



UNIVERSIDAD DEL AZUAY

FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y GESTIÓN

Ecología de germinación de *Morella* sp., enfocada a la propagación y restauración de ecosistemas

Trabajo de Graduación previo a la obtención del título de:

BIÓLOGA CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN

Autora:

DIANA ESTEFANÍA INGA ZUMBA

Director:

ANTONIO MANUEL CRESPO AMPUDIA

CUENCA, ECUADOR

2017

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Antonio Crespo por su apoyo, paciencia y confianza depositada en mi persona de manera desinteresada, así como su aporte en mi formación profesional y académica al aceptar ser el Director de este trabajo de graduación. A los miembros del Tribunal: Dra. Raffaella Ansaloni y Blgo. Danilo Minga por el soporte científico en esta investigación.

A mis padres Malú y René, gracias por su esfuerzo, motivación y constancia, que formaron no sólo una profesional, sino un ser humano con valores y principios impulsándome a ser cada día la mejor. Gracias porque su perseverancia y dedicación a lo largo de mi vida han dado éxitos, este logro es para Ustedes.

A Paulina, Javier y Joaquín por la comprensión en los días de desesperación. Así como a mi compañera, que ha estado pendiente de mí y los logros alcanzados, mi Carmelita.

Agradecer a mi amiga y hermana incondicional Karla Pintado, por sus ánimos, sonrisas y locuras durante la montaña rusa que se ha convertido esta etapa universitaria y en el desarrollo de esta investigación. Los aprendizajes cotidianos se convirtieron en un diario vivir formando un equipo sólido y sonriente todo terreno. Te quiero amiga.

Gracias a Francisco Neira, Gabriela Mogrovejo, Marcela Sánchez, Boris Landázuri y Henry Garzón por su amistad sincera e incondicional en ciertos días de paranoia. Además, quiero expresar mi gratitud a todos los pasantes del Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas, por su ayuda desinteresada en la ejecución de los diferentes tratamientos aplicados para el desarrollo de este trabajo.

Finalmente, pero no menos importante a Dios, por las oportunidades y aprendizajes que se han ido presentando en mi vida; que han ayudado a formar un ser humano integral para los propósitos que vengan más adelante.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
1.1 Descripción de la especie	6
1.2 Sitios de Colección.....	7
1.3 Experimentos de Laboratorio	9
1.3.1 Peso de las Semillas	10
1.3.2 Efecto del endocarpo sobre semillas	10
1.3.3 Efecto de escarificación en semillas frescas	10
1.3.4 Efecto de almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses 111	11
1.3.5 Efecto del almacenamiento en semillas libres	12
1.3.6 Efecto de la escarificación en semillas almacenadas	12
1.3.7 Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo	13
1.3.8 Análisis Estadístico	14
CAPÍTULO II: RESULTADOS.....	15
2.1 Peso de las Semillas	15

2.2	Efecto del endocarpo sobre la semilla.....	15
2.3	Efecto de la Escarificación en semillas frescas	17
2.3.1	Escarificación química	17
2.3.2	Escarificación abrasiva.....	20
2.4	Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4,5,7 y 8 meses	22
2.5	Efecto del almacenamiento en semillas libres.....	25
2.6	Efecto de la escarificación en semillas almacenadas	28
2.6.1	Escarificaión en semillas almacenadas durante 4 meses.....	28
2.6.2	Escarificación en semillas almacenadas durante 8 meses.....	31
2.7	Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo	35
CAPÍTULO III: DISCUSIONES.....		37
3.1	Efecto del endocarpo sobre las semillas.....	37
3.2	Efecto de la escarificación en semillas frescas.....	37
3.2.1	Escarificación química	37
3.2.2	Escarificación abrasiva.....	38
3.3	Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4,5,7 y 8 meses	38
3.4	Efecto del almacenamiento en semillas libres.....	39
3.5	Efecto de la escarificación en semillas almacenadas	40
3.6	Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		42
BIBLIOGRAFÍA.....		44
ANEXO.....		51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1.1. Morfología de Frutos y Semillas de <i>Morella parvifolia</i>	7
Figura1.2. Sitios de Colección de semillas..	8
Figura 2. 1. Efecto del endocarpo sobre la semilla de <i>Morella parvifolia</i>	16
Figura 2.2. Efecto de la escarificación química en endocarpos frescos con semilla de <i>Morella parvifolia</i> sp.	18
Figura 2.3. Efecto de la escarificación abrasiva en endocarpos frescos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	21
Figura 2.4 Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses sobre endocarpos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	24
Figura 2.5. Efecto del almacenamiento en semillas libres de <i>Morella parvifolia</i>	27
Figura 2.6. Porcentaje de semillas viables, no viables y endocarpos vacíos de <i>Morella parvifolia</i>	28
Figura 2.7. E Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de <i>Morella parvifolia</i>	30
Figura 2.8. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de <i>Morella parvifolia</i>	33
Figura 2.9. Contenido de cera en el endocarpo de <i>Morella parvifolia</i>	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Tratamientos para identificar el efecto del endocarpo sobre semillas.	10
Tabla 1.2. Tratamientos para identificar el efecto de escarificación en semillas frescas..	11
Tabla 1.3. Tratamientos para identificar el efecto de la escarificación en semillas almacenadas.	13
Tabla 2.1. Efecto del endocarpo sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en endocarpos frescos con semillas de <i>Morella parvifolia</i>	17
Tabla 2.2. Efecto de la escarificación química sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en semillas frescas de <i>Morella parvifolia</i>	19
Tabla 2.3. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos frescos con semillas de <i>Morella parvifolia</i>	19
Tabla 2.4. Efecto de la escarificación abrasiva sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en endocarpos frescos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	22
Tabla 2.5. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de semillas frescas de <i>Morella parvifolia</i>	22
Tabla 2.6. Comparaciones entre los tratamientos aplicados a endocarpos con semilla almacenadas.	25
Tabla 2.7. Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio en endocarpos con semillas de <i>Morella parvifolia</i>	25
Tabla 2.8. Efecto del almacenamiento en semillas libre de <i>Morella parvifolia</i>	26
Tabla 2.9. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de semillas libres de <i>Morella parvifolia</i>	26
Tabla 2.10. Comparaciones entre los tratamientos de escarificación aplicados a endocarpos con semilla almacenadas durante 4 meses.	29

Tabla 2.11. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de <i>Morella parvifolia</i> sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4 meses	29
Tabla 2.12. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	31
Tabla 2.13. Comparaciones entre los tratamientos de escarificación aplicados a endocarpos con semilla almacenadas durante 8 meses.....	32
Tabla 2.14. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de <i>Morella parvifolia</i> sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 8 meses.....	34
Tabla 2.15. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	35

ÍNDICE DE ANEXOS

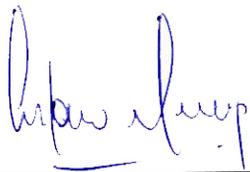
Anexo1. Tablas detalladas de germinación de <i>Morella parvifolia</i>	51
Anexo 1. Fotografías del tratamiento control aplicado a endocarpos con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	53
Anexo 2. Fotografías del tratamiento control aplicado a semillas frescas con endocarpo.....	54
Anexo 3. Fotografías del tratamiento control para semillas con endocarpo de <i>Morella parvifolia</i> con un período de almacenamiento de 4 meses.....	55
Anexo 4. Fotografías del tratamiento de semilla libre de <i>Morella parvifolia</i>	56
Anexo 5. Fotografías de la extracción de cera de endocarpo con semilla de <i>Morella parvifolia</i>	57

ECOLOGÍA DE GERMINACIÓN DE *Morella* sp., ENFOCADA A LA PROPAGACIÓN Y RESTAURACIÓN DE ECOSISTEMAS

RESUMEN

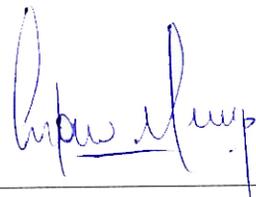
La presente investigación desarrolló protocolos de propagación de *Morella* sp., para determinar las respuestas temporales de imbibición y germinación frente a tratamientos de escarificación en condiciones controladas. Los datos de imbibición se analizaron mediante un ANOVA de una vía, mientras que los datos de germinación con un análisis de supervivencia (Kaplan-Meier). Los tratamientos aplicados a semillas de *Morella* sp., indicaron que el endocarpo es ligeramente permeable al agua. Los altos porcentajes de germinación se obtuvieron con la utilización de semillas frescas con endocarpo (66%) y semilla libre (32,66%); a diferencia de semillas almacenadas que tuvieron bajos porcentajes de germinación. Así, se recomienda el uso de semillas frescas con endocarpos para la propagación de la especie en condiciones controladas.

Palabras claves: Restauración, propagación, imbibición, germinación, endocarpo



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Director de Tesis



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Director de Escuela



Diana Estefanía Inga Zumba

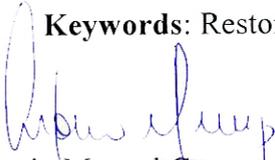
Autora

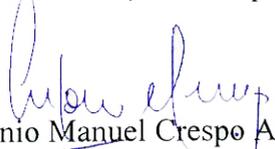
GERMINATION ECOLOGY OF *Morella sp.*, FOCUSED ON THE PROPAGATION AND RESTORATION OF ECOSYSTEMS

ABSTRACT

This research developed *Morella sp* propagation protocols in order to determine temporal responses of imbibition and germination against scarification treatments under controlled conditions. Imbibition data were analyzed using one-way ANOVA, whereas germination data were performed with a (Kaplan-Meier) survival analysis. The treatments applied to *Morella sp.*, seeds indicated that the endocarp is slightly permeable to water. The high percentages of germination were obtained through the use of fresh seeds with endocarp (66%) and free seeds (32.66%), as opposed to stored seeds that had low germination percentages. Consequently, the use of fresh seeds with endocarps is recommended for the propagation of species under controlled conditions.

Keywords: Restoration, Propagation, Imbibition, Germination, Endocarp


Antonio Manuel Crespo Ampudia
Thesis Director


Antonio Manuel Crespo Ampudia
School Director


Diana Estefanía Inga Zumba
Author


UNIVERSIDAD DEL AZUAY
Dpto. Idiomas


Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

Inga Zumba Diana Estefanía

Trabajo de Graduación

Crespo Ampudia Antonio Manuel, PhD

Enero, 2017

ECOLOGÍA DE GERMINACIÓN DE *Morella* sp., ENFOCADA A LA PROPAGACIÓN Y RESTAURACIÓN DE ECOSISTEMAS

INTRODUCCIÓN

La destrucción de hábitats es causada por una compleja interacción de factores ecológicos y socio-culturales que se encuentran relacionados; tales como el crecimiento poblacional, necesidades alimentarias, patrones de uso de recursos y conflictos socio económicos (Bainbridge 1990; Meli 2003). Estas interacciones a nivel regional, ocasionan la pérdida de bosques nativos, deterioro del suelo, alteración del balance hídrico y desestabilización de cuencas; mientras que a nivel global altera el albedo y el balance del agua atmosférica (Houghton 1992; Lugo 1992; Whitmore, TC & Sayer 1992 & Whitmore, 1993, 1997); dando como resultado la reducción y fragmentación de ecosistemas con una consecuente pérdida de biodiversidad (Meffe & Carroll 1994; Murcia 1995).

La restauración ecológica provee de un importante aporte a la ciencia, al recuperar un ecosistema partiendo de los principios de la sucesión ecológica. (Bradshaw 1987; Clewell, Aronson & Winterhalder 2004). No obstante, existe una limitación de conocimientos de propagación de especies arbóreas andinas (Blakesley et al. 2002); lo cual ocasiona que no se utilicen suficientes especies nativas en programas de restauración acompañada de un tratamiento previo de emergencia exitosa que por lo general no se encuentra documentada (Baskin & Baskin 1998).

La recuperación de un ecosistema degradado es considerada una utopía y el valor de la restauración ecológica es una opción, que debería integrar enfoques innovadores para el manejo de recursos naturales (Palang, Mander, & Naveh, 2000). En este contexto resulta prioritario conservar y regenerar la vegetación de las áreas montañosas andinas por el bienestar del ser humano y la biodiversidad (Lamb, Erskine & Parrotta 2005; Ciccarese, Mattsson, & Pettenella 2012; Holl, 2012).

En los Andes Ecuatorianos, la tarea de restauración de ecosistemas poseen algunas dificultades entre los que se encuentran, la ejecución de decisiones sobre conservación o el uso de recursos naturales basados en áreas urbanas (Lugo, 1992); a estos obstáculos se suman, la falta de inclusión en el manejo proactivo de paisajes abandonados por parte de actores sociales, que en muchos casos no cumplen con un manejo integrado del ambiente (Brown 1994; Cairns & Cairns Jr. 1997; Lambin & Meyfroidt 2010).

Resulta ineludible que los programas de restauración identifiquen un manejo proactivo de bosques, en comunidades locales y en conservación de la biodiversidad. Por lo que resulta imprescindible aplicar tecnología asociada a los beneficios sociales, donde se facilite a los viveristas y comunidades locales el potencial de reforestación, sin que necesariamente se utilice apoyo externo, y que además los tratamientos de escarificación que se apliquen sean accesibles y de bajo costo; para que puedan ser replicables y puestos en práctica en programas de restauración. Incrementando el sentido de propiedad y control que las comunidades rurales tienen sobre sus paisajes; y que a futuro sean los encargados de implementar una reforestación independiente y a gran escala (Crespo 2014; Sarmiento 1995). Además deben estar acompañados de la biología reproductiva, propagación, patrones de imbibición y la utilización de las semillas, para la población local donde se pretende recuperar un ecosistema. Al igual que una estrecha relación con los principales beneficiarios, asistencia técnica, elaboración de políticas, pago por servicios ambientales, entre otros (C. & B.A. 1996); Lamb, Parrotta, Keenan, & Tucker 1997).

La propagación a partir de semillas es un método frecuente y económico usado en viveros. Sin embargo, una limitación importante para la propagación sexual de muchas especies es

la disminución de viabilidad o su inactividad, definido como un estado fisiológico que impide su germinación incluso cuando el ambiente es favorable (MacDonald 2006; Pipinis et al. 2016). Las principales causas de la disminución de viabilidad pueden ser ocasionadas por factores exógenos, definido como una capa de la semilla u otras estructuras que impiden la germinación. Factores endógenos relacionadas con las características del embrión que impiden la germinación o incluso una combinación de ambos (Nikolaeva 1977).

En varios estudios realizados en semillas de *Morella* / *Myrica* sugieren la utilización de tratamientos pre-germinativos para eliminar una posible dormancia fisiológica en el que la semilla está totalmente desarrollada pero dormante y existe un nivel no desarrollado, caracterizada por la baja concentración de inhibidores de la germinación, así la liberación de la testa produce plántulas normales y el ácido giberélico promueve la germinación de todas las especies con este tipo de dormancia (Schmidt 2000). Por ejemplo, en *Myrica pensylvanica* y *Myrica cerifera*, se debe retirar el revestimiento de cera de los frutos y luego se necesita una estratificación húmeda de las semillas durante 3 meses a 5 ° C para superar la latencia (Fordham 1983). Para *Morella faya* es necesario retirar la cera y colocar a los endocarpos en ácido giberélico entre 500-1000 GA₃ (mg L⁻¹) con una estratificación al frío entre 0 y 2 meses con el fin de facilitar la germinación de la especie al debilitar el endocarpo; porque es una barrera que retarda la absorción de agua por parte de la semilla y su germinación (Pipinis et al. 2016). Así para *Morella parvifolia* estos resultados podrían indicar que también es necesario aplicar tratamientos pre-germinativos para obtener altos porcentajes de germinación.

