2023), definen como semillas intermedias a aquellas con un contenido de humedad entre 8% y 20%, siendo más fáciles de conservar que las recalcitrantes pero que presentan pérdida de viabilidad en períodos prolongados. (Carrillo & Rucabado, 2021). El nivel de humedad registrado en las semillas de *Azorella pedunculata* indica que son de tipo intermedio, sugiriendo su potencial conservación a largo plazo mediante métodos de criogenización para evitar su pérdida de viabilidad.

Viabilidad

La viabilidad de las semillas está directamente relacionada con la integridad de sus estructuras internas y la presencia de reservas nutritivas suficientes para el crecimiento inicial de la plántula (Jaimes Albíter *et al.*, 2014). Para determinar la viabilidad de las semillas de *Azorella pedunculata*, se utilizó la prueba de tetrazolio en los dos grupos de semillas, semillas verdes y semillas cafés para un total de 240 semillas. Esta prueba se basa en la capacidad del tetrazolio, para ser reducido por las enzimas metabólicas presentes en las células viables, que resultan en la formación de un producto de color rojo carmesí en las células vivas (Tanke *et al.*, 2019). A cada grupo se les sometió a dos concentraciones distintas de tetrazolio (0.5% y 1%), al realizar la prueba Tukey con una confianza del 95% mostró que no existen diferencias significativas en los tratamientos, ni en el tipo de semilla usada, aunque la media de los resultados sea menor al 0.5% que al 1% su efectividad solo se basa en el tiempo que tarda en reaccionar el tetrazolio diluido en los

distintos grupos experimentales, por lo cual se opta reunir en un solo grupo experimental para los ensayos de germinación.

Capacidad Germinativa

En los tratamientos de 1%, 3% y 5% de concentración de hipoclorito de sodio se encontró contaminación bacteriana y fúngica como se observa en la Figura 9. Estas especies contaminantes no fueron caracterizadas, estudios de cultivo *in vitro* en la familia Apiaceae como el de Randeniya & de Groot, (2015), Detallan que los contaminantes bacterianos más comunes en el cultivo *in vitro* en medio MS son del género *Agrobacterium*. Por otro lado, estudios de propagación de especies vegetales como el de Hribljan *et al.*, (2016) señala que los contaminantes fúngicos más comunes en el cultivo *in vitro* son hongos filamentosos del género *Aspergillus*. Ya que se encontró contaminación para los tratamientos de 1%, 3% y 5% de concentración de hipoclorito de sodio se descartan como parte de la estandarización del ensayo de germinación.

El tiempo de contacto de las semillas con el hipoclorito de sodio es crucial en la estandarización de protocolos de desinfección, mantener la concentración del agente desinfectante, pero utilizar distintos tiempos de contacto puede influir positiva o negativamente en los resultados de la estandarización para un protocolo de desinfección (Ding *et al.*, 2013). Una elevada concentración del agente desinfectante puede oxidar o reaccionar negativamente en la viabilidad del embrión (Kim *et al.*, 2022). En los resultados obtenidos para la concentración de 7% de hipoclorito de sodio durante 7 min no se evidenció oxidación de la semilla. Para este tratamiento no existió crecimiento de agentes fúngicos o bacterianos por lo cual se optó por usar este tratamiento para la desinfección en el ensayo de germinación.

El medio basal MS posee muchas sales nutritivas para estimular el crecimiento, aportando nutrientes en el medio, en cultivo *in vitro* las sales del medio MS pueden oxidar o deshidratar a la semilla (Patel & Mankad, 2014). Como expone Ding *et al.*, (2013) en sus ensayos para semillas de la

familia Apiaceae se reduce la concentración de las sales MS a 1/2, 1/3 y 1/4, evidenciando mejores resultados en 1/3 y 1/4 de concentración de sales del medio basal MS. En base a estos resultados de estudios previos para semillas de la misma familia que *Azorella pedunculata* se optó por emplear un medio MS 1/4 para evitar la oxidación de las semillas y generando en lo posible, un medio óptimo para su germinación teniendo en cuenta que la concentración de sales del medio aumentaría dependiendo de la concentración de GA3.

