



UNIVERSIDAD DEL AZUAY
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y GESTIÓN

**Variación en las características fenotípicas de semillas de
Oreocallis grandiflora (Lam.) R.Br. de cuatro poblaciones
de la provincia del Azuay.**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título:
BIÓLOGA CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN**

Autora:

DOMÉNICA ESTEFANÍA VINTIMILLA MÉNDEZ

Director:

ANTONIO CRESPO AMPUDIA Ph.D.

CUENCA, ECUADOR

2019

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a mis padres Claudio y Gladys por ser ejemplo de perseverancia, a mis hermanas Tania, Ximena y a toda mi familia por el apoyo brindado durante toda mi carrera universitaria.

De manera muy especial a mi hija Betsabe y a mi esposo Fabián quienes fueron mi motivación más grande para concluir con éxito mis estudios.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente al Dr. Antonio Crespo Ampudia, por su apoyo y confianza incondicional al abrirme las puertas del Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas de la Universidad del Azuay, permitiéndome culminar con éxito esta investigación. A Blgo. Danilo Minga y a Dr. Gustavo Chacón por ser parte de mi tribunal y por brindarme su confianza, su apoyo y sus conocimientos durante mi etapa universitaria.

De igual manera, quisiera agradecer de manera especial a Dra. Ximena Palomeque directora del “Centro de Agroforestería y Manejo del Paisaje” de la Facultad de Ciencias Agronómicas perteneciente a la Universidad de Cuenca, por brindarme su confianza y ayuda durante este proceso.

A Claudio y Gladys, muchas gracias por brindarme su gran ayuda y apoyo incondicional durante toda mi vida, por ser mis pilares de apoyo en los momentos de flaqueza y por ser mis ejemplos de superación. A mis hermanas, a mis suegros, cuñados, sobrinos y familia en general quienes siempre han estado ahí para apoyarme en los diversos momentos de mi vida.

A mi hija Betsabe y a mi esposo Fabián por entenderme, apoyarme y amarme de manera incondicional.

A Diana Inga, Marcela Sánchez, Katherine Nieves y Emilia Ochoa quienes me han sabido brindar su apoyo y su amistad sincera durante todo este tiempo, gracias por brindarme su ayuda incondicional para poder realizar este trabajo, por escucharme y aconsejarme en los momentos en los cuales ya no sabía qué hacer. Gracias por permitirme formar parte de una gran familia como lo es el Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas #TeamNativas...!!. De igual manera a todos/as los/as pasantes de este gran laboratorio por su gran ayuda y ánimos. A Michelle Cabrera L. por haberme ayudado en todo momento, por ser una gran amiga y compañera.

Al ser que brinda fuerza y que nos guía día a día, gracias por haberme permitido rodearme de gente tan buena, amable y considerada en mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO 1: MATERIALES Y MÉTODOS	14
1.1 Sitios de colección de semillas.....	14
1.2 Especie en estudio.....	16
1.3 Parámetros morfométricos.....	17
1.3.1 Tamaño fruto.....	17
1.3.2 Número de semillas por fruto.....	17
1.3.3 Tamaño de semillas.....	18
1.3.4 Peso.....	18
1.4 Parámetros fisiológicos.....	18
1.4.1 Viabilidad.....	18
1.4.2 Contenido de humedad.....	18
1.4.3 Imbibición.....	19
1.4.4 Germinación.....	19
1.5 Análisis de datos.....	19
CAPÍTULO 2: RESULTADOS	21
2.1 Parámetros morfométricos.....	21
2.1.1 Tamaño del fruto.....	21
2.1.2 Número de semillas por fruto.....	22
2.1.3 Tamaño de semillas.....	23
2.1.4 Peso.....	24
2.2 Parámetros fisiológicos.....	25
2.2.1 Viabilidad.....	25
2.2.2 Contenido de humedad.....	25

2.2.3	Imbibición.....	26
2.2.4	Germinación.....	27
CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN.....		29
CONCLUSIONES.....		34
RECOMENDACIONES.....		35
BIBLIOGRAFIA.....		36
ANEXOS.....		43

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Viabilidad expresada en porcentaje de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> comparando los distintos sitios de colección.....	25
Tabla 2. Contenido de humedad expresado en porcentaje de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> comparando los distintos sitios de colección.....	25
Tabla 3. Número de germinantes, expresados en porcentaje con sus respectivos intervalos de confianza por cada sitio de colección.....	28

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la provincia del Azuay con la ubicación de los cuatro sitios de colección.....	14
Figura 2. Tamaño en centímetros de frutos de <i>Oreocallis grandiflora</i> en los distintos sitios de colección.....	21
Figura 3. Número de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> comparando los distintos sitios de colección.....	22
Figura 4. Tamaño en centímetros de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> en los distintos sitios de colección.....	23
Figura 5. Peso en gramos de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> en los distintos sitios de colección.....	24
Figura 6. Incremento de masa (peso) de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> en los distintos sitios de colección.....	26
Figura 7. Probabilidad de germinación de semillas de <i>Oreocallis grandiflora</i> en los distintos sitios de colección.....	27

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Tamaño de fruto de <i>O. grandiflora</i> en centímetros.....	43
Anexo 2. Número de semillas por fruto de <i>O. grandiflora</i>	43
Anexo 3. Tamaño de semillas de <i>O. grandiflora</i> en centímetros.....	44
Anexo 4. Viabilidad de semillas de <i>O. grandiflora</i>	44
Anexo 5. Imbibición de semillas de <i>O. grandiflora</i>	45
Anexo 6. Registro de pesaje para imbibición de semillas de <i>O. grandiflora</i>	45
Anexo 7. Germinación de semillas de <i>O. grandiflora</i>	46
Anexo 8. Registro de germinantes de <i>O. grandiflora</i>	46
Anexo 9. Tabla de porcentajes de contenido de humedad.....	47
Anexo 10. Tabla de promedio de precipitaciones mensuales.....	47

Variación en las características fenotípicas de semillas de *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R.Br. de cuatro poblaciones de la provincia del Azuay.