Laurel de cera (*Morella parvifolia*), es una especie poco utilizada en restauración de ecosistemas degradados, su importancia se fundamenta en la capacidad de esta especie de mitigar de impactos ambientales por su adaptación a suelos con baja cantidad de nutrientes. Sus características morfológicas como un sistema radicular extenso, densidad de la copa y la resistencia de las ramas; la convierten en una planta con potencial para la conservación de las regiones alto-andinas del Ecuador (Castro & Ayala 2011; Walker 1990).

En la investigación realizada por Pintado (2016), demostró que la utilización de *M. parvifolia* para evaluar el efecto del microclima con especies de *Oreocallis grandiflora* influye en el establecimiento de plántulas con una supervivencia del $\pm 56\%$; en contraste a aquellas que se encontraban fuera. Estos resultados, permitiría evaluar a esta especie vegetal como una especie nodriza, al incrementar la supervivencia o el crecimiento de otra; convirtiéndose en relevante para paisajes degradados por años, donde las actividades humanas no permiten una sucesión natural.

Una de las principales características de la especie es formar "manchones" de vegetación de diferentes tamaños y composición específica (Del Pozo et al. 1989; Fuentes et al. 1984). Influyendo de manera positiva en la regeneración de las especies arbóreas y facilitan el establecimiento de plántulas (ya sea de su misma especie u otras) bajo o entre su dosel, por las condiciones para la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas (Callaway 1992). En el matorral, los manchones de vegetación protegen a las plántulas de la herbivoría ejercida por animales introducidos (conejos y cabras), que forrajean los espacios abiertos (Bainbridge, 1990; Fuentes et al. 1986; Fuentes et al. 1984; Jaksic & Fuentes 1980; Simonetti 1983). El microclima creado bajo el dosel de árboles y arbustos es diferente, al proveer de sombra y humedad para las plántulas que entre éstos se desarrollan; y ejerce un efecto positivo de los manchones en la regeneración natural, es decir, restauración pasiva (Del Pozo et al. 1989; Del Pozo 1985).

En este contexto la ecología de semillas busca comprender como las presiones selectivas afectan los patrones de regeneración de las plantas y a su vez como influye las características de las semillas en los procesos de dispersión, colonización y establecimiento de plántulas en el campo y su comportamiento en condiciones controladas (Dalling Harms & Schupp 2002). La reproducción sexual de los géneros de *Morella* en muchos casos es restringida, por el tiempo de germinación y los tratamientos de escarificación necesarios para alcanzar una germinación exitosa en condiciones controladas o vivero.

El presente estudio generó protocolos para la propagación de *Morella parvifolia* basados en respuestas temporales de imbibición y germinación en condiciones controladas en un período de 60 días. Al igual que discutir las respuestas temporales de imbibición y germinación después de la aplicación de diferentes tratamientos pre-germinativos en condiciones controladas. Además se evaluó la variación de la cera adherida en el endocarpo en semillas frescas y almacenadas; y su respuesta a diferentes tratamientos manipulativos que optimicen los esfuerzos de propagación.

CAPÍTULO I

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Descripción de la especie

Morella parvifolia se distribuye desde los Andes de Venezuela hasta los Andes del sur Ecuador (Minga Ochoa & Verdugo, 2016; Parra, 2003). En nuestro país ha sido registrada en las provincias de Azuay, Cañar, Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, El Oro, Pichincha y Tungurahua (Jorgensen & León-Yáñez 1999; Minga Ochoa & Verdugo 2016).

Es un arbusto aromático de 2 a 7 m de altura muy ramificado, sus hojas son simples y alternas, con forma elíptica u oblanceolada de 1,5-6 cm de largo por 0,5-2 cm de ancho, su margen es entero. El haz es glabro de color verde claro y su envés es pubescente de color verde amarillento. (Minga Ochoa & Verdugo 2016). Sus flores son inconspicuas, unisexuales, apétalas, sostenidas individualmente por varias brácteas, reunidas en amentos. Los amentos masculinos miden 0,8-2,5 cm, posee entre 4–14 estambres en un mismo verticilo. Por su parte, los amentos femeninos tienen una longitud que varía entre 0,9-2,9 cm provistas de un ovario bicarpelar, con superficie granulosa. El fruto es una drupa con forma es esférica u ovalado con un diámetro entre 0.7-5 mm, glabro, ocasionalmente pubescente, con protuberancias verrugosas. Se encuentran dispuestos en racimos pequeños (López, Enríquez, & Pertuz 2002). Al retirar la cera se encuentra una estructura leñosa y fibrosa que protege a la semilla denominado endocarpo que morfológicamente es parte de los tejidos del fruto. La semilla libre, presenta una superficie rugosa de color marrón, de consistencia dura, el tamaño es de 2,0 mm de longitud (López et al., 2002; Muñoz & Luna, 1999) (Figura 1.1).

M. parvifolia., ha sido descrita como una especie de sucesión inicial que; puede establecerse en sitios muy degradados (Parra-O., 2003). Debido a su capacidad de fijar nitrógeno, gracias a una asociación con un actinomiceto del género *Frankia* sp., que le ofrece una ventaja competitiva frente a otras especies leñosas que no se establecen naturalmente en sitios degradados (por ejemplo *Weinmannia fagaroides*, *Vallea stipularis*,

entre otros) (Castro & Ayala 2011). Es frecuente observar a *Morella parvifolia*, creando manchones densos, dentro de los cuales emergen plántulas de varias especies distintas (Parra-O., 2003); por lo que podría ser considerada una especie facilitadora al permitir una interacción positiva de mencionada especie y la regeneración vegetal que ocurre bajo los manchones de vegetación (*sensu* Connell & Slatyer 1977). Sus frutos constituyen un recurso importante para algunas especies de aves como tórtolas (*Zeida auriculata*) y torcazas (*Columba fasciata*) (Minga Ochoa & Verdugo 2016).

1.2 Sitios de Colección

Los frutos se colectaron en tres localidades distintas de la Provincia del Azuay; en la comunidad de Pamarchacrín, UTM (740820; 9663092) y la Parroquia Ludo UTM (734479; 9659556), cantón Sigsig; y la Estación Científica “El Gullán”, UTM (703193; 9630633) Cantón Nabón (Figura1.2). La colección se realizó en los meses de abril-mayo, noviembre-diciembre del año 2015; y abril y junio del año 2016. Las plantas madre fueron seleccionadas de acuerdo al color que representaban sus hojas, tallos al igual que la cantidad de frutos disponibles. Las muestras vegetales de las plantas madres fueron identificadas y depositadas en el Herbario Azuay. Los frutos de los que se extrajeron las semillas fueron colectados de aproximadamente 30 plantas madre ubicadas a una distancia una de la otra de 2 km. La colección de los frutos fue de forma manual de la copa de los árboles. Se colectaron solamente frutos que liberaban una coloración morada después de que se froten entre los dedos según las recomendaciones de Muñoz, et al. (1993) para especies de *Morella pubescens*. Los frutos fueron transportados en fundas plásticas al Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas para su procesamiento.



Figura1.1. Se identifica: a) Fruto de *Morella parvifolia*., diámetro de 4,5mm y longitud 3,5mm. b) Unidad de dispersión diámetro de 4mm y longitud de 3mm. C) Semilla con una longitud de 2mm.

Mapa de Sitios de Colección de Semillas

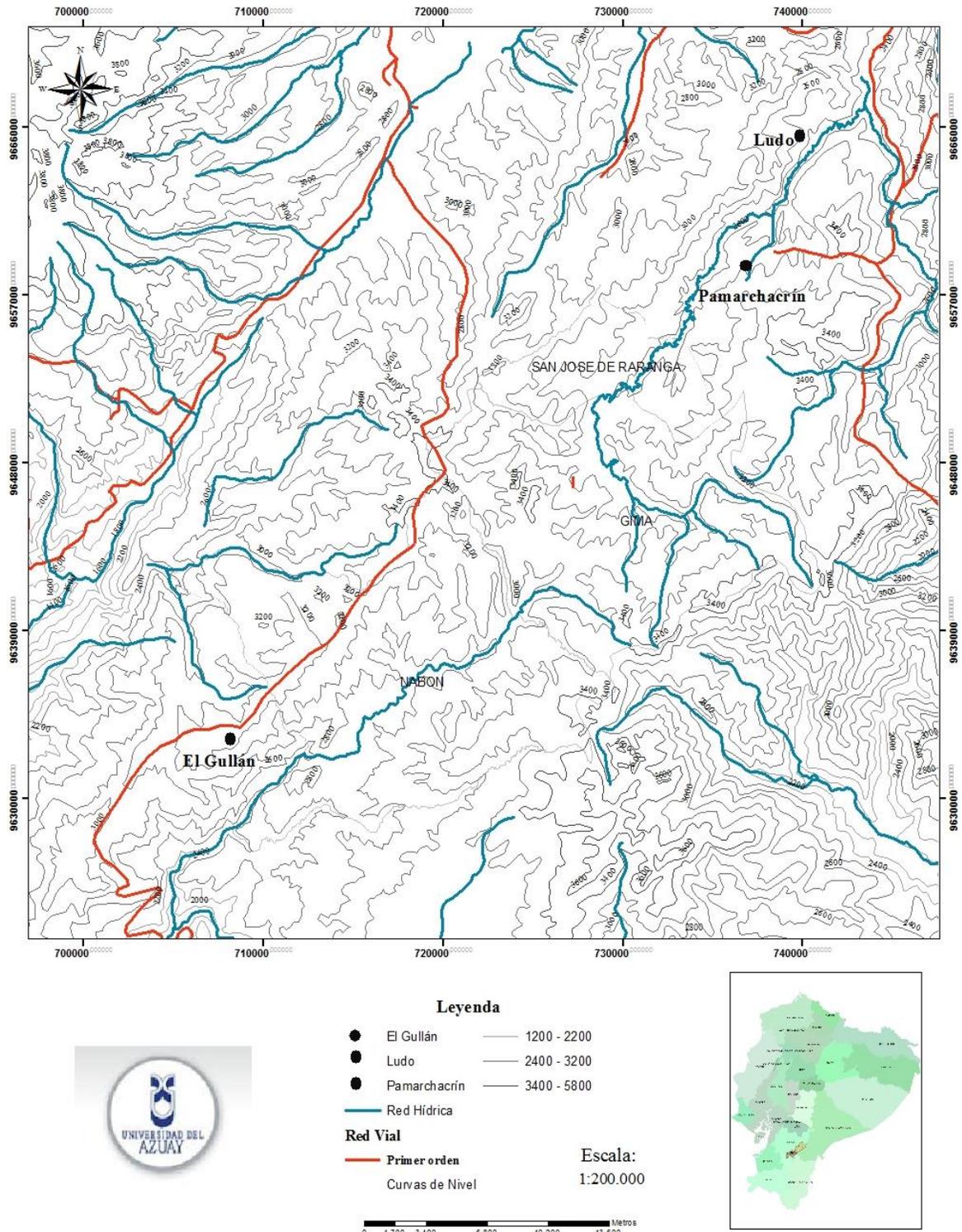


Figura 1.2. Sitios de Colección de semillas. Comunidad de Parmarchacrín, parroquia de San Bartolomé, Parroquia Ludo Cantón Sigisig, y Parroquia Las Nuevas Cantón Nabón. Pertenecientes a la Provincia del Azuay.

1.3 Experimentos de Laboratorio

Los tratamientos fueron realizados en el Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas de la Universidad del Azuay, las semillas estuvieron expuestas a un rango de temperatura entre los 12-21°C y 12 horas de luz fluorescente blanca fría ($80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Los tratamientos estuvieron formado de 15 réplicas, y cada réplica constó de una caja Petri con 10 semillas con y sin endocarpo.

Para todos los experimentos se utilizaron los patrones temporales de imbibición y germinación como variables de respuesta. Los patrones de imbibición se determinaron al medir los incrementos de masa fresca, luego de la aplicación de los diferentes tratamientos.

Las semillas fueron remojadas en agua, retiradas la adherencia de agua con cuidado con toallas de papel para su pesaje en el intervalo de 1 hora, tras este pesaje inicial se realizarán otras mediciones a las 0, 8, 12, 24, 48 y 72 horas (J. M. Baskin & Baskin 2004). Con el fin de determinar gravimétricamente en cada punto de tiempo. Los aumentos en la masa fresca se convirtieron a porcentajes utilizando la fórmula $Wi = [(Wi - Wd) / Wd]$, donde Wi y Wd son masas de semillas asimiladas en imbibición, respectivamente (C. C. Baskin & Baskin 1998). Mientras que, los patrones de germinación fueron monitoreados por un lapso de 60 días, después de sembrar en una caja Petri, con papel filtro y 5 ml de agua destilada; la germinación se registró como la emergencia de la radícula a 2 mm. Se registró y contabilizó diariamente los germinantes como lo recomienda Schmidt (2008). Se agregó 2 ml de agua destilada en caso que el papel filtro se encontrara seco. Los tratamientos aplicados para los endocarpos con semillas frescas y almacenadas se enfocaron en retirar o eliminar la cera adherida al endocarpo y en permeabilizar el endocarpo debido a que en diversos géneros de *Morella* retarda la germinación (Pipinis et al. 2016; Walker 1990); además se optó por tratamientos que sean económicos y manipulables para viveristas y comunidades locales en general.

1.3.1 Peso de las Semillas

Se pesaron 5 réplicas de 10 endocarpos con semilla cada una seleccionados al azar de cinco lotes distintos, se pesó 1gr de endocarpos con semillas y se contaron el número de endocarpos contenidas en este gramo. El mismo procedimiento se realizó para las semillas que fueron extraídas.

1.3.2 Efecto del endocarpo sobre semillas

Este experimento tuvo como objetivo identificar el efecto del endocarpo sobre las semillas frescas con y sin endocarpo. Las semillas fueron colectadas y procesadas en un lapso de 48 horas con el fin de evitar los efectos del almacenamiento. Esto se realizó al comprobar la presencia y ausencia del endocarpo en semillas frescas de *M. parvifolia*, con la utilización de dos tratamientos. El primero denominado control, que consistió en retirar la cera con la yema de los dedos del endocarpo con semilla y se procedió a sembrar. El segundo denominado semilla libre el cual se basó en la extracción de la semilla mediante un alicate como lo indica la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Tratamientos para identificar el efecto del endocarpo sobre semillas. Los tratamientos fueron diseñados para ser aplicables y de bajo costo para programas de restauración.

Tratamiento	Descripción
Control	Retirar la cera con la yema de los dedos durante 10 minutos y sembrar en cajas Petri con 5ml de agua destilada.
Semilla libre	Retirar el endocarpo con un alicate para obtener la semilla, sembrar en cajas Petri con 5ml de agua destilada.