La inclusión de una estratificación de temperatura, exponiendo las semillas a temperaturas más bajas durante los primeros 21 días simula las condiciones a las que las semillas pueden estar expuestas en su entorno nativo, donde las temperaturas fluctúan (Sandoval *et al.*, 2009). Los resultados de germinación de las semillas estratificadas a la sexta semana son nulos, no se han reportado cambios como ruptura de testa o germinación. Como indica Ledezma *et al.*, (2022) la estratificación no sólo debería simular las condiciones del entorno nativo(Sandoval *et al.*, 2009), también debe servir como un shock térmico para que la semilla rompa su latencia, donde el rango del cambio de temperatura deberá ser un cambio relevante para la semilla de otro modo se puede inducir dormancia o pérdida de su viabilidad. En condiciones naturales las semillas de *Azorella pedunculata* se ven expuestas a temperaturas por debajo de 0° C (Díaz *et al.*, 2005). Aunque el cambio de 4°C a 21°C representa fluctuaciones ambientales para las semillas de *Azorella pedunculata*. Es posible que este cambio de temperatura no sea representativo para generar un shock térmico en las semillas de *Azorella pedunculata*. Por esta razón no se logró romper la latencia de las semillas.

Las semillas con un alto índice de latencia poseen impedimentos para su germinación, la cual se puede ver afectada al sacarla de su entorno y condiciones ambientales normales a la que está adaptada, debido a esto en germinación *in vitro* se emplea hormonas de crecimiento como giberelinas para interrumpir la latencia (Gutiérrez *et al.*, 2011). En el estudio de las semillas de *Azorella pedunculata* se emplea dos concentraciones de GA3 (2 y 4 mg/L) en las condiciones de

incubación a 21°C, a la sexta semana de la toma de datos el porcentaje de germinación para ambos grupos experimentales fue del 10%. La eficacia de la concentración de GA3 se puede ver reflejada en la velocidad de germinación ya que el tratamiento con 4 mg/L, fue el primer tratamiento en obtener resultados de germinación a la tercera semana ya que la familia Apiaceae tiene un rango de germinación que va desde las 4 hasta las 12 semanas desde la siembra Atia *et al.*, (2009). El tratamiento con 2 mg/L de GA3 no influyó en la velocidad de germinación, pero sí en la interrupción de la latencia de las semillas. Ya que las semillas germinadas hasta la sexta semana no interrumpieron su latencia de manera paralela, y que las semillas de la familia Apiaceae tienen un rango de germinación (Atia *et al.*, 2009) aún se pueden esperar resultados positivos hasta la semana 12 desde la siembra de las semillas de *Azorella pedunculata*.

Capítulo VI: Conclusiones

El propósito del presente trabajo fue caracterizar parámetros morfológicos y germinativos de semillas de plantas de almohadillas de la familia Apiaceae en bosques andinos del Ecuador, se estableció como especie de estudio a *Azorella pedunculata* (Spreng.) Mathias & Constance. A partir de la recolección del material vegetal, los ensayos de caracterización morfológica, viabilidad y germinación *in vitro* realizados a las semillas de *Azorella pedunculata* se puede concluir lo siguiente:

La recolección de manera aleatoria de las semillas y de material vegetal de *Azorella pedunculata* en diferentes zonas del páramo ecuatoriano permitió la elaboración de una ficha técnica con datos relacionados a su fenología, distribución y morfología de la especie que constituyen información esencial para el registro de esta especie en el banco de semillas HANS-BANK.

Las semillas de *Azorella pedunculata* son ovoides con punta apical de color verde o café, su testa es delgada de tipo oleica, contienen un embrión alargado, basal y presentan endospermo escaso y rígido que rodea al embrión, estas protecciones ayudan a la semilla a resistir bajo dormancia temperaturas extremas de frío que pueden alargar el tiempo de dormancia.