1.3.3 Efecto de escarificación en semillas frescas

Se realizó un protocolo de desinfección, al lavar los frutos y endocarpos con 30 ml de agua y 5 ml de jabón durante 5 minutos antes de aplicar los diferentes tratamientos. Se realizaron dos tipos de escarificación, el primero mediante tratamientos químicos, en los cuales se utilizó agua oxigenada, acetona, y jabón líquido. Mientras que, los tratamientos abrasivos, incluyeron vidrio molido, intemperie y lana de acero con el fin de comparar si el endocarpo con semilla tiene la capacidad de absorber agua y promover su germinación luego de la aplicación de los tratamientos químicos y abrasivos (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Tratamientos para identificar el efecto de escarificación en semillas frescas. Los tratamientos fueron diseñados para ser aplicables y de bajo costo para programas de restauración.

Tipo	Tratamiento	Descripción
Químico	Jabón líquido	Retirar la cera con la yema de los dedos, semillas con endocarpos lavados con 5 ml de jabón líquido, 30ml de agua, enjuagar y sembrar en caja Petri con 5 ml de agua destilada
Químico	Agua Oxigenada	Retirar la cera con la yema de los dedos. Agitar con 20 ml de agua oxigenada las semillas con endocarpos por 10 minutos, enjuagar y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada
Químico	Acetona	Retirar la cera con la yema de los dedos. Sumergir en 10 ml de acetona durante 10 minutos, enjuagar y sembrar en caja Petri con 5 ml de agua destilada
Abrasivo	Vidrio Molido	Endocarpos maduros, agitar por 30 minutos en un recipiente con vidrio molido y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada
Abrasivo	Intemperie	Depositar en 100 ml de agua a temperatura ambiente en la noche y en el día reposar sobre una manta térmica a 38°C durante 8 horas, este tratamiento se repitió durante 4 días y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada
Abrasivo	Lana de Acero	Retirar la cera con la yema de los dedos. Sacudir con lana de acero #8 durante 10 minutos y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada

1.3.4 Efecto de almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses

Se almacenaron las semillas con endocarpos, en el Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas a una temperatura entre los 5-8°C y una humedad relativa del 25-30%, en envases de vidrio cerrados. Cada tratamiento constaba de 15 réplicas y cada réplica tenía 10 endocarpos con semillas. Se procedió a sembrar en cajas Petri sobre un papel filtro y 5 ml de agua destilada, en caso de faltar agua a los experimentos se añadía 2 ml de agua destilada.

Este experimento tuvo como objetivo comparar el tiempo de almacenamiento entre endocarpos almacenados con semillas; con el fin de evaluar se existen diferencias significativas. Así se procedió a sacar lotes con tiempos de almacenamiento que fluctuaron entre 4, 5, 7, 8, y 11 meses. A los cuales se le retiró la cera con la yema de los dedos y se procedió a sembrar en cajas Petri con 5ml de agua destilada; el mismo procedimiento se utilizó para endocarpos frescos con semillas.

Además para conocer la viabilidad de las semillas, se escogieron 5 lotes al azar, después de haber transcurrido 60 días desde el día de la siembra y bajo tratamientos pre-germinativos distintos. Se extrajo la mitad de la población de cada lote, se retiró el endocarpo mediante un corte transversal y se contabilizaron las semillas viables (color marrón y consistencia dura), no viables (color café y desecado) y endocarpos vacíos (sin semilla) (Perez & Pita, 2001).

1.3.5 Efecto del almacenamiento en semillas libres

Este experimento tuvo como objetivo comparar el tiempo de almacenamiento entre semillas almacenadas en dos tiempos; con el fin de evaluar se existen diferencias significativas. Para ello se utilizó semillas extraídas del endocarpo que fueron almacenadas entre 4 y 11 meses, frente al control que fue la eliminación de la cera con la yema de los dedos. Luego de la aplicación de los tratamientos se procedió a sembrar en cajas Petri con 5 ml de agua destilada.

1.3.6 Efecto de la escarificación en semillas almacenadas

Los endocarpos con semillas utilizadas fueron expuestos a dos tipos de tratamientos pre-germinativos, abrasivos y químicos; con tiempos de almacenamiento que variaban entre los 4 y 8 meses. Los tratamientos aplicados fueron diseñados para utilizar semillas almacenadas en caso de no contar con endocarpos frescos con semilla; y para aumentar la capacidad de endocarpo absorber a agua luego de la aplicación de tratamientos abrasivos y químicos (Tabla 1.3). Se utilizaron excretas de cuy con el fin de imitar un proceso natural de dispersión mediada por vertebrados e influir de manera positiva en la absorción de agua por parte de la semilla (Pretell, Ocaña, Jon, & Barahona 1985).

Tabla 1.3. Tratamientos para identificar el efecto de la escarificación en semillas almacenadas. Los tratamientos fueron diseñados para ser aplicados cuando no existan semillas frescas con o sin endocarpos

Tipo	Nombre	Tiempo de almacenamiento	Descripción
Abrasivo	Ebullición	4 meses	Hervir por 1 y 2 minutos a 89°C. Eliminar la cera con la yema de los dedos y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Químico	Ácido Sulfúrico	4 meses	Sumergir en 10 ml de ácido sulfúrico durante 50, 15 y 1 minuto, enjuagar con 30 ml de agua destilada y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Abrasivo	Lana de Acero	8 meses	Endocarpos con semillas almacenados. Sacudir con lana de acero #8 durante 10 minutos y sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Abrasivo	Reposo	8 meses	Endocarpos con semillas almacenados. Reposar en 250ml de agua por 10 días en un recipiente negro en condiciones ambientales en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Abrasivo	Excretas de cuy + Lana de acero	8 meses	Endocarpos con semillas almacenados. Reposar en 20 gr de heces de cuy sin agua, 10 y 15 gr de heces de cuy con 250 ml de agua por 10 días en un recipiente de plástico negro. Enjuagar con agua durante 20 minutos. Sacudir con lana de acero #8 por 10 minutos. Sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Químico	Excretas de cuy	8 meses	Endocarpos con semillas almacenados. Reposar en 20 gr de heces de cuy sin agua, 10 y 15 gr de heces de cuy con 250 ml de agua por 10 días en un recipiente de plástico negro. Enjuagar con agua durante 20 minutos. Sembrar en caja Petri con 5ml de agua destilada.

1.3.7 Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo

Se realizó este experimento para conocer el contenido de cera en el endocarpo con tiempos de almacenamiento distintos. Para lo cual se procedió a contabilizar 50 semillas frescas con endocarpo, de un mes de almacenamiento y mayor a seis meses con 3 réplicas para cada prueba; se retiró el epicarpo y mesocarpo con la yema de los dedos. Posteriormente se pesaron los vasos de precipitación vacíos de 100 ml, se adicionó 40 ml de agua destilada y se llevó a ebullición hasta que el agua de los vasos se evaporara, por un lapso de 30 minutos. Cuando los vasos estaban fríos se procedió a retirar las semillas y a pesar nuevamente los vasos. Finalmente se realizó una diferencia entre el peso del vaso vacío y el vaso con cera para conocer el contenido de cera en el endocarpo en tiempos distintos de almacenamiento.

1.3.8 Análisis Estadístico

Para analizar los patrones temporales de imbibición se utilizó un análisis de varianza ANOVA, para conocer si los tratamientos utilizados en semillas frescas o almacenadas con o sin endocarpo fueron distintos entre sí; los datos fueron normalizados con un Test de Shapiro–Wilk y se utilizó el Test de Dunn’s para comparar las diferencias en las medias las técnicas aplicadas dentro de cada experimento (Systat Software, 2014). Para los patrones temporales de germinación se utilizó un “análisis de supervivencia” con el método Kaplan-Meier en el software Sigmaplot (v. 12.0, Systat Software, Inc.) el cual ha sido presentado por varios autores (Allison, 2010; Pérez & Kettner, 2013; Pyke & Thompson, 1986). Dónde, la germinación es considerada un evento de interés, que se relaciona con el tiempo de los análisis del evento. Así es posible generar curvas de emergencia, y obtener la probabilidad de las semillas para no germinar, es decir, a valores más altos es menor la probabilidad de encontrar germinantes en el tratamiento.

CAPÍTULO II

RESULTADOS

2.1 Peso de las Semillas

El peso de las 500 semillas correspondientes a los cinco lotes distintos dio como resultado un peso de 1,057 gramos, con un peso promedio de 0,021 gr., por 10 semillas; al realizar una relación de 1000 semillas el resultado fue 2,114gr. Mientras que en un gramo de semillas se obtuvieron 471 semillas, con un peso promedio de 0,002gr por semilla.

No obstante el peso de 1000 endocarpos fue de 83,108 gr, con un peso promedio de 0,824 gr. de una réplica 10 semillas; por su parte 1gr pesó 12 endocarpos y cada endocarpo tuvo un peso de 0,083 gramos.

2.2 Efecto del endocarpo sobre la semilla

Como se observa en la figura 2.1, (a) el control aumentó de manera paulatina su masa en un 1 % desde la hora 0 hasta la hora 48, posteriormente aumenta abruptamente su masa en un 3 % hasta la 72 hasta.

Al analizar los patrones temporales de germinación, luego de la aplicación de los tratamientos, se observa que el control tiene un porcentaje de germinación equivalente al 66% (79 germinantes); dónde el primer emergente se obtuvo en el día 14, y la mitad de la población se encontraba entre el día 31 y 38. Por su parte, la semilla libre alcanzó un porcentaje de germinación de 32,66% (49 germinantes); dónde el primer evento ocurrió en el día 7 (Tabla2.1). Además, al realizar las comparaciones entre las curvas control y semilla libre se encontró una diferencia significativa de $P=<0,001$ en las curvas de ausencia de germinación (Figura 2.1 (b)).

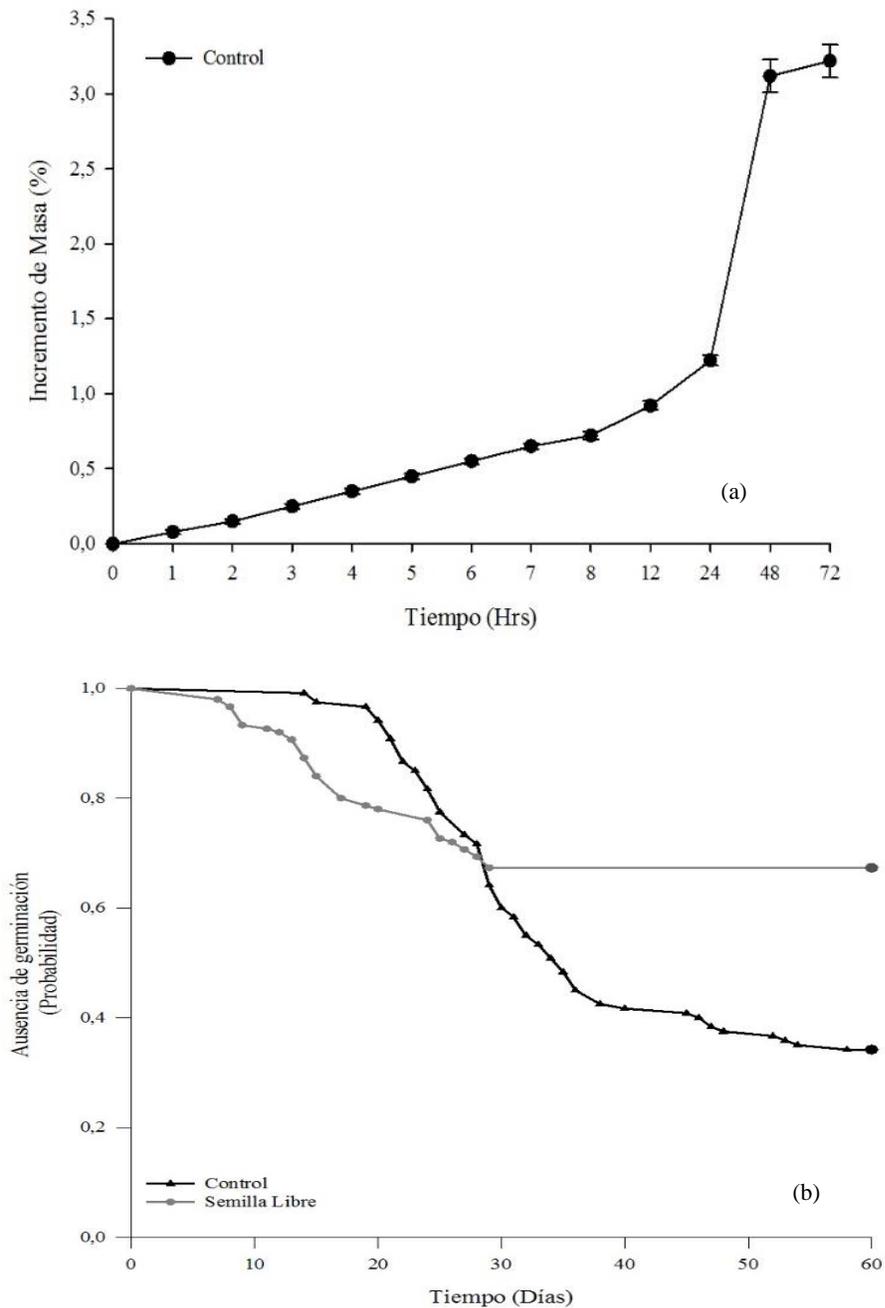


Figura 2.1. Efecto del endocarpo sobre la semilla de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en el tratamiento control. El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semillas en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia

Tabla 2.1. Efecto del endocarpo sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en endocarpos frescos con semillas de *Morella parvifolia*, en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Incremento de		t ₅₀ (días)	Final de
	Masa 72hr (% ±SE)	Retardo (d)	95 % IC	Germinantes (%)
Control	3,22 ± 0,11	14	(31,42-38,58)	66%
Semilla libre	- ^a	7	- ^b	32,66%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: Aumentos de masa fresca no medidos. b: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

2.3 Efecto de la Escarificación en semillas frescas

2.3.1 Escarificación química

Luego de realizar el ANOVA entre los tratamientos aplicados, los resultados indican que si existen diferencias significativas ($P = <0,033$). Además, las comparaciones analizadas indican que existe una diferencia significativa ($P = <0,005$) entre el control y agua oxigenada. Los incrementos de masa para la escarificación química (Figura 2.2. (a)), expresan que el jabón líquido muestra un incremento de masa en la hora 3 del 0,1 % y el resto de las horas no muestran incrementos positivos; por su parte el agua oxigenada para la desinfección varió entre 0 y 8%. Mientras que el tratamiento con acetona, el incremento transcurridas las 72 horas fue de 3% respectivamente. Además se aprecia que existió una pérdida de masa en las mayoría de las tratamientos ejecutados.

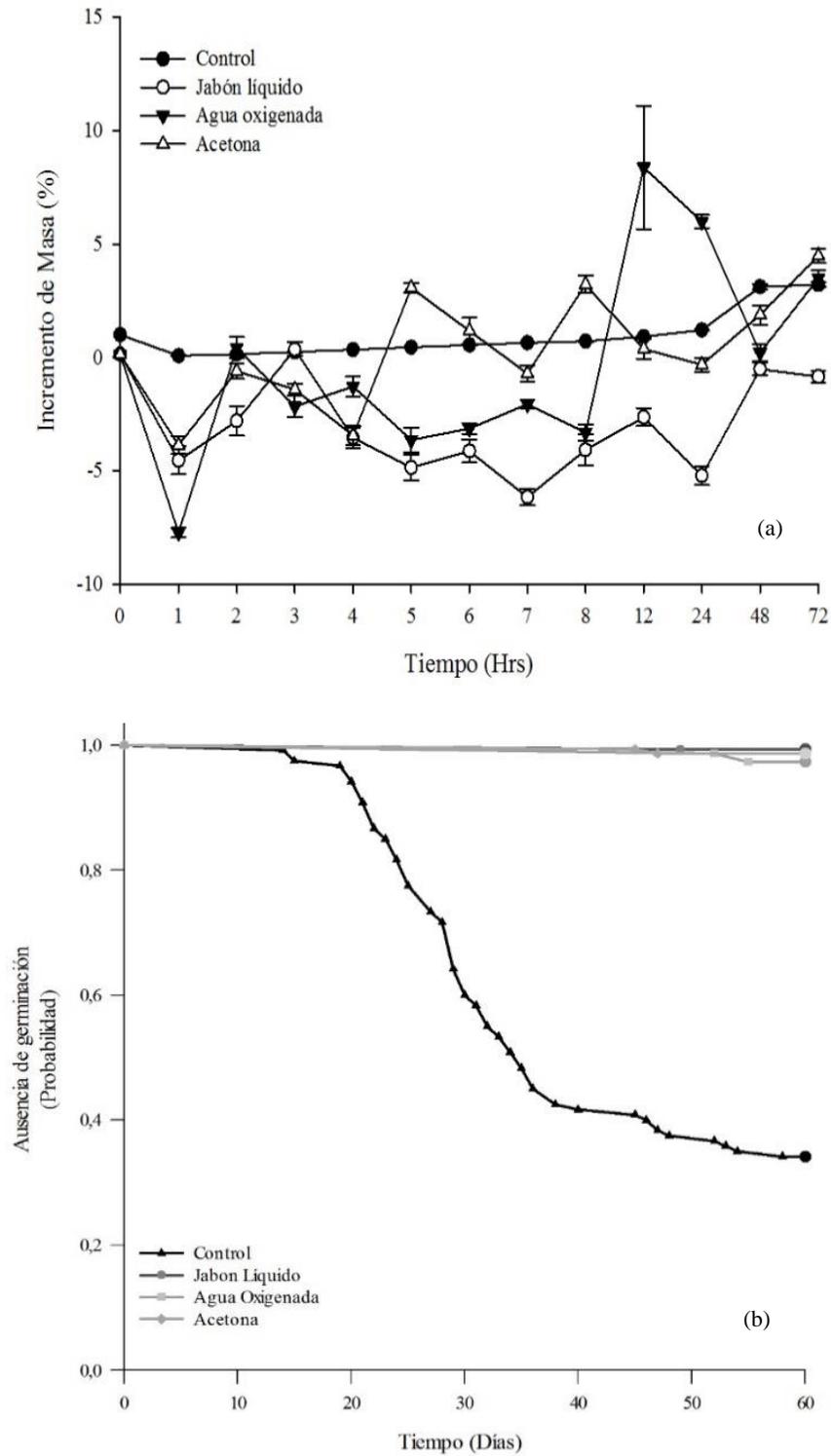


Figura 2.2. Efecto de la escarificación química en endocarpos frescos con semilla de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en el tratamiento control frente a tratamientos químicos (Jabón líquido, Agua oxigenada y Acetona). El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia.

En la Figura 2.2. (b), se indican la ausencia de germinación para la escarificación química versus el control dónde, el jabón líquido alcanzó un 0,67% de germinantes, el evento ocurrió en el día 49; la utilización de agua oxigenada como desinfección se obtuvo un porcentaje equivalente al 2,67%, donde el primer evento ocurrió en el día 52. Mientras que para la acetona se observó un porcentaje de 1,33%, el primer evento de germinación ocurrió en el día 45 (Tabla 2.2). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de escarificación química aplicados ($P=0,005$), como lo denota la Tabla 2.3.

Tabla 2.2. Efecto de la escarificación química sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en semillas frescas de *Morella parvifolia*., en condiciones de laboratorio

Tratamiento	Incremento de Masa 72hr (% \pm SE)	Retardo (d)	t ₅₀ (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
Jabón líquido	-0,84 \pm 0,26	49	- ^a	0,67%
Agua Oxigenada	3,50 \pm 0,36	52	- ^a	2,67%
Acetona	4,49 \pm 0,31	45	- ^a	1,33%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

Tabla 2.3. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos frescos con semillas de *Morella parvifolia*, expuestos a diferentes tratamientos de escarificación química en condiciones de laboratorio. Se indican las comparaciones entre los tratamientos.

Comparaciones	<i>p</i>
Control vs. Jabón líquido	1,18E-33
Control vs. Acetona	5,98E-33
Control vs. Agua Oxigenada	7,01E-32

2.3.2 Escarificación abrasiva

Después de ejecutar el ANOVA, se pudo encontrar que existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0,001$). Al realizar las comparaciones entre los tratamientos se pudo identificar diferencias entre el control y la lana de acero; así como en el control y el vidrio molido ($P < 0,05$). Para el tratamiento de vidrio molido el incremento se produce de manera paulatina hasta alcanzar el pico más alto en la hora 7 con un 9% de incremento, luego disminuye a un 8% en la hora 48 y nuevamente aumenta para la hora 72 en un 6%. Por su parte, el tratamiento con lana de acero, indica un incremento del 6% hasta un 18% en la hora 72 al terminar la imbibición. Además se observa disminución de porcentaje para las horas 3, 4, y 6; cabe recalcar que la disminución del incremento de masa no es menor al 6% alcanzado en la hora 1 (Figura 2.3).

La ausencia de germinación dio como resultado que, el tratamiento de intemperie tuvo un total de 30 germinantes (20%), el primer evento ocurrió el día 26. Cabe mencionar que para el tratamiento de vidrio molido se registró un porcentaje de germinantes de 2,66%, el primer evento ocurrió en el día 49. Los resultados obtenidos para la lana de acero indican que existió un porcentaje de 0,67% el evento de germinación ocurrió en día 49 (Tabla 2.4). Además, se encontraron diferencias significativas ($P = 0,05$) entre las curvas de germinación luego de la aplicación de los tratamientos como lo indica la Tabla 2.5.

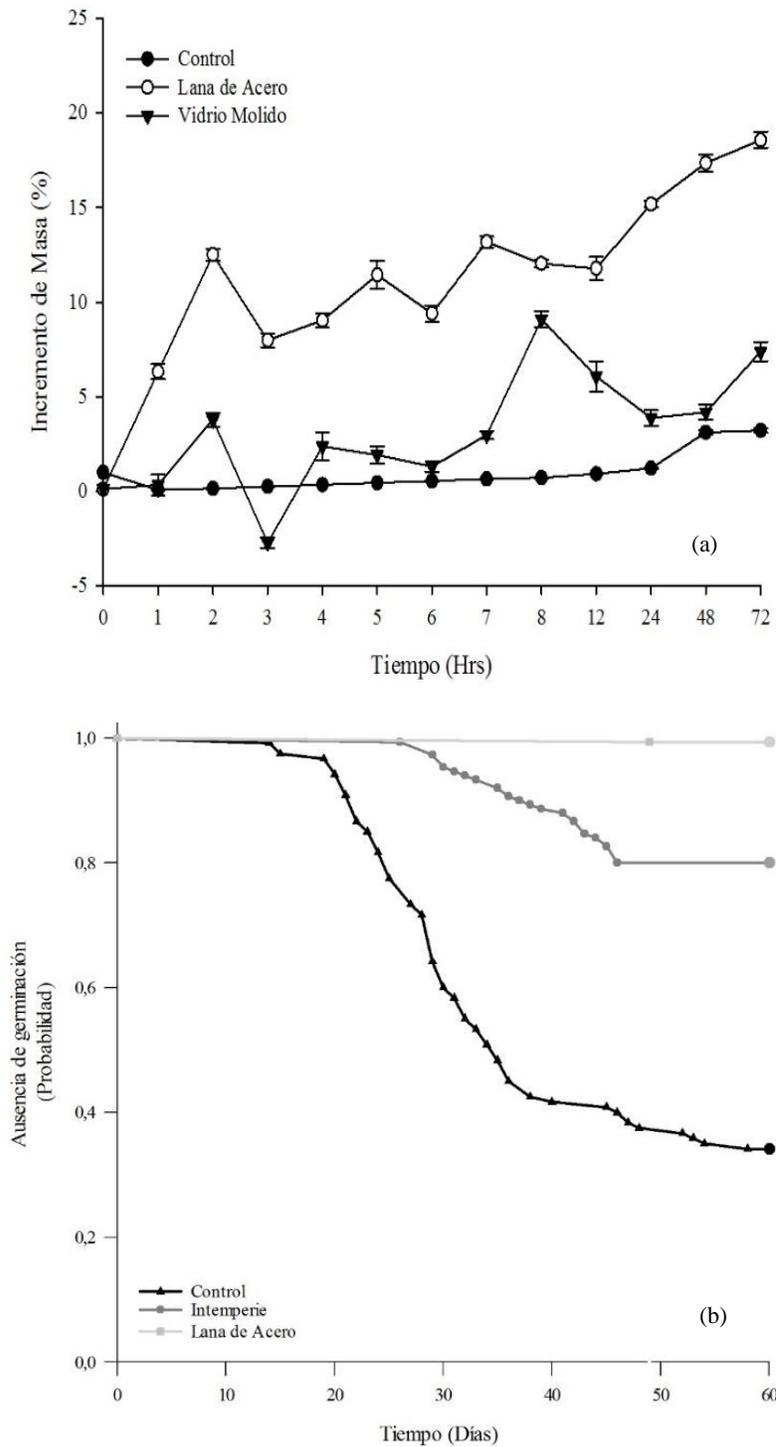


Figura 2.3. Efecto de la escarificación abrasiva en endocarpos frescos con semilla de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en el tratamiento control frente a tratamientos abrasivos (Lana de acero y Vidrio molido). El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0

Tabla 2.4 Efecto de la escarificación abrasiva sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en endocarpos frescos con semilla de *Morella parvifolia.*, en condiciones de laboratorio

Tratamiento	Incremento de Masa 72hr (% \pm SE)	Retardo (d)	t ₅₀ (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
Vidrio Molido	7,38 \pm 0,51	49	- ^b	2,66%
Intemperie	- ^a	26	- ^b	20%
Lana de Acero	18,58 \pm 0,43	49	- ^b	0,67%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: Aumentos de masa fresca no medidos. b: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

Tabla 2.5. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de semillas frescas de *Morella parvifolia*, expuestos a diferentes tratamientos de escarificación abrasiva en condiciones de laboratorio. Se indican las comparaciones entre los tratamientos.

Comparaciones	<i>p</i>
Control vs. Lana de Acero	1,18E-33
Vidrio molido vs. Lana de Acero	3,64E-17
Control vs. Intemperie	1,05E-16
Intemperie vs. Lana de Acero	0,000000207

2.4 Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses

El análisis de varianza aplicado dio como resultado que existieron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de almacenamiento ($P < 0,001$). Además luego de realizar las comparaciones se obtuvo que existen diferencias significativas entre los aumentos de masa en tiempos de almacenamiento de 5 meses frente a los 4,7 y 8 meses como lo indica la tabla 9. En la Figura 2.4(a), se indica el incremento de masa de los tratamientos aplicados durante las 72 horas de imbibición, donde el tratamiento control de 4 meses de almacenamiento tiene un incremento de peso equivalente al 81,84%. Seguido

del control de 5 meses con un incremento menor de 32,66%, luego el de 7 meses con un incremento de 16,08% y por último el control de los 8 meses con un incremento del 5,09%.

Los patrones temporales de germinación denotaron que las semillas con un almacenamiento de 8 meses tuvieron un porcentaje de germinación del 5,33% y su retardo de días fue de 19. Seguido del tiempo de almacenamiento de 7 meses con un total de germinantes de 5%, el primer evento de germinación ocurrió en el día 35. Mientras que para un tiempo de almacenamiento de 4 meses se obtuvo un porcentaje de germinación equivalente al 4%, el primer evento de germinación sucedió en el día 53. Y para un tiempo de almacenamiento de 5 meses se observó un porcentaje de germinación de 1,33%, pero el retardo en días fue de 18 (Tabla 2.6.). Las curvas de germinación de la Figura 2.4. (b), expresaron que poseen diferencias significativas entre sí con un valor de $P=0,043$. Mientras que las comparaciones múltiples expresaron que existen diferencias significativas (0,0220), al comparar los controles de 4 meses y 8 meses.

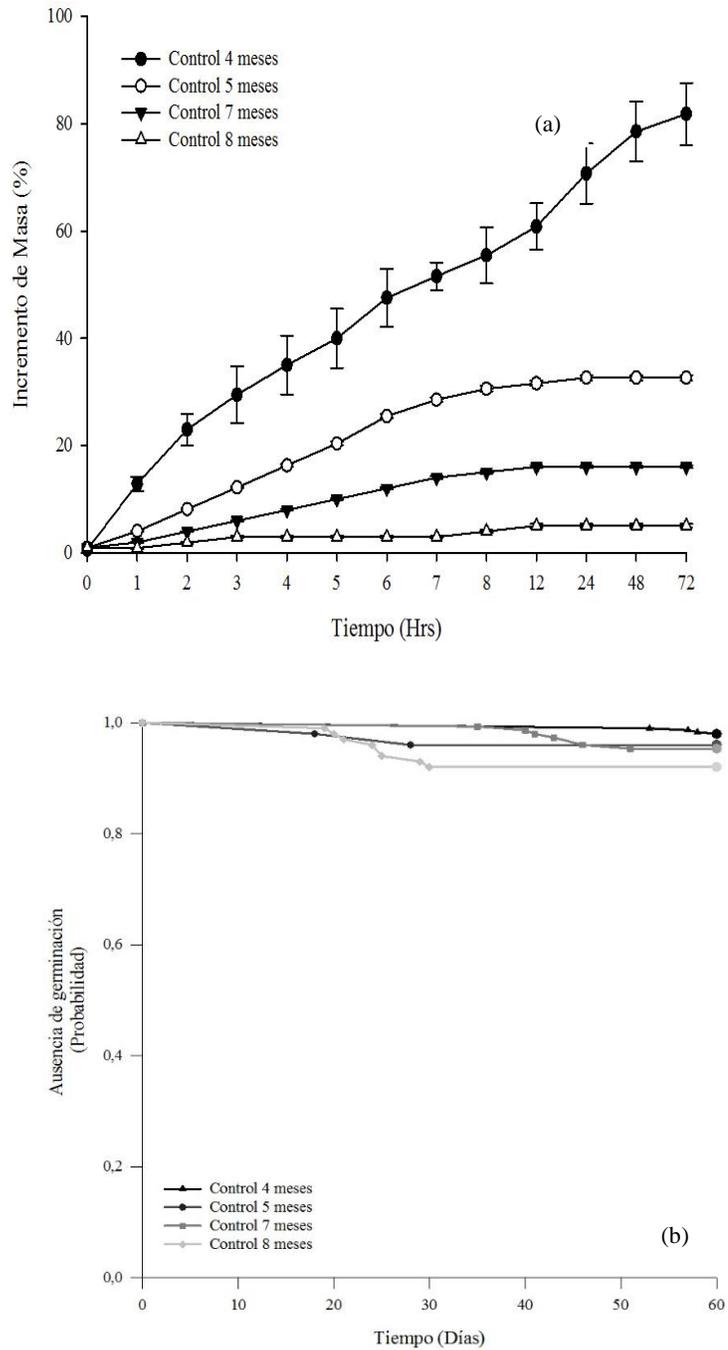


Figura 2.4. Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses sobre endocarpos con semilla de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en tiempos de almacenamientos distintos. El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia.