Para las dimensiones de *Azorella pedunculata* se encontró diferencias significativas entre las semillas verdes y las cafés, el valor de las dimensiones en las semillas café para largo ancho y grosor fueron 2.0951 ± 0.18 , 1.32749 ± 0.14 , 0.3899 ± 0.064 respectivamente y mayores a los obtenidos para las semillas verdes. El valor promedio obtenido para el peso fue 1.418 ± 0.02 mg, mientras que el contenido de humedad fue de $13.263 \pm 2.13\%$. Estos resultados nos indican que las semillas de esta especie presentan un comportamiento intermedio para su contenido de humedad en peso.

El tratamiento del ensayo de viabilidad de semillas verdes y semillas cafés de la especie *Azorella pedunculata* indicó que la viabilidad de la semilla no difiere a su color obteniendo un valor de viabilidad de la especie de $14.583 \pm 5.3033 \%$.

El mejor tratamiento para la desinfección de las semillas de *Azorella pedunculata* fue sumergir las semillas por 7 minutos en una solución de NaClO al 7%, pues para este tratamiento no se observó contaminación de agentes fúngicos o bacterianos.

El tratamiento más efectivo en los parámetros germinativos de *Azorella pedunculata* fue a una temperatura de 21 °C y un medio de cultivo MS ¼ suplementado con 4 mg/L de GA3, ya que permitieron la germinación del 10% de las semillas a una velocidad superior que las suplementadas con 2 mg/L de GA3.

El porcentaje de viabilidad analizado para *Azorella pedunculata* corresponde al porcentaje de germinación obtenido para los tratamientos de las semillas a 21°C sin estratificación.

La caracterización morfológica, los ensayos de viabilidad y la germinación *in vitro* permitieron establecer que las semillas de *Azorella pedunculata* son aptas para ser conservadas en el banco de germoplasma HANS-BANK y pueden emplearse para programas de restauración ecológica en los bosques y páramos andinos del Ecuador.

Capítulo VII: Recomendaciones

Se recomienda analizar en campo el ciclo anual de la planta para tener un conocimiento más amplio de los meses de reproducción y de latencia de las semillas de *Azorella pedunculata*.

En el ensayo del contenido de humedad para las semillas de *Azorella pedunculata* se recomienda utilizar material reciente o ser almacenados como máximo 2 días según bibliografía.

En la germinación in vitro de las semillas de *Azorella pedunculata* se recomienda analizar más concentraciones de GA3 para aumentar la velocidad de germinación.

Capítulo VIII: Bibliografía

- Abdul-Baki, Aref. A., & Moore, G. M. (1979). SEED DISINFECTION WITH HYPOCHLORITES: A Selected Literature Review of Hypochlorite Chemistry and Definition of Terms. *Journal of Seed Technology*, 4(1), 43-56.
- Aguirre Mendoza, Z., Quizhpe C., W., & Pinza, D. (2018). Estimation of accumulated carbon in a permanent plot of Andean forest in the Francisco Vivar Castro university ark, Loja, Ecuador. *Arnaldoa*, 25(3), 939-952.
- Amiri, M. S., & Joharchi, M. R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(6), 621-635.
- Anthelme, F. (2015). *Ecosistemas y plantas altoandinos de la Cordillera Real: Únicos y fragiles* (pp. 17-30).
- Atia, A., Debez, A., Barhoumi, Z., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2009). ABA, GA3, and nitrate may control seed germination of *Crithmum maritimum* (Apiaceae) under saline conditions. *Comptes Rendus Biologies*, 332(8), 704-710. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2009.03.009>
- Balbino, S., Repajić, M., Obranović, M., Medved, A. M., Tonković, P., & Dragović-Uzelac, V. (2021). Characterization of lipid fraction of Apiaceae family seed spices: Impact of species and extraction method. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25, 100326. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100326>
- Balduzzi, M., Binder, B. M., Bucksch, A., Chang, C., Hong, L., Iyer-Pascuzzi, A. S., Pradal, C., & Sparks, E. E. (2017). Reshaping Plant Biology: Qualitative and Quantitative Descriptors for Plant Morphology. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.00117>
- Banegas, J. A. (2018). *Propuestas alternativas a la minería en Río Blanco – Ecuador*.
- Baskin, C. C., Milberg, P., Andersson, L., & Baskin, J. M. (2000). Deep complex morphophysiological dormancy in seeds of *Anthriscus sylvestris* (Apiaceae). *Flora*, 195(3), 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30977-5](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30977-5)