Tabla 2.6. Comparaciones entre los tratamientos aplicados a endocarpos con semilla almacenadas durante 4, 5, 7, y 8 meses. Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,01$) después de las 72 horas de imbibición.

Comparaciones	<i>q</i>
Control 5 meses vs Control 8 meses	5,681
Control 5 meses vs Control 7 meses	4,517
Control 5 meses vs Control 4 meses	4,193

Tabla 2.7. Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio en endocarpos con semillas de *Morella parvifolia.*, sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4, 5, 7 y 8 meses en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Incremento de		t ₅₀ (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
		Masa 72hr (%±SE)	Retardo (d)		
Control	4 meses	81,84 ± 5,78	53	- ^a	4,00%
Control	5 meses	32,66 ± 0,53	18	- ^a	1,33%
Control	7 meses	16,08 ± 0,26	35	- ^a	5,00%
Control	8 meses	5,09 ± 0,36	19	- ^a	5,33%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

2.5 Efecto del almacenamiento en semillas libres

Al analizar las comparaciones de imbibición de semillas libres en tiempos de almacenamiento que fue de 4 y 11 meses se determinó que existen diferencias significativas ($P=0,001$) frente al tratamiento control. Por otro lado, como se indica en la Figura 2.5., existe un incremento de masa en (a) la semilla libre con un tiempo de almacenamiento de 11 meses de 190% a las 72 horas, mientras que para la semilla libre con un tiempo de almacenamiento de 4 meses se evidenció un aumento en un 90% de la masa, durante las primeras horas de imbibición, luego la curva se estabiliza hasta el final de la prueba. Por su parte, el tratamiento (b) control aumentó de masa paulatinamente hasta que a la hora 72 fue de 50% de su masa original.

Mientras que para los patrones temporales de germinación se puede indicar que en la Tabla 2.8 el tratamiento de semillas libres con un tiempo de almacenamiento de 4 meses indica

un porcentaje de germinación de 26,66%, el primer evento de germinación ocurrió en el día 7 a diferencia de la semilla libre almacenada por un tiempo de 11 meses con un porcentaje de 7,33%, dónde el primer germinante ocurrió en el día 13; a diferencia del control que su porcentaje llega al 4% y el día que ocurrió el primer evento es el 53. Además se encontraron diferencias significativas al realizar las comparaciones múltiples entre los tratamientos aplicados como lo expresa la Tabla 2.9.

Tabla 2.8. Efecto del almacenamiento en semillas libre de *Morella parvifolia*, sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4 y 11 meses., en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Incremento de Masa 72hr (%+- SE)	Retardo (d)	t50 (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
Control	4 meses	81,84 ± 5,78	53	- ^a	4,00%
Semilla libre	4 meses	110,52 ± 13,30	7	- ^a	40,06%
Semilla libre	11 meses	185,03 ± 15,18	13	- ^a	10,33%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

Tabla 2.9. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de semillas libres de *Morella parvifolia*., expuestos a diferentes tiempos de almacenamiento en condiciones de laboratorio. Se indican las comparaciones entre los tratamientos.

Comparaciones	<i>p</i>
Control vs. Semilla libre (4m)	0
Semilla libre (4m) vs. Semilla libre (11m)	0,00000303
Control vs. Semilla libre (11m)	0,0000711

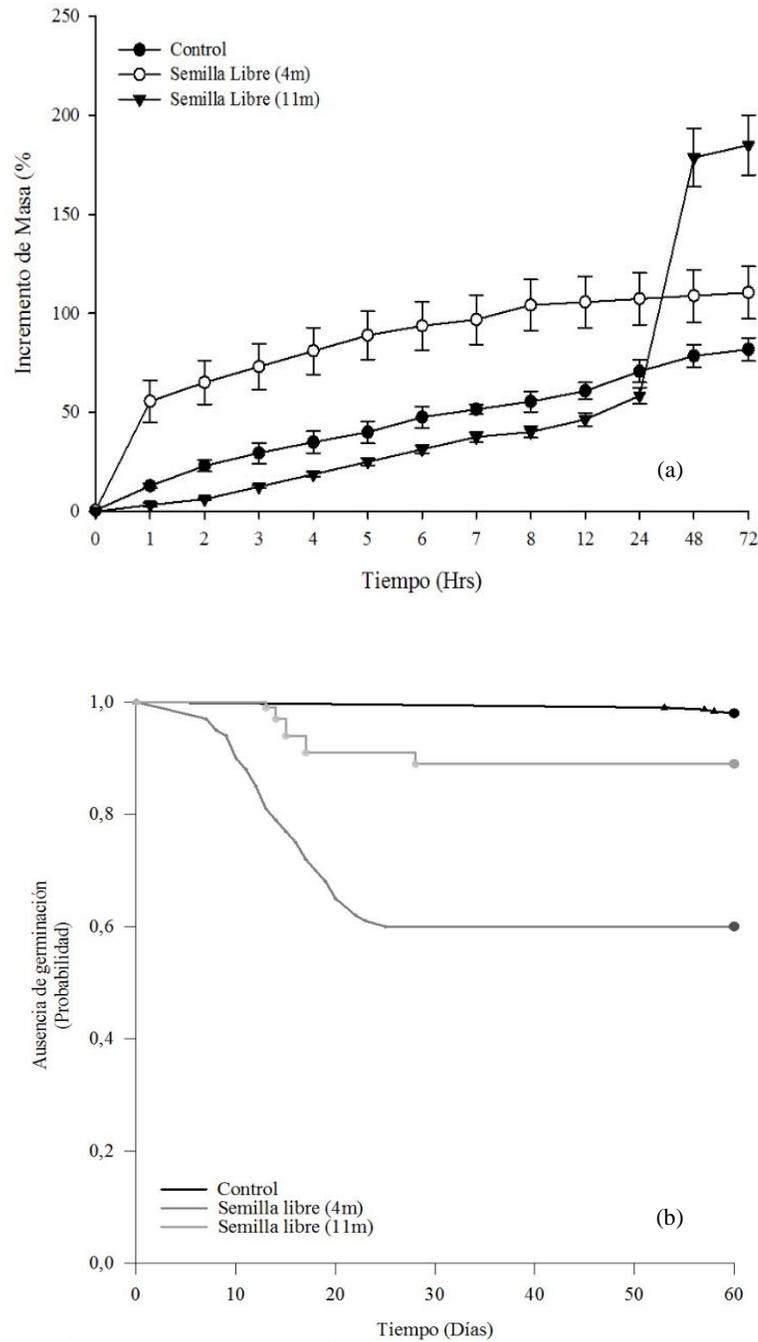


Figura 2.5. Efecto del almacenamiento en semillas libres de *Morella parvijolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en tiempos de almacenamientos distintos (4 y 11 meses). El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia.

De los lotes analizados se puede determinar un 79% de semillas viables, un 15% de semillas no viables y un 6% de endocarpos sin semillas, como lo expresa la Figura 2.5.1.8.

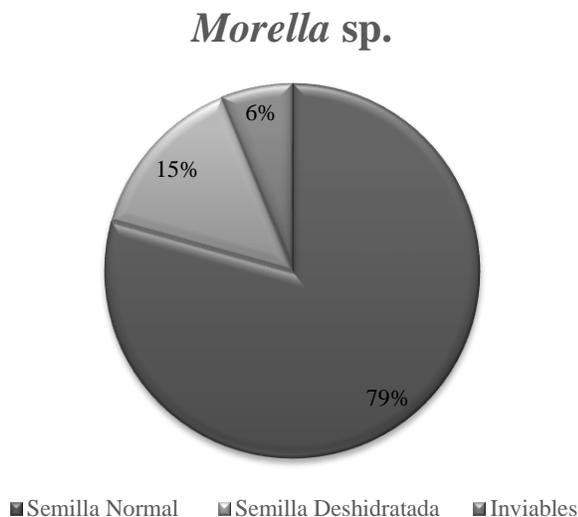


Figura 2.6. Porcentaje de semillas viables, no viables y endocarpos vacíos de *Morella parvifolia*, de cinco lotes analizados

2.6 Efecto de la escarificación en semillas almacenadas

2.6.1 Escarificación en semillas almacenadas durante 4 meses

El análisis de varianza realizado dio como resultado que si existen diferencias significativas ($P < 0,001$) entre los tratamientos de escarificación aplicados en semillas almacenadas durante 4 meses. Al realizar las comparaciones entre los tratamientos se observó que el ácido sulfúrico aplicado durante 1 minuto tuvo diferencias significativas ($P = 0,05$) distintas al resto de los tratamientos aplicados como lo indica la Tabla 2.8. El tratamiento de ebullición refleja un aumento de su masa hasta las 72 horas de 20%, al hervir los frutos por dos minutos y 30% al someter al tratamiento de ebullición por un minuto; este resultado contrasta con el control, que su aumento de masa alcanzó el 25% en frutos almacenados durante 4 meses. Por su parte, el tratamiento con ácido sulfúrico, refleja un incremento del 60% para los frutos escarificados durante un minuto; a diferencia de la aplicación del ácido entre los 30 y 15 minutos que alcanza un incremento del 25 y 30 respectivamente (Figura 2.7.(a)).

La germinación para la ebullición a 1 y 2 minutos no registró germinantes. El ácido sulfúrico indica un porcentaje de 5,33% en los 30 minutos de aplicación el retardo en días de germinación ocurrió en el día 31, en los 15 minutos de aplicación el porcentaje de germinación es de 1,33% el germinante fue en el día 44 y el 1 minuto se refleja un porcentaje de germinación de 6% y el retraso en días fue de 38 (Tabla 2.9.). Mientras que, el análisis log-rank dio como resultado que si existen diferencias significativas ($P < 0,001$) entre las curvas de ausencia de germinación. Al realizar las comparaciones múltiples se registraron diferencias significativas al aplicar el ácido sulfúrico durante 1 minuto y 15 minutos frente a la ebullición (Tabla 2.10).

Tabla 2.10. Comparaciones entre los tratamientos de escarificación aplicados a endocarpos con semilla almacenadas durante 4 meses. Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) después de las 72 horas de imbibición.

Comparaciones	Q
Ácido Sulfúrico (1min) vs Ácido Sulfúrico (30min)	6,18E+00
Ácido Sulfúrico (1min) vs Ebullición (2min)	5,98E+00
Ácido Sulfúrico (1min) vs Control (4m)	4,88E+00
Ácido Sulfúrico (1min) vs Ebullición (1min)	4,53E+00
Ácido Sulfúrico (1min) vs Ácido Sulfúrico (15min)	4,52E+00

Tabla 2.11. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de *Morella parvifolia*, sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4 meses., en condiciones de laboratorio

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Incremento de Masa 72hr (%± SE)	Retardo (d)	t50 (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
Control	4 meses	81,84 ± 5,78	53	.. ^b	4,00%
Ebullición (1min)	4 meses	45,19 ± 5,16	.. ^a	.. ^b	0,00%
Ebullición (2min)	4 meses	26,65 ± 0,73	.. ^a	.. ^b	0,00%
Ácido sulfúrico (30min)	4 meses	54,14 ± 1,54	31	.. ^b	5,33%
Ácido sulfúrico (15min)	4 meses	25,75 ± 0,95	44	.. ^b	1,33%
Ácido sulfúrico (1min)	4 meses	31,75 ± 1,03	38	.. ^b	6,00%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t50: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: No existe retardo porque no hay germinantes. b: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

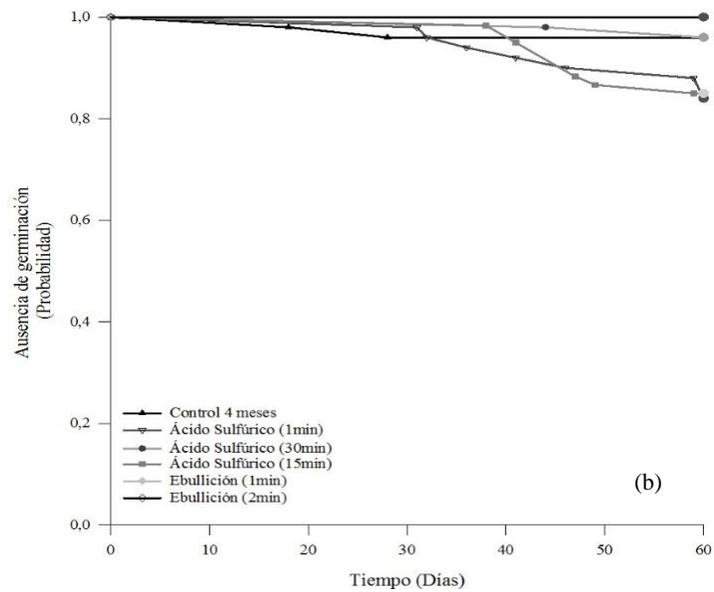
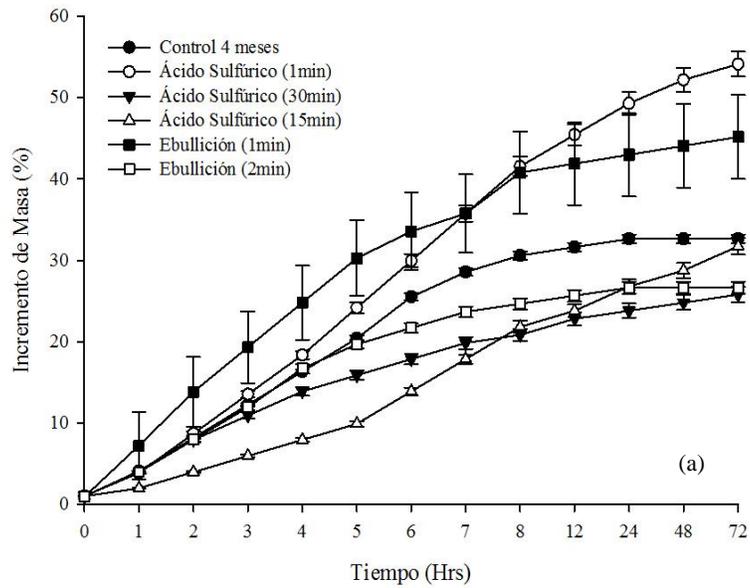


Figura 2.7. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en endocarpos con semillas almacenadas durante 4 meses. El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia.

Tabla 2.12. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos con semilla de *Morella parvifolia*, expuestos a 4 meses de almacenamiento en condiciones de laboratorio. Se indican las comparaciones entre los tratamientos.