- Basu, R. N. (1995). Seed Viability. En *Seed Quality*. CRC Press.
- Beltran, K., Salgado, S., Cuesta, F., León Yáñez, S., Romoleroux, K., Ortiz, E., Cárdenas, A., & Velástegui, A. (2023). *Distribución espacial, sistemas ecológicos y caracterización florística de los páramos en el Ecuador*.
- BOOCHS, F., KUPFER, G., DOCKTER, K., & KÜHBAUCH, W. (1990). Shape of the red edge as vitality indicator for plants. *International Journal of Remote Sensing*, 11(10), 1741-1753.
<https://doi.org/10.1080/01431169008955127>
- Bussmann, R. W. (2005). *Bosques andinos del sur de Ecuador, clasificación, regeneración y uso*.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1727-99332005000200006
- Buytaert, W., Célleri, R., De Bièvre, B., & Cisneros, F. (2023). *HIDROLOGÍA DEL PÁRAMO ANDINO: PROPIEDADES, IMPORTANCIA Y VULNERABILIDAD*.
- Calviño, C. I., Fernández, M., & Martínez, S. G. (2016). Las Especies de Azorella (Azorelloideae, Apiaceae) con distribución extra-Argentina. *Darwiniana, nueva serie*, 4(1), 57-82.
- Capó, Y. A. (2000). *Control y prevención de la contaminación microbiana en la micropropagación de plantas* | *Revista CENIC Ciencias Biológicas*.
<https://revista.cnic.cu/index.php/RevBiol/article/view/1364>
- Carrillo, F., & Rucabado, A. L. (2021). EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE SEMILLAS DE SACHA INCHI *Plukenetia volubilis* L. Conservadas a 4°C. *Anales Científicos*, 82(2), Article 2.
<https://doi.org/10.21704/ac.v82i2.1793>
- Carrillo-Perdomo, E., Aller, A., Cruz-Quintana, S. M., Giampieri, F., & Alvarez-Suarez, J. M. (2015). Andean berries from Ecuador: A review on Botany, Agronomy, Chemistry and Health Potential. *Journal of Berry Research*, 5(2), 49-69. <https://doi.org/10.3233/JBR-140093>
- Castro Mantilla, M. I. (2019). *Influencia de Azorella aretioides (Kunth) Willd. Ex DC. (Apiaceae) y Xenophyllum rigidum (Kunth) V.A. Funk (Asteraceae) en el ensamblaje comunitario de plantas alto andinas, a lo largo de un gradiente altitudinal en la cara noroccidental del Volcán Antisana*. PUCE-Quito.

- Cevallos Guacapiña, S. D. (2022). *Repositorio Digital: Composición y cobertura florística del páramo del Antisana en dos diferentes estados de conservación: Páramo conservado y sobrepastoreado*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/26746>
- Chuncho, G. (2019). *Páramos del Ecuador, importancia y afectaciones: Una revisión*. 9, 71-83.
- Cox, J., Bhatia, P., & Ashwath, N. (2003). In vitro spore germination of the fern *Schizaea dichotoma*. *Scientia Horticulturae*, 97(3), 369-378. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00152-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00152-8)
- Crispin Cunya, M. (2015). Valoración económica ambiental de los bofedales del distrito de Pilpichaca Huancavelica Perú. *Universidad Nacional Agraria La Molina*. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/1584>
- Curipoma, S., Cevallos, D., & Pérez, Á. J. (2018). Composición y estructura florística de dos remanentes de Bosque Andino Montano Alto en el volcán Ilaló, Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 39(2), Article 2. <https://doi.org/10.26807/remcb.v39i2.648>
- De Vitis, M., Hay, F. R., Dickie, J. B., Trivedi, C., Choi, J., & Fiegner, R. (2020). Seed storage: Maintaining seed viability and vigor for restoration use. *Restoration Ecology*, 28(S3), S249-S255. <https://doi.org/10.1111/rec.13174>
- Díaz-Granados Ortiz, M. A., Navarrete González, J. D., & Suárez López, T. (2005). Páramos: Hidrosistemas Sensibles. *Revista de Ingeniería*, 22, 64-75.
- Ding, H., Fu, T.-J., & Smith, M. A. (2013). Microbial Contamination in Sprouts: How Effective Is Seed Disinfection Treatment? *Journal of Food Science*, 78(4), R495-R501. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12064>
- Duarte Sánchez, I. R. (2018). *Restauración ecológica en turberas de páramos y ecosistemas alpinos, una revisión mundial para la aplicación de enfoques y técnicas en Colombia*. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.10554.38813>
- Dürr, C., Dickie, J. B., Yang, X.-Y., & Pritchard, H. W. (2015). Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: Contribution to a seed trait

database. *Agricultural and Forest Meteorology*, 200, 222-232.

<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.09.024>

ELLIS, R. H., HONG, T. D., & ROBERTS, E. H. (1991). An Intermediate Category of Seed Storage Behaviour? II. EFFECTS OF PROVENANCE, IMMATURITY, AND IMBIBITION ON DESICCATION-TOLERANCE IN COFFEE. *Journal of Experimental Botany*, 42(5), 653-657.

<https://doi.org/10.1093/jxb/42.5.653>

Farinango Colcha, J. A., & López Jácome, T. E. (2022). *Evaluación de una estrategia de biorremediación de suelos de páramo afectados por incendio mediante consorcios de microorganismos nativos del Parque Nacional Cayambe Coca* [bachelorThesis].

<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/13309>

Fernández Fernández, D., Ulloa, C., Palacios, W., Freire, E., Peñafiel Cevallos, M., Cuamacás, B., Unda, M., Rea, E., Haro, M., Herrera, V., & Obando-Tello, B. (2015). *Plantas de los Páramos del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador*.

Fernández, M., & Calviño, C. I. (2019). NUEVA CLASIFICACIÓN INFRAGENÉRICA DE AZORELLA (APIACEAE, AZORELLOIDEAE) Y SINOPSIS DEL SUBGÉNERO ANDINAE. *Darwiniana, nueva serie*, 7(2), 289-304. <https://doi.org/10.14522/darwiniana.2019.72.849>

França-Neto, J. de B., & Krzyzanowski, F. C. (2019). Tetrazolium: An important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science*, 41, 359-366. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3223104>

Funes, G., Basconcelo, S., Díaz, S., & Cabido, M. (1999). Seed size and shape are good predictors of seed persistence in soil in temperate mountain grasslands of Argentina. *Seed Science Research*, 9(4), 341-345. <https://doi.org/10.1017/S0960258599000355>

Giné, D. S., & Sánchez, R. G. (2015). El páramo andino: Características territoriales y estado ambiental. Aportes interdisciplinarios para su conocimiento. *Estudios Geográficos*, 76(278), Article 278. <https://doi.org/10.3989/estgeogr.201513>