Comparaciones	p
Ácido Sulfúrico (1min) vs. Ebullición (2min)	0,000503
Ácido Sulfúrico (15min) vs. Ebullición (2min)	0,000872
Ácido Sulfúrico (1min) vs. Ebullición (1min)	0,0425

2.6.2 Escarificación en semillas almacenadas durante 8 meses

Después de realizar el ANOVA se obtuvo que existen diferencias significativas ($P < 0,001$) en el incremento de masa desde la hora 0 hasta la hora 72. Al realizar las comparaciones se observa que existen diferencias significativas entre las excretas de cuy con 20 gramos frente a los demás tratamientos aplicados como lo indica la Tabla 2.13. El incremento de masa de la semilla con endocarpo al aplicar el tratamiento de la lana de acero, indica un incremento de la masa del 1% después de finalizadas las 72 horas del experimento. Por su parte, el tratamiento de reposo aumentó del 65% después de aplicadas las 72 horas de observación, diferente al control, donde su incremento de masa llega al 0,1%. El tratamiento de excretas de cuy y lana de acero indica un incremento de masa equivalente al 4% en los tratamientos donde se adicionó agua; mientras que en el que no contenía agua el incremento fue de 0,9%, cabe indicar que el control tuvo un mayor aumento de masa alcanzado un porcentaje de 5% al finalizar las 72 horas de prueba. El tratamiento con excretas de cuy, que contenía agua indicaron un aumento entre el 14% (10gr) y 15% (15gr); sin embargo, el control y las excretas sin agua (20gr), mostraron un aumento de masa de 4% como lo expresa la Figura 2.8(a).

Los patrones temporales de germinación en endocarpos almacenados durante 8 meses con semillas indican que, la Figura 2.8. (b), indica que el tratamiento de excretas de cuy 20gr y lana de acero no existieron germinantes, mientras que para 10gr y la adición de agua representó un 22%, el primer evento de germinación ocurrió en el día 22; por su parte los 15gr y la adición de agua dio un porcentaje de 14,66% y el retardo en días fue 24. Por su parte, las excretas de cuy 20gr y 15gr con la adición de agua no dieron resultados positivos

a diferencia de los excretos 10 gr y agua con un porcentaje de 9,33%, el retardo fue de 28 días. El reposo aplicado a las semillas con endocarpo alcanzó un porcentaje de 13,33%, el primer germinante ocurrió en el día 15. El control utilizado en estos tratamientos tiene un porcentaje de 5,33% donde el primer evento de germinación ocurrió en el día 19. Mientras que para la lana de acero se reportó un 10% de germinantes y el retardo en día fue de 26. El remojo obtuvo un 13,33% de germinantes y el primer evento de germinación ocurrió en el día 15 como lo indica la tabla 17. Las curvas de germinación resultaron con diferencias significativas de $P < 0,001$. Las comparaciones múltiples indican diferencias entre las excretas de cuy en diferentes cantidades, así como la escarificación con lana de acero (Tabla 2.15.).

Tabla 2.13. Comparaciones entre los tratamientos de escarificación aplicados a endocarpos con semilla almacenadas durante 8 meses. Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) después de las 72 horas de imbibición.

Comparaciones	Q
Excretas de cuy (20gr) vs Excretas de cuy + Lana de acero 20gr	5,57E+00
Excretas de cuy (20gr) vs Lana de acero	4,65E+00
Excretas de cuy (20gr) vs Excretas de cuy (15gr)+Lana de acero + agua	4,60E+00
Excretas de cuy (10gr)+agua vs Excretas de cuy (20gr)+Lana de acero	5,22E+00

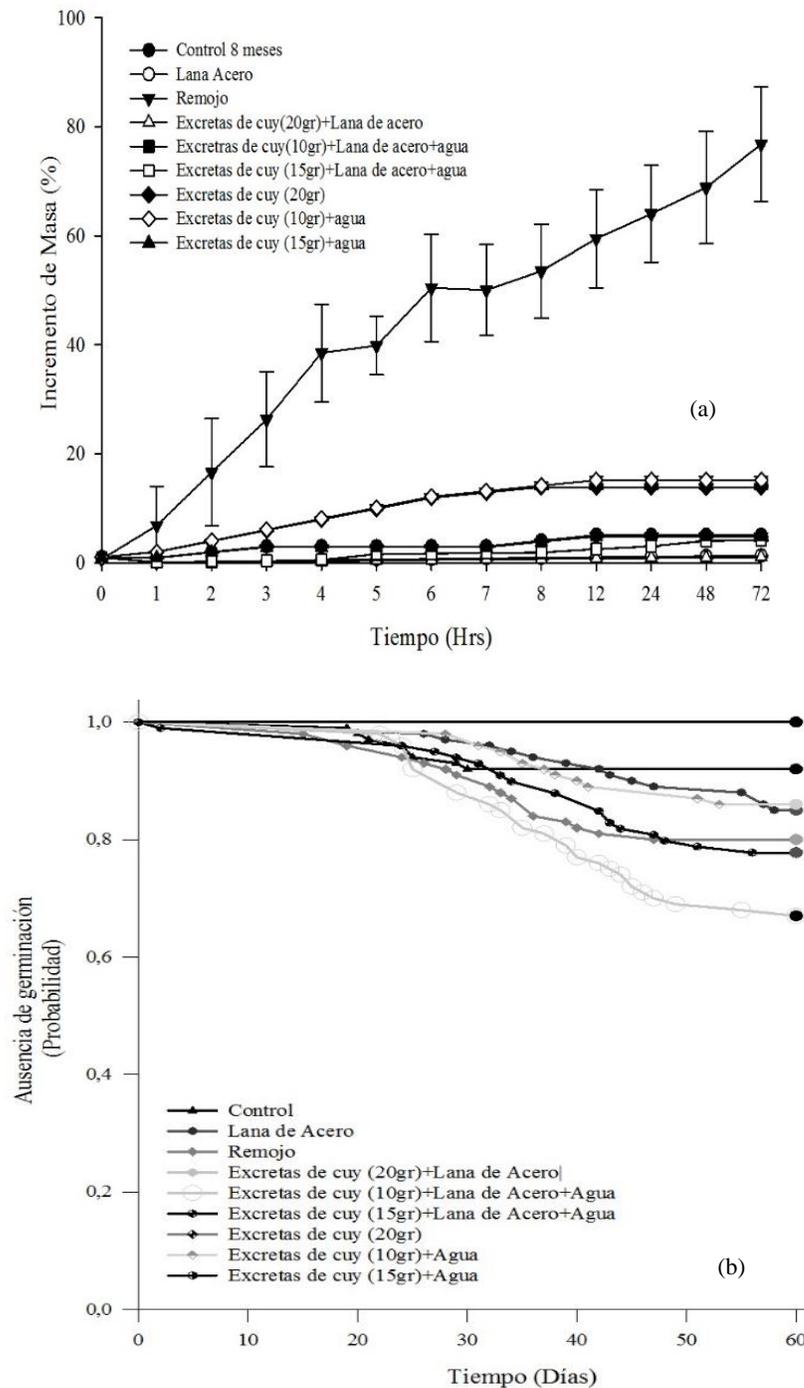


Figura 2.8. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de *Morella parvifolia*. Se muestran: (a). Aumentos medios en masa fresca (\pm SE) en endocarpos con semillas almacenadas durante 8 meses. El eje de tiempo representa las horas 0,1,2,3,4,5,6,7,8,12,24,48 y 72 horas. (b) Estimaciones Kaplan Meier para la ausencia de germinación (probabilidad de no germinar) durante un período de 60 días en endocarpos frescos con semilla en condiciones de laboratorio. Curvas con valores más cercanos a 0 denotan mayores tasas de emergencia.

Tabla 2.14. Efecto de la escarificación en endocarpos almacenados con semillas de *Morella parvifolia*, sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 8 meses., en condiciones de laboratorio

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Incremento de Masa 72hr (%+- SE)	Retardo (d)	t ₅₀ (días) 95 % IC	Final de Germinantes (%)
Control	8 meses	5,09 ± 0,36	19	- ^b	5,33%
Lana de acero	8 meses	1,32 ± 0,03	26	- ^b	10,00%
Remojo	8 meses	76,82 ± 10,51	15	- ^b	13,33%
Excretas de cuy (20gr) + lana de acero	8 meses	1,03 ± 0,12	- ^a	- ^b	0,00%
Excretas de cuy (10gr) + lana de acero + agua	8 meses	4,15 ± 0,10	22	- ^b	22,00%
Excretas de cuy (15gr) + lana de acero + agua	8 meses	4,10 ± 0,12	24	- ^b	14,66%
Excretas de cuy (20gr)	8 meses	13,88 ± 0,37	- ^a	- ^b	0,00%
Excretas de cuy (10gr) + agua	8 meses	15,15 ± 0,66	28	- ^b	9,33%
Excretas de cuy (105r) + agua	8 meses	4,84 ± 0,15	- ^a	- ^b	0,00%

Retardo: Número de días desde la imbibición donde no ocurrió la germinación. t₅₀: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. a: No existe retardo porque no hay germinantes. b: Las estimaciones Kaplan-Meier no alcanzaron la probabilidad de fracaso de 0,50.

Tabla 2.15. Resultados de múltiples comparaciones por pares basados en la prueba de log-rank para las estimaciones Kaplan Meier, para la germinación de endocarpos con semilla de *Morella parvifolia*, expuestos a 8 meses de almacenamiento en condiciones de laboratorio. Se indican las comparaciones entre los tratamientos.

Comparaciones	P
Excretas de cuy (10gr)+ Agua vs. Excretas de cuy (15gr)+Agua	8,99E-09
Excreta de cuy (10gr) vs. Excretas de cuy (20gr) + Lana de acero	1,07E-08
Excretas de cuy (20gr) vs. Excretas de cuy (10gr)+ Agua	1,27E-08
Excretas de cuy (20gr)+Lana de acero vs. Excretas de cuy (15gr)+Lana de acero + Agua	0,0000171
Excretas de cuy (15gr)+Lana de acero vs. Excretas de cuy (10gr)+Lana de acero + Agua	0,0000189
Excretas de cuy (20gr) vs. Excretas de cuy (15gr)+ Agua	0,0000208
Remojo vs. Excretas de cuy (15gr)+Agua	0,000067
Remojo vs. Excretas de cuy (20gr)+ Lana de acero	0,0000727
Remojo vs. Excretas de cuy (20gr)	0,0000787
Control vs. Excretas de (10gr) + Agua	0,000705
Lana de Acero vs. Excretas de cuy (15gr)+ Agua	0,00139
Lana de Acero vs. Excretas de cuy (20gr)	0,00146
Lana de Acero vs. Excretas de cuy (20gr)+ Lana de acero	0,00153
Excretas de cuy (10gr)+ Agua vs. Excretas de cuy (15gr)+Agua	0,00229
Excretas de cuy (20gr) vs. Excretas de cuy (10gr)+ Agua	0,00237

2.7 Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo

El recipiente con mayor contenido de cera correspondió a los endocarpos que tuvieron un almacenamiento mayor a los seis meses alcanzaron un valor de 0,0282g, seguido de los endocarpos con un tiempo de almacenamiento de cuatro meses cuyo valor fue de 0,0128g y por último fueron las semillas frescas y su valor fue de 0,0108gr . Además es importante mencionar que el color de la cera varió cuando llegó a su punto de ebullición, de igual modo cuando se encontraban ya evaporadas. (Figura 2.9.)

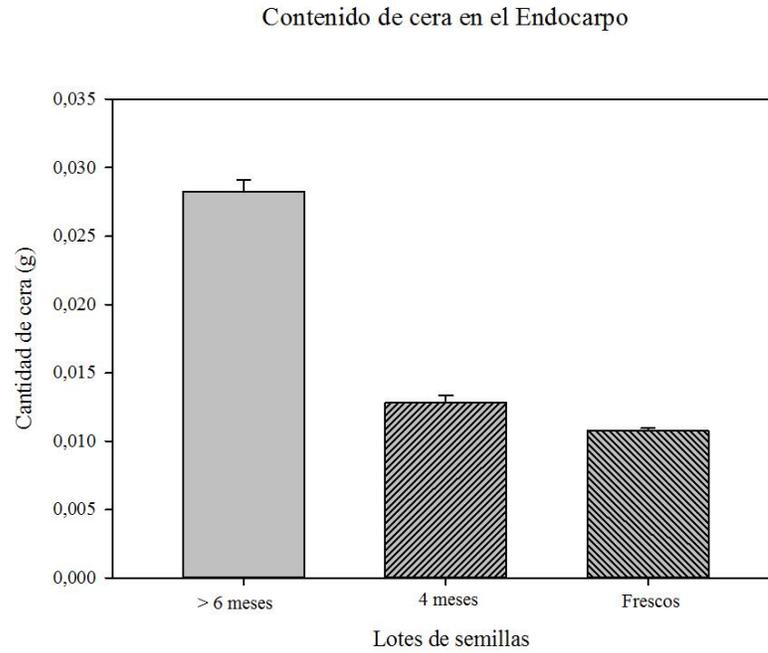


Figura 2.9. Contenido de cera en el endocarpo de *Morella parvifolia*, después de hervir los endocarpos durante 30 minutos en 40ml de agua. El lote 1 corresponde a un tiempo de almacenamiento >6 meses, el lote 2 de cuatro meses y el lote 3 fueron endocarpos frescos.

CAPÍTULO III

DISCUSIONES

3.1 Efecto del endocarpo sobre las semillas

Los tratamientos aplicados para promover la imbibición y germinación en semillas frescas con y sin endocarpo indicaron que *Morella parvifolia*, es permeable al agua. Mientras que las comparaciones con semilla libre permitió determinar que el endocarpo produce una absorción lenta de agua pero no inhibe su absorción, estos resultados se relacionan con los obtenidos por Luna (2011), que indica un porcentaje de absorción de agua del 2,8% hasta las 72 horas de imbibición con la misma especie.

Las semillas extraídas del endocarpo germinaron a partir del día 7; pero se observaron altos niveles de contaminación por patógenos como *Alternaria* sp., *Botrytis cinérea* y *Fusarium* sp., que por lo general se asocian con especies forestales (Sánchez & Trapero, 2000); estos patógenos facilitan la pudrición por falta de oxígeno y limitan los procesos de absorción de agua y germinación (Schmidt, 2008). Ocasionando que sólo el tercio de la población evaluada germinara. Souza & Marcos-Filho (2001), indican que la cubierta de la semilla es un modulador de relaciones entre la semilla y el ambiente al encontrarse asociada con una dispersión temporal y espacial de la germinación, que puede explicar, anticipar o permitir la modificación del rendimiento de las semillas en diferentes condiciones.

3.2 Efecto de la escarificación en semillas frescas

3.2.1 Escarificación química

Las semillas sumergidas en solventes químicos para obtener una lixiviación del soluto (C. Baskin & Baskin 2001; Evenari 1949; Ketring 1973) como agua oxigenada y jabón líquido; mostraron incrementos negativos de masa después de las 72 horas de imbibición (-0,84;-2,09) y al igual que los porcentajes de germinación (0 y 0,67%), debido a que la

aplicación de estos solventes influyeron en la deshidratación del endocarpo y la semilla, imposibilitando la absorción de agua por parte del endocarpo (Mancilla et.al 2013). El compuesto orgánico empleado (acetona), permitió la remoción de la cubierta impermeable (cera) del endocarpo. No obstante, los resultados no fueron relevantes por el poder de deshidratación del solvente hacia la semilla con endocarpo. La utilización del agua oxigenada para la desinfección, mostró un incremento en el porcentaje de germinación a diferencia de los demás solventes químicos empleados, esto ocurre por una alteración de la semilla con endocarpo ya que el peróxido de hidrógeno al descomponerse altera la disponibilidad de agua para el embrión (Schmidt, 2008).

3.2.2 Escarificación abrasiva

Los tratamientos de escarificación abrasivos utilizados permitieron una absorción lenta de agua por parte de la semilla y un incremento de masa (0,31-1,8%) transcurridas las 72 horas de imbibición. Esto ocurre porque la imbibición es un proceso físico y metabólico que facilita el ingreso de agua hacia la semilla, mediante la escarificación de la capa que cubre; independiente de si está inactivo o latente, viable o no viable (Bewley & Black 1982; Mayer & Poljakoff-Mayber 1982). El cambio de agua de los endocarpos con semillas y el choque térmico aumentó la proporción de germinación (20%) con respecto a los resultados obtenidos por Castro & Ayala (2011) y Ortíz (2003) de 10,76% para endocarpos con semillas de *Morella pubescens*. Debido a que la inmersión de la semilla en agua, permitió eliminar posibles inhibidores que se encuentran en la cubierta seminal mientras que el cambio drástico de temperatura influyó en la ruptura del endocarpo (Bravo et.al 1996). Por lo que, permite absorber agua con normalidad, sin embargo es necesario considerar que no finaliza con un caso exitoso de germinación (Schmidt 2000) (C. C. Baskin & Baskin, 2001).

3.3 Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio por 4, 5, 7 y 8 meses

La longevidad de las semillas está determinado por su genética y fisiología, eventos que deterioran o dañan la semilla con o sin endocarpo y por la interacción entre factores individuales durante el almacenamiento (De Luca, 2010). La viabilidad obtenida para *M.*

parvifolia, podrían indicar que las semillas con endocarpo tienen mayor longevidad en un almacenamiento que no sobrepase los 4 meses, resultado que difiere a los obtenidos por López et. al (2002) con un porcentaje de viabilidad de 43%. El porcentaje de germinantes y retardo en días en endocarpos con semillas frescas obtenidas (66% y 7 días) explican la progresión del envejecimiento natural, que sigue un patrón sigmoideo. Este inicia de manera lenta, y luego de un tiempo existe un rápido declive (Schmidt 2008). El declive ocurrido se observó en semillas almacenadas en un tiempo entre 4 meses (16%) y <6 meses (5%). Además, este fenómeno se relaciona con la actividad metabólica y su requerimiento de agua durante el proceso; así la respiración de la semilla termina cuando el contenido de humedad se ha reducido (Bewley & Black 1982; Murdoch & Ellis 2000).

Las semillas con endocarpo permanecen activas metabólicamente en el campo o almacenamiento, pero, su tasa de metabolismo se reduce mediante el almacenamiento a temperaturas reducidas y por el contenido de humedad (Pammenter & Berjak, 2014). Esto explica la importancia de almacenar adecuadamente luego de la colección de las semillas; además de que la cubierta cerosa protege que la semilla sin endocarpo, para que no pierda humedad mientras está almacenada. Cabe destacar que las condiciones de almacenamiento óptimas mantienen su longevidad pero no mejora (Delouche & Baskin, 1973).

3.4 Efecto del almacenamiento en semillas libres

Las semillas libres utilizadas en tiempos de almacenamiento que variaron entre 4 y 11 meses indicaron incrementos en sus masas (185%), debido a la extracción de la semilla del endocarpo. Esto incide nuevamente en que el endocarpo retarda la absorción de agua por parte de la semilla. De tal modo que, el agua que se encuentra disponible para activar el metabolismo está fuertemente relacionada con la temperatura. Por lo tanto, si el contenido de humedad y la temperatura son bajas el metabolismo disminuirá influyendo en la longevidad de los endocarpos con semillas almacenados a través de procesos de envejecimiento (Rajjou & Debeaujon, 2008; Schmidt, 2008). Estos tratamientos poseen los mejores resultados dentro de la presente investigación. El tratamiento de semilla libre, almacenada durante 4 meses obtuvo un porcentaje de germinación (26,66%), el primer

evento ocurrió en el día 7. A diferencia del tratamiento con un tiempo de almacenamiento de 11 meses que alcanzó un porcentaje de germinación menor (7,33%) y el día en el que ocurrió el evento de germinación aumentó (13 días). El almacenamiento es una técnica que juega un papel fundamental que afecta el vigor y viabilidad de semillas de manera significativa y consecuentemente la infección por hongos al ser retirado el endocarpo que cubre a la semilla (Schmidt 2008; Souza & Marcos-Filho 2001).

La viabilidad de *M. parvifolia*, que fue superior al 50% indica una adaptación evolutiva favorable para la especie y se podría recomendar para programas de recuperación de ecosistemas a diferencia de especies donde la viabilidad no alcanza el 30% como *Weinmannia fagaroides* o *Escallonia myrtilloides* (Castro & Ayala 2011; Schmidt 2000). Además se debe considerar que la viabilidad depende de largos períodos de almacenamiento y ocasionan que la mayoría de especies no germinen al mismo tiempo como una estrategia evitando que las plántulas no mueran por efectos de la sequía y que asegure la permanencia de la especie (Serrada, Navarro-Cerrillo, & Pemán 2005).

3.5 Efecto de la escarificación en semillas almacenadas

Los tratamientos donde se utilizó ácido sulfúrico incidieron en la eliminación de la cera y favorecieron una permeabilidad positiva del endocarpo almacenado. La aplicación de este solvente en la semilla con endocarpo registró un incremento significativo (6%) cuando permanecía en el menor tiempo, no obstante en la semilla con endocarpo al permanecer demasiado tiempo en ácido afectó los porcentajes de germinación; por los daños ocasionados al endocarpo como a la semilla (Guzmán, Cruz, & Miranda, 2013).

No se obtuvieron germinantes en los tratamientos que se utilizó endocarpos con semillas a puntos de ebullición elevadas. Porque al ser sometidas a cambios de temperatura drásticos ocasionan que la cubierta leñosa no sea permeable al agua reduciendo la actividad metabólica y el incremento de masa (Pretell et al., 1985). El tratamiento de reposo posee un porcentaje de germinación considerable (13,33%) con respecto a otros tratamientos de escarificación aplicados en semillas almacenadas debido a que se utilizó temperaturas inferiores al punto de ebullición conocido como “calor húmedo” y se limita

solamente a la asimilación de las capas externas; mientras que las internas se debilitan y no fueron destruidas como en el caso del tratamiento de ebullición (FAO, 1991; Gordon & Rowe, 1982).

Se utilizaron tratamientos biológicos (excretas de cuy) en semillas almacenadas por su disponibilidad en la naturaleza y son esenciales para romper diferentes estructuras que disminuye la absorción de agua de la semilla por parte de la corteza y (Schmidt, 2008). Los resultados obtenidos al aplicar las excretas de cuy en una cantidad de 10 gr, adicionar agua y luego agitar con lana de acero, permitieron aumentar los patrones de imbibición (4,5%) que dio como resultado la permeabilidad de la semilla con endocarpo y la germinación resultó satisfactoria (22%), superior a los tratamientos aplicados con ácido sulfúrico. Estos resultados concuerdan con las recomendaciones realizadas por Wunder (1966), que utiliza la fermentación para incrementar la permeabilidad del endocarpo e influir en el porcentaje de germinación.

3.6 Efecto del almacenamiento en el contenido de cera adherida al endocarpo

El contenido de cera de las semillas con endocarpo se relaciona con el tiempo de almacenamiento. Por tanto, en semillas frescas con endocarpo se observó menor cantidad de cera (0,010gr), que aquellos endocarpos que fueron almacenados durante 1 mes (0,013gr) y mayor a 6 meses (0,028). Esto se debe a que la cera que cubre la semilla previene la pérdida de humedad durante el almacenamiento prolongado (Buschhaus et al. 2007; Kolattukudy 2003) con el fin de mantener sus funciones fisiológicas (Reicosky & Hanover 1978).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- El presente estudio permitió identificar que el endocarpo no es una barrera que impide la absorción de agua por parte de la semilla es una estructura que retarda su absorción influyendo en el retardo en días para su germinación.
- La utilización de semillas frescas con endocarpo y la remoción de la cera permitieron obtener altos porcentajes de germinación (66%) para la propagación de la especie en condiciones controladas.
- El almacenamiento de semillas con endocarpo y semillas libres es un factor que influye de manera negativa en los patrones temporales de imbibición y germinación. Los tratamientos de escarificación utilizados para permeabilizar el endocarpo y permitir la absorción de agua fueron de bajo costo para que su aplicación de viveristas y comunidades rurales.
- Futuras investigaciones deben relacionarse en conocer la ecología de propagación y supervivencia en condiciones de vivero e *in-situ* con la utilización de semillas frescas. Con el fin de conocer los potenciales costos tanto en el sitio donde se pretende restaurar, como en el vivero debido a los múltiples beneficios que ofrece para ecosistemas degradados.

Recomendaciones

Para alcanzar altos porcentajes de germinación se recomienda utilizar semillas con maduras de *Morella parvifolia*, con un tiempo de almacenamiento que no supere las 72 horas.

Para semillas frescas y almacenadas no se debe eliminar del endocarpo por los altos niveles de contaminación causada por patógenos hacia la semilla, además por el desperdicio del material de propagación al intentar su extracción.

El remojo de las semillas con endocarpo durante 15 días y la desecación a temperatura ambiente es recomendable para facilitar la absorción de agua de la semilla y promover su germinación.

BIBLIOGRAFÍA

- Allison, P. (2010). *Survival Analysis Using SAS*. (I. I. Cary, Ed.) (Segunda). North California, USA.
- Bainbridge, D. (1990). The restoration of agricultural lands and dryland. *Environmental Restoration*, 13.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination.*, xiv + 666 pp.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2001). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. *American Journal of Botany* (Vol. 86). <http://doi.org/10.2307/2656711>
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1). <http://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bewley, J. D., & Black, M. (1982). Viability and longevity. In S. Verlag (Ed.), *Physiology and biochemistry of seeds - in relation to germination*. (pp. 1–59).
- Blakesley, D., Elliott, S., Kuarak, C., Navakitbumrung, P., Zangkum, S., & Anusarnsunthorn, V. (2002). Propagating framework tree species to restore seasonally dry tropical forest: Implications of seasonal seed dispersal and dormancy. *Forest Ecology and Management*, 164(1–3), 31–38. [http://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00609-0](http://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00609-0)
- Bradshaw, A. (1987). Restoration: an acid test for ecology. *Restoration Ecology: The New Frontier*, 23–29.
- Bravo, A., Castillo, A., & Chaves, G. (1996). *Evaluación de tres métodos sobre la pre-germinación de semillas de Laurel de cera (Myrica pubescens H.B.K.)*. Universidad de Nariño. Departamento de Biología. Programa de especialización en ecología.
- Brown, J. (1994). Restoration ecology: living with the Prime Directive. In *Restoration of Endangered Species: Conceptual issues, Planning, and Implementation* (pp. 355–380). Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Restoration+ecology:+living+with+the+Prime+Directive#0%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?>

hl=en&btnG=Search&q=intitle:Restoration+ecology:+living+with+the+prime+directive#0

- Buschhaus, C., Herz, H., & Jetter, R. (2007). Chemical composition of the epicuticular and intracuticular wax layers on adaxial sides of *Rosa canina* leaves. *Annals of Botany*, *100*(7), 1557–1564. <http://doi.org/10.1093/aob/mcm255>
- C., V.-Y., & B.A., I. (1996). La restauración de la vegetación, árboles exóticos vs. árboles nativos. *Ciencias*, (43), 16–23.
- Cairns, J., & Cairns Jr., J. (1997). Sustainability, ecosystem services, and health. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, *4*(3), 153–165. <http://doi.org/10.1080/13504509709469951>
- Callaway, R. (1992). Effect of shrubs on recruitment of *Quercus douglasii* and *Q. lobata* in California. *Ecology*, *73*, 2118–2128.
- Castro, G., & Ayala, R. (2011). *Optimización de técnicas para la pre-germinación del laurel de cera (Morella pubescens H y B ex Willdenow)*. Universidad Técnica del Norte. Retrieved from <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/818/3/03FOR187TESIS.pdf>
- Ciccarese, L., Mattsson, A., & Pettenella, D. (2012). Ecosystem services from forest restoration: Thinking ahead. *New Forests*, *43*(5–6), 543–560. <http://doi.org/10.1007/s11056-012-9350-8>
- Clewell, a, Aronson, J., & Winterhalder, K. (2004). The SER International primer on ecological restoration. *Ecological Restoration*, *2*(2), 206–207. <http://doi.org/S34>
- Connell, J. H., & Slatyer, R. O. (1977). Mechanisms of Succession in Natural Communities and Their Role in Community Stability and Organization. *The American Naturalist*, *111*(982), 1119–1144. <http://doi.org/10.1086/521238>
- Crespo, A. (2014). *Direct seeding with native trees in South Central Ecuador: Enhancing restoration potential with local knowledge*. University of Florida.
- Dalling, J. W., Harms, K. E., & Schupp, E. W. (2002). Ecología De Semillas. In *Ecología y Conservación De Bosques Neotropicales* (Ediciones, p. 345).
- De Luca, N. (2010). Características de las semillas, tratamientos pregerminativos, técnicas de recolección y almacenamiento., 45–48. Retrieved from <http://cursoreforestacion.files.wordpress.com/2010/05/tecnicas-y-tratamientos->

pregerminativos.pdf

- Del Pozo, A. (1985). *Zonación microclimática en el matorral: efecto de los manchones de arbustostle*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias.
- Del Pozo, A., Fuentes, E., Hajek, E., & Molina, J. (1989). Microclima y manchones de vegetación. *Revista Chilena de Historia Natural*, 62, 85–64.
- Delouche, J. C., & Baskin, C. C. (1973). Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, 1, 427–452.
- Draper, N. R., & Smith, H. (1998). *Applied Regression Analysis. Applied Regression Analysis*. <http://doi.org/10.2307/2987167>
- Evenari, M. (1949). Germination inhibitors. *The Botanical Review*, 15(3), 153–194. <http://doi.org/10.1007/BF02861721>
- FAO. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales*. Roma.
- Fordham, A. J. (1983). Of birds and bayberries seed dispersal and propagation of three *Myrica* species. *Arnoldia*, 43(4), 20–23.
- Fuentes, E., Hoffmann, A., Poiani, A., & Alliende, M. (1986). Vegetation change in large clearings: patterns in the Chilean matorral. *Oecología*, 68, 358–366.
- Fuentes, E., Otaíza, R., Alliende, M., Hajek, E., & Molina, J. (1984). Shrubs clumps of the Chilean matorral vegetation: structure and possible maintenance mechanisms. *Oecología*, 62, 405–411.
- Gordon, A. G., & Rowe, D. C. F. (1982). *Seed manual for ornamental trees and shrubs*. (HMSO, Ed.) (59th ed.). Londres: Comm. Bull.
- Guzmán, A., Cruz, E., & Miranda, C. (2013). GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Byrsonima crassifolia* (L .) Kunth SEEDS. *Science (New York, N.Y.)*, 1–8.
- Henley, S. (1983). Principles and procedure of statistics: A biometrical approach. *Computers & Geosciences*. [http://doi.org/10.1016/0098-3004\(83\)90054-7](http://doi.org/10.1016/0098-3004(83)90054-7)
- Holl, K. D. (2012). Restoration of Tropical Forests. In *Restoration Ecology: The New Frontier* (pp. 103–114). <http://doi.org/10.1002/9781118223130.ch9>
- Houghton, R. A. (1992). Tropical deforestation and atmospheric carbon dioxide. *Tropical Forests and Climate*, 99–121. Retrieved from <http://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0027091203&partnerID=40&rel=R6.5.0>