- Gómez, A., José, H. M., Álvaro, & Alexander, R. E., Camilo. (2017). *La minería en páramos, humedales y reservas forestales*. Editorial Universidad del Rosario.
- Grubb, P., Lloyd, J., Pennington, T., & Paez-Bimos, S. (2020). A historical baseline study of the páramo of Antisana in the Ecuadorian Andes including the impacts of burning, grazing and trampling. *Plant Ecology & Diversity*, 13, 1-32.
<https://doi.org/10.1080/17550874.2020.1819464>
- Gutiérrez, M. I., Miranda, D., & Cárdenas-Hernández, J. F. (2011). Efecto de tratamientos pregerminativos sobre la germinación de semillas de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y cholupa (*Passiflora maliformis* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(2), 209-219.
- Guzmán, C. L., & Esquivel, H. E. (2017). *Diversidad y claves de los musgos del páramo de Anaime, Cajamarca (Tolima-Colombia) | REVISTA DE LA ASOCIACION COLOMBIANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS*. <https://revistaacsb.org/r/index.php/acsb/article/view/123>
- Hassanisaadi, M., Barani, M., Rahdar, A., Heidary, M., Thysiadou, A., & Kyzas, G. Z. (2022). Role of agrochemical-based nanomaterials in plants: Biotic and abiotic stress with germination improvement of seeds. *Plant Growth Regulation*, 97(2), 375-418.
<https://doi.org/10.1007/s10725-021-00782-w>
- Heberling, J. M., Prather, L. A., & Tonsor, S. J. (2019). The Changing Uses of Herbarium Data in an Era of Global Change: An Overview Using Automated Content Analysis. *BioScience*, 69(10), 812-822. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz094>
- Hribljan, J. A., Suárez, E., Heckman, K. A., Lilleskov, E. A., & Chimner, R. A. (2016). Peatland carbon stocks and accumulation rates in the Ecuadorian páramo. *Wetlands Ecology and Management*, 24(2), 113-127. <https://doi.org/10.1007/s11273-016-9482-2>
- Hunter, E. A., Glasbey, C. A., & Naylor, R. E. L. (1984). The analysis of data from germination tests. *The Journal of Agricultural Science*, 102(1), 207-213.
<https://doi.org/10.1017/S0021859600041642>

- Irazábal Morales, R. J. (2016). *Efecto de las plantas en cojín sobre el ensamblaje comunitario en un gradiente altitudinal en el superpáramo del Antisana-Ecuador*. PUCE.
- Jaimes Albíter, C., García de los Santos, G., Carballo Carballo, A., Calderón Zavala, G., Jaimes Albíter, F., & Cuevas Sánchez, J. A. (2014). Tolerancia a la desecación en semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(5), 819-831.
- James, S. A., Soltis, P. S., Belbin, L., Chapman, A. D., Nelson, G., Paul, D. L., & Collins, M. (2018). Herbarium data: Global biodiversity and societal botanical needs for novel research. *Applications in Plant Sciences*, 6(2), e1024. <https://doi.org/10.1002/aps3.1024>
- Kim, M., Shim, C., Lee, J., & Wangchuk, C. (2022). Hot Water Treatment as Seed Disinfection Techniques for Organic and Eco-Friendly Environmental Agricultural Crop Cultivation. *Agriculture*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/agriculture12081081>
- Kleier, C., & Rundel, P. W. (2004). Microsite requirements, population structure and growth of the cushion plant *Azorella compacta* in the tropical Chilean Andes. *Austral Ecology*, 29(4), 461-470. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01386.x>
- Koch, K., Bhushan, B., & Barthlott, W. (2008). Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces. *Soft Matter*, 4(10), 1943-1963. <https://doi.org/10.1039/B804854A>
- Larriva Carrasco, G. A. (2020). *Transporte de carbono orgánico disuelto (DOC) en turberas de páramo del norte de Ecuador* [bachelorThesis, Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/9578>
- Ledezma, V. G., Valenzuela, J. E. P., & Coronado, M. A. G. (2022). Estratificación e incubación: ¿imprescindibles para la germinación de la nuez pecán? *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 11(22), Article 22. <https://doi.org/10.23913/ciba.v11i22.114>
- Llambí, L. D., Becerra, M. T., Peralvo, M., Avella, A., Baruffol, M., & Díaz, L. J. (2019). Monitoring Biodiversity and Ecosystem Services in Colombia's High Andean Ecosystems: Toward an