- Jaksic, F., & Fuentes, E. (n.d.). Why are native herbs in the Chilean matorral more abundant beneath bushes: microclimate or grazing?
- Jorgensen, P. ., & León-Yáñez, S. (1999). *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. (M. B. Garden, Ed.). Missouri, USA.
- Ketring, D. L. (1973). Germination inhibitors. *Seed Sci. Technol*, 1, 305–324.
- Kolattukudy, P. E. (2003). Natural Waxes on Fruits. *Biological Chemistry*, 1–4.
- Lamb, D., Erskine, P. D., & Parrotta, J. A. (2005). Restoration of degraded tropical forest landscapes. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5754), 1628–1632. <http://doi.org/10.1126/science.1111773>
- Lamb, D., Parrotta, J., Keenan, R., & Tucker, N. (1997). Rejoining Habitat Remnants: Restoring Degraded Rainforest Lands. In *Tropical Forest Remnants: Ecology, Management, and Conservation of Fragmented Communities* (pp. 366–385).
- Lambin, E. F., & Meyfroidt, P. (2010). Land use transitions: Socio-ecological feedback versus socio-economic change. *Land Use Policy*, 27(2), 108–118. <http://doi.org/10.1016/j.landusepol.2009.09.003>
- López, F., Enríquez, J., & Pertuz, F. (2002). Respuesta de las semillas de *Myrica parvifolia* a la acción pregerminativa de la giberelina. *Colombia Forestal*, 7(1993), 63–67.
- Lugo, A. (1992). Tropical forest uses. *Developments or Destruction*, 117–132.
- Luna, G. (2011). Laurel de cera (*Morella pubescens*), especie promisoría de usos múltiples empleada en agroforestería. *Revista Agroforestería Neotropical*, 1(1), 1–9. Retrieved from [revistas.ut.edu.co/index.php/agroforesteria/article/view/320?](http://revistas.ut.edu.co/index.php/agroforesteria/article/view/320)
- MacDonald, B. (2006). Practical woody plant propagation for nursery growers. *Portland, OR: Timber Press*.
- Mancilla, C., Castrejon, C., Rosas, T., Blanco, E., & Perez, S. (2013). *Extracción y Separación de Pigmentos Vegetales*. www.scribd.com. Universidad del Valle de México.
- Mayer, a. M., & Poljakoff-Mayber, a. (1982). The Germination of Seeds. *The Germination of Seeds*, 10–21. <http://doi.org/10.1016/B978-0-08-028853-6.50009-7>
- Meffe, G., & Carroll, C. (1994). Principles of conservation biology. *Sinauer*, 237–264.
- Meli, P. (2003). Restauración ecológica de bosques tropicales. Veinte años de investigación académica. *Interciencia*, 28(10), 581–589+622.

- Minga Ochoa, D., & Verdugo, A. (2016). *Árboles y arbustos de los ríos de Cuenca* (Primera). Cuenca: Editorial Don Bosco.
- Muñoz, J., Muñoz, T., Galardo, L. & Rodríguez, B. (1993). *Análisis de la producción del laurel (Myrica pubescens H.B.K.) y la comercialización de la cera en algunos municipios del departamento Nariño*. Universidad de Nariño.
- Muñoz, H. J., & Luna, C. (1999). *Guía para el cultivo, aprovechamiento y conservación del laurel de cera (Myrica pubescens). H. & B. ex Willdenow*. Santa Fé, Bogotá: Convenio Andrés Bello.
- Murcia, C. (1995). Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. [http://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)88977-6](http://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)88977-6)
- Murdoch, A. J., & Ellis, R. H. (2000). Dormancy , Viability and Longevity. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 183–214. <http://doi.org/10.1079/9780851994321.0183>
- Nikolaeva, M. G. (1977). Factors controlling the seed dormancy pattern. *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*, 51–74.
- Ortíz, P. (2003). *Efecto del Acido Giberelico, el Acido clorhídrico y la estratificacion, sobre la germinacion de semillas de pinabete (Abies guatemalensis Rehder)*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Palang, H., Mander, Ü., & Naveh, Z. (2000). Holistic landscape ecology in action. *Landscape and Urban Planning*, 50(1–3), 1–6. [http://doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00076-1](http://doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00076-1)
- Pammenter, N. W., & Berjak, P. (2014). Physiology of Desiccation-Sensitive (Recalcitrant) Seeds and the Implications for Cryopreservation. *International Journal of Plant Sciences*, 175(1), 21–28. <http://doi.org/10.1086/673302>
- Parra-O., C. (2003). MYRICACEAE EN COLOMBIA Taxonomic revision of Myricaceae from Colombia. *Caldasia*, 25(1), 23–64.
- Parra, C. (2003). Taxonomic revision of Myricaceae from Colombia. *Caldasia*, 25(1), 23–64. Retrieved from [http://www.unal.edu.co/icn/publicaciones/caldasia/25\(1\)/botanica2.pdf](http://www.unal.edu.co/icn/publicaciones/caldasia/25(1)/botanica2.pdf)
- Perez, F., & Pita, J. (2001). *Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas*.
- Pérez, H. E., & Kettner, K. (2013). Characterizing *Ipomopsis rubra* (Polemoniaceae)

- germination under various thermal scenarios with non-parametric and semi-parametric statistical methods. *Planta*, 238(4), 771–784. <http://doi.org/10.1007/s00425-013-1935-8>
- Pintado, K. (2016). *Influencia del microclima y labrado del suelo en la siembra directa de Oreocallis grandiflora en dos ecosistemas degradados del Sur del Ecuador*. Universidad del Azuay.
- Pipinis, E., Milios, E., Kitikidou, K., & Radoglou, K. (2016). Treatments for seed germination improvement in *Prunus azorica*, *Frangula azorica* and *Morella faya*, three native species of Azores Islands. *Botany Letters*, 163(3), 329–335. <http://doi.org/10.1080/23818107.2016.1206035>
- Pretell, J., Ocaña, D., Jon, R., & Barahona, E. (1985). Apuntes sobre algunas especies forestales nativas de la sierra peruana. *Proyecto FAO, Holanda, INFUR, GCP, PER, 027, NET*.
- Pyke, D. A., & Thompson, J. N. (1986). Statistical analysis of survival and removal rate experiments. *Ecology*. <http://doi.org/10.2307/1938523>
- Rajjou, L., & Debeaujon, I. (2008). Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Comptes Rendus - Biologies*. <http://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.07.021>
- Reicosky2, D. A., & Hanover, J. W. (1978). Physiological Effects of Surface Waxes I. LIGHT REFLECTANCE FOR GLAUCOUS AND NONGLAUCOUS PICEA PUNGENS1. *Plant Physiol*, 62, 101–104. <http://doi.org/10.1104/pp.62.1.101>
- Sánchez, M. ., & Trapero, A. (2000). Estado fitosanitario: Ecología y Control de enfermedades de semillas. In C. de M. A. J. de A. Andal (Ed.), *Material Vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento* (Imagen & T, p. 229). Andalucía, España.
- Sarmiento, F. O. (1995). Restoration of equatorial Andes: the challenge for conservation of trop-Andean landscapes in Ecuador. *Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forests. Proc. Symposium, New York Botanical Garden, 1993*, (January 1995), 637–651. Retrieved from <https://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0029503961&partnerID=40&rel=R6.5.0>

- Schmidt, L. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. (D. F. S. Centre, Ed.) (Primera). Dinamarca.
- Schmidt, L. (2008). *A review of direct sowing versus planting in tropical afforestation and land rehabilitation. Development and Series 10-2008*. Retrieved from <http://curis.ku.dk/ws/files/20573566/de10.pdf>
- Serrada, R., Navarro-Cerrillo, R., & Pemán, J. (2005). La calidad de las repoblaciones forestales: una aproximación desde la selvicultura y la ecofisiología. *Investigación Agraria: Sistemas Recursos Forestales*, 14(3), 462–481.
- Simonetti, J. (1983). Effects of goats upon native rodents and european rabbits in the Chilean matorral. *Revista Chilena de Historia Natural*, 56, 27–30.
- Souza, F. H. D. De, & Marcos-Filho, J. (2001). The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 24(4), 365–375. <http://doi.org/10.1590/S0100-84042001000400002>
- Systat Software. (2014). Sigmaplot. San Juan, CA. USA.
- Walker, L. R. (1990). Germination of an invading tree species (*Myrica faya*) in Hawaii. *Biotropica*, 22(2), 140–145.
- Whitmore, TC; Sayer, J. (1992). Deforestation and species extinction in Tropical Forest. *Tropical Deforestation and Species Extinction. IUCN. Chapman and Hall*, 1–14.
- Whitmore, T. (1993). An introduction to tropical rain forests. *Oxford University Press*, 226.
- Whitmore, T. (1997). Tropical forest disturbance, disappearance, and species loss. *Ecology, Management, and Conservation of Fragmented Communities*, 3–12.
- Wunder, W. G. (1966). *The handling of seed in Sudan forestry*. (S. F. D. and U. F. R. and E. Project., Ed.) *Pamphlet* (Vol. 19). Soba, Jartum.: Forest Res. Inst.,.

ANEXOS

Anexo 6. Tablas detalladas de germinación de semillas frescas y almacenadas con y sin endocarpo de *Morella parvifolia*

Tratamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	0	8	20	37	23	5	5	1	99	66,66%
Semilla libre	3	21	9	16	0	0	0	0	49	32,66%

Efecto del endocarpo sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en endocarpos frescos con semillas en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	0	8	20	37	23	5	5	1	99	66,66%
Jabón líquido	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0,67%
Agua Oxigenada	0	0	0	0	0	0	0	4	4	2,67%
Acetona	0	0	0	0	0	2	0	0	2	1,33%

Efecto de la escarificación química sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en semillas frescas en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	0	8	20	37	23	5	5	1	99	66,66%
Vidrio Molido	0	0	0	0	0	0	4	0	4	2,67%
Intemperie	0	0	0	8	9	13	0	0	30	20,00%
Lana de Acero	0	0	0	0	0		1	0	1	0,67%

Efecto de la escarificación abrasiva sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación en semillas frescas en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
		1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	4 meses	0	0	0	0	0	0	0	6	6	4%
	5 meses	0	0	1	1	0	0	0	2	2	1,33%
	7 meses	0	0	0	0	1	5	1	7	7	5%
	8 meses	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,33%

Efecto del almacenamiento en frascos de vidrio en semillas con endocarpo sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4, 5, 7 y 8 meses en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
		1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	4 meses	0	0	0	0	0	0	0	6	6	4%
	4 meses	3	19	16	1	1	0	0	0	40	26,66%
	11 meses	0	6	3	2	0	0	0	0	11	7%

Efecto del almacenamiento en semillas libres sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4 y 11 meses en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	0	0	0	0	0	0	0	6	6	4%
Ebullición (1min)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00%
Ebullición (2min)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00%
Ácido sulfúrico (30min)	0	0	0	0	0	3	2	3	8	5,33%
Ácido sulfúrico (15min)	0	0	0	0	0	1	0	1	2	1,33%
Ácido sulfúrico (1min)	0	0	0	1	0	1	0	2	4	6%

Efecto de la escarificación en semillas almacenadas con endocarpo sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 4 meses en condiciones de laboratorio.

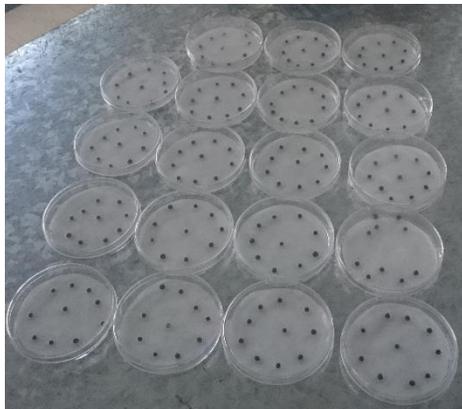
Tratamiento	Semanas								Total	Porcentaje de Germinación
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Control	0	0	3	5	0	0	0	0	8	4%
Lana de acero	0	0	0	3	4	4	1	3	15	10,00%
Remojo	0	2	2	5	8	3	0	0	20	13,33%
Excretas de cuy (20gr) + lana de acero	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00%
Excretas de cuy (10gr) + lana de acero + agua	0	0	9	15	3	3	2	1	33	22,00%
Excretas de cuy (15gr) + lana de acero + agua	0	0	0	5	9	5	2	1	22	14,66%
Excretas de cuy (20gr)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
Excretas de cuy (10gr) + agua	0	0	0	4	6	2	2	0	14	9,33%
Excretas de cuy (105r) + agua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

Efecto de la escarificación en semillas con endocarpo almacenadas sobre los patrones temporales de imbibición y respuestas de germinación durante 8 meses en condiciones de laboratorio.

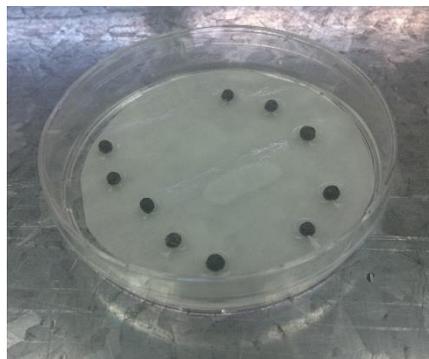
Anexo 7. Fotografías del tratamiento control aplicado a *Morella parvifolia* en condiciones controladas.



Siembra del tratamiento control luego de transcurridas las 72 horas de imbibición



Lote de 150 semillas con endocarpo de *Morella parvifolia* sembradas en cajas Petri sobre papel filtro y 5 ml de agua destilada.



Réplica de 10 semillas con endocarpo de *Morella parvifolia* sembradas en caja Petri sobre papel filtro y 5ml de agua destilada.



Germinantes de *Morella parvifolia*



Semillas con endocarpos de *Morella parvifolia* contaminados.

Anexo 8. Fotografías del tratamiento control aplicado a semillas frescas con endocarpo



Endocarpos frescos con semillas de *Morella parvifolia* con cera.



Cera extraída a endocarpos con semilla de *Morella parvifolia* frescos.



Endocarpo fresco con semilla de *Morella parvifolia*.

Anexo 9. Fotografías del tratamiento control para semillas con endocarpo de *Morella parvifolia* con un período de almacenamiento de 4 meses



Semillas con endocarpo almacenadas por un periodo de 4 meses de *Morella parvifolia*



Cera extraída a endocarpos con semilla de *Morella parvifolia* con un periodo de almacenamiento de 4 meses.



Endocarpo con semilla almacenado por 4 meses de *Morella parvifolia*

Anexo 10. Fotografías del tratamiento de semilla libre de *Morella parvifolia*



Endocarpos luego de la extracción de semilla de *Morella parvifolia*



Semilla extraída de *Morella parvifolia*



Semilla en proceso de imbibición de *Morella parvifolia*



Semillas germinantes de *Morella parvifolia* luego de la extracción del endocarpo

Anexo 11. Fotografías de la extracción de cera de endocarpo con semilla de *Morella parvifolia*



Inicio de la prueba de extracción de cera de *Morella parvifolia*



Ebullición de los endocarpos de *Morella parvifolia*



Endocarpos de *Morella parvifolia* luego del proceso de ebullición.



Cantidad de cera extraída de 150 endocarpos de *Morella parvifolia*