- Integrated Strategy. *Mountain Research and Development*, 39(3), A8.
<https://doi.org/10.1659/MRD-JOURNAL-D-19-00020.1>
- Lucena, I. D., Novara, L., & Cuezco (h.), A. R. (2001). Apiaceae. *Aportes Botánicos de Salta - Serie Flora*, 6(11), Article 11.
- Magnitskiy, S., & Plaza, G. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 96-103.
- Martinez, S. (1993). Sinopsis Del Genero Azorella (apiaceae, Hydrocotyloideae). *Darwiniana*, 32(1/4), 171-184.
- Milivojevic, M., Ripka, Z., & Petrovic, T. (2018). ISTA rules changes in seed germination testing at the beginning of the 21st century. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 22, 40-45.
<https://doi.org/10.5937/JPEA1801040M>
- Páez-Bimos, S., Vanacker, V., Villacís, M., Morales, O., Calispa, M., Salgado, S., Delmelle, P., & Molina, A. (2020). *Impact of vegetation species on soil pore system and soil hydraulic properties in the high Andes* [Other]. oral. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-6284>
- Pastrana-Ignes, V., Giamminola, E. M., Rivero, M. V., Álvarez, A., Malagrina, G., Galíndez, G., & Ortega-Baes, P. (2023). Comportamiento Durante El Almacenamiento Y Longevidad Potencial En Semillas De Cuatro Especies De Árboles Nativos De Argentina. *Darwiniana*, 11(1), 390-401.
- Patel, R., & Mankad, A. (2014). In Vitro Pollen Germination -A Review. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 358.
- Pérez-Martínez, L. V., Velasco-Linares, P., Alpala, L., Angulo, A., Calderón, M., Nieves de la Hoz, L., Martínez, L. M., Ospina, G. A., Palencia, M. A., Pérez, M., Pérez, S., Revelo, E., Rivera Varón, F., & Vela Morales, A. (2021). *Viveros de páramo para la restauración ecológica*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
<http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/35751>

Peyre, G., Balslev, H., & Font, X. (2018). Phytoregionalisation of the Andean páramo. *PeerJ*, 6, e4786.

<https://doi.org/10.7717/peerj.4786>

Pujasatria, G. C., Miura, C., & Kaminaka, H. (2020). In Vitro Symbiotic Germination: A Revitalized

Heuristic Approach for Orchid Species Conservation. *Plants*, 9(12), Article 12.

<https://doi.org/10.3390/plants9121742>

Que, F., Hou, X.-L., Wang, G.-L., Xu, Z.-S., Tan, G.-F., Li, T., Wang, Y.-H., Khadr, A., & Xiong, A.-S.

(2019). Advances in research on the carrot, an important root vegetable in the Apiaceae family. *Horticulture Research*, 6, 69. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0150-6>

Randeniya, L. K., & de Groot, G. J. J. B. (2015). Non-Thermal Plasma Treatment of Agricultural Seeds

for Stimulation of Germination, Removal of Surface Contamination and Other Benefits: A Review. *Plasma Processes and Polymers*, 12(7), 608-623.

<https://doi.org/10.1002/ppap.201500042>

Rangel, J., & Pinto-Zárate, J. (2012). Colombian Páramo Vegetation Database (CPVD) – The database

on high Andean páramo vegetation in Colombia. *Biodiversity & Ecology*, 4, 275-286.

<https://doi.org/10.7809/b-e.00084>

Romero-Saritama, J. M. (2016). Caracterización morfofisiológica de semillas de especies leñosas

distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur del Ecuador: *Ecosistemas*, 25(2), Article 2. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2016.25-2.12>

Sandoval, A., Silva, S. I., Rosas, M., Acosta, M., & León-Lobos, P. (s. f.). *GERMINACIÓN Y*

CRECIMIENTO DE Laretia acaulis (Apiaceae), UN RECURSO GENÉTICO DE LA CORDILLERA DE LOS ANDES DE CHILE CENTRAL.

Sawma, J. T., & Mohler, C. L. (2002). Evaluating Seed Viability by an Unimbibed Seed Crush Test in

Comparison with the Tetrazolium Test. *Weed Technology*, 16(4), 781-786.

[https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2002\)016\[0781:ESVBAU\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2002)016[0781:ESVBAU]2.0.CO;2)

- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., & Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products*, *109*, 661-671.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.027>
- Scholten, M., Donahue, J., Shaw, N. L., & Serpe, M. D. (2009). Environmental regulation of dormancy loss in seeds of *Lomatium dissectum* (Apiaceae). *Annals of Botany*, *103*(7), 1091-1101.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcp038>
- Soares, V. N., Elias, S. G., Gadotti, G. I., Garay, A. E., & Villela, F. A. (2016). Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species? *Crop Science*, *56*(2), 707-715. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.06.0399>
- Tanke, A., Müller, J., & de Mol, F. (2019). Seed Viability of *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae) Is Quickly Reduced at Temperatures Prevailing in Biogas Plants. *Agronomy*, *9*(6), Article 6.
<https://doi.org/10.3390/agronomy9060332>
- Valderrama, M. M., Buitrago, D., Bedoya, M. M., Benavides, J. C., Valderrama, M. M., Buitrago, D., Bedoya, M. M., & Benavides, J. C. (2017). Variación en los restos de macrofósiles y dinámica reciente en turberas de cojines de *Distichia muscoides* de la Sierra Nevada del Cocuy, Colombia. *Caldasia*, *39*(1), 79-90. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v39n1.64327>
- Valdivieso Enríquez, S. R. (2013). *Estudio de la disponibilidad de alimento y establecimiento de amenazas de extinción del cóndor andino (Vulturgrypus) en los páramos de la reserva ecológica Cotacachi—Cayapas y parque Nacional Cayambe—Coca* [bachelorThesis].
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/6923>
- Vandelook, F., Bolle, N., & Van Assche, J. A. (2007). Seed Dormancy and Germination of the European *Chaerophyllum temulum* (Apiaceae), a Member of a Trans-Atlantic Genus. *Annals of Botany*, *100*(2), 233-239. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm090>
- Vandelook, F., Janssens, S. B., & Probert, R. J. (2012). Relative embryo length as an adaptation to habitat and life cycle in Apiaceae. *New Phytologist*, *195*(2), 479-487.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04172.x>

- Vega Trávez, A. L. (2017). *Análisis de la concentración de carbono y composición vegetal en humedales de páramo altoandinos en una gradiente altitudinal en el Parque Nacional Cayambe Coca* [bachelorThesis, Quito: USFQ, 2017].
<http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/6474>
- Victoria T, J. A., Bonilla C, C. R., & Sánchez O, M. S. (2007). Morfoanatomía y efecto del secado en la germinación de semillas de caléndula y eneldo. *Acta Agronómica*, 56(2), 61-68.
- Walck, J. L., Hidayati, S. N., & Okagami, N. (2002). Seed germination ecophysiology of the Asian species *Osmorhiza aristata* (Apiaceae): Comparison with its North American congeners and implications for evolution of types of dormancy. *American Journal of Botany*, 89(5), 829-835.
<https://doi.org/10.3732/ajb.89.5.829>
- Wang, X.-J., Luo, Q., Li, T., Meng, P.-H., Pu, Y.-T., Liu, J.-X., Zhang, J., Liu, H., Tan, G.-F., & Xiong, A.-S. (2022). Origin, evolution, breeding, and omics of Apiaceae: A family of vegetables and medicinal plants. *Horticulture Research*, 9, uhac076. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>
- Willis, C. G., Ellwood, E. R., Primack, R. B., Davis, C. C., Pearson, K. D., Gallinat, A. S., Yost, J. M., Nelson, G., Mazer, S. J., Rossington, N. L., Sparks, T. H., & Soltis, P. S. (2017). Old Plants, New Tricks: Phenological Research Using Herbarium Specimens. *Trends in Ecology & Evolution*, 32(7), 531-546. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.03.015>
- Xia, Y., Xu, Y., Li, J., Zhang, C., & Fan, S. (2019). Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 1, 35-47. <https://doi.org/10.1016/j.aiia.2019.05.001>

Apéndices