RESUMEN

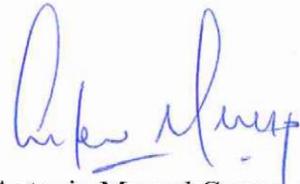
El presente estudio analizó distintos parámetros morfométricos y fisiológicos de las semillas de *Oreocallis grandiflora* de cuatro poblaciones distintas de la Provincia del Azuay. Los parámetros analizados fueron: tamaño del fruto, número de semillas por fruto, tamaño y peso de semillas (morfométricos); además se analizó parámetros fisiológicos incluyendo: viabilidad, contenido de humedad, imbibición y germinación. Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba Kruskal-Wallis y la prueba de Tukey como análisis post-hoc, con excepción de los datos de germinación que fueron tratados con análisis de supervivencia (método Kaplan-Meier) y un test post-hoc de Holm-Sidak. Los resultados obtenidos demostraron que las cuatro poblaciones estudiadas registraron diferencias significativas para todos los parámetros analizados.

Palabras clave: *Oreocallis grandiflora*, semillas, variación, características morfológicas, características fisiológicas.



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Director del Trabajo de Titulación



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Coordinador de Escuela



Doménica Vintimilla Méndez

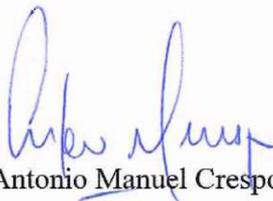
Autora

Variation in the phenotypic characteristics of *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R.Br. seeds of four populations of the province of Azuay.

ABSTRACT

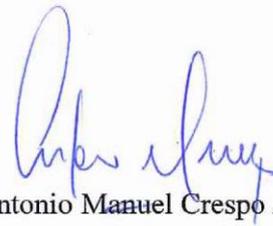
This study analyzed different morphometric and physiological parameters of *Oreocallis grandiflora* seeds from four different populations of Azuay. The parameters analyzed were size of the fruit, number of seeds per fruit, size and weight of seeds (morphometric). In addition, physiological parameters were analyzed, including: viability, moisture content, imbibition and germination. The data obtained were analyzed by the Kruskal-Wallis test and the Tukey test as post-hoc analysis with the exception of the germination data, which were treated with survival analysis (Kaplan-Meier method) and a post-hoc Holm-Sidak test. The results showed that the four studied populations registered significant differences in all parameters.

Keywords: *Oreocallis grandiflora*, seeds, variation, morphological characteristics, physiological characteristics.



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Thesis Director



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Faculty Coordinator



Doménica Vintimilla Méndez

Author



Magda Arce
UNIVERSIDAD DEL
AZUAY
Dpto. Idiomas



Translated by

Ing. Paúl Arpi

Doménica Estefanía Vintimilla Méndez

Trabajo de Graduación

Antonio Crespo Ampudia, PhD.

Julio, 2019

Variación en las características fenotípicas de semillas de *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R.Br. de cuatro poblaciones de la provincia del Azuay.

INTRODUCCIÓN

Los bosques son grandes proveedores de bienes y servicios ecosistémicos tales como la generación de oxígeno, protección del suelo, formación y recarga de fuentes hídricas, material vegetal para construcción, alimentación, entre otras (Bergh & Promis, 2011). En América Latina, cerca del 50% de bosques nativos han sido destruidos; mientras que en Ecuador, la tasa de pérdida de bosques anual es de 1,8% (FAO, 2013). Esto se debe a la deforestación y degradación, causados por la sobreexplotación de recursos, el cambio de la cobertura vegetal y uso del suelo, generando consecuencias negativas que aportan con la reducción y fragmentación del hábitat (Meffe & Carroll, 1994; Murcia, 1995) causando afecciones en el bienestar humano (Leija et al., 2016; Sewell et al., 2016), así como problemas ambientales que afectan los regímenes de precipitación e incremento de la radiación solar (Houghton, 1991).

Ante estos problemas surge la restauración ecológica como práctica integradora que busca recuperar ecosistemas degradados, dañados o destruidos (SER, 2004), implementando actividades que permitan reponer, conservar y restituir la estructura y funcionamiento de estos ecosistemas creando flujos continuos de bienes y servicios a favor de la biodiversidad y las comunidades humanas (Duarte et al., 2017; McDonald et al., 2016; Balaguer, 2013; Little & Lara, 2010).

Actualmente, muchas especies de árboles utilizados en actividades como agroforestería, silvicultura comercial y control de la desertificación son exóticas a los paisajes a los cuales se las utiliza (FAO, 2017; Balaguer, 2013). Debido a escasos estudios sobre especies forestales nativas de los Andes (Crespo, 2014), la generación

y aplicación de información sobre especies introducidas con alto valor comercial (por ejemplo especies de los géneros *Eucalyptus* y *Pinus*) prevalece en los distintos programas o actividades de reforestación (Blakesley et al., 2002; Lamb et al. 2005); las cuales generan competencia con especies nativas tornándose invasivas y dificultando la regeneración de vegetación nativa (Duarte et al., 2017). Como solución a estos problemas, se necesita generar información sobre la propagación de especies nativas, que aportarán a reestablecer altos valores ecológicos en programas de restauración (Lamb et al., 2005; Blakesley et al., 2002).

Para generar estos conocimientos, es necesario conocer la biología de las semillas, sus características morfológicas y fisiológicas, así como también su lugar de procedencia ya que permitirán conocer las etapas claves dentro de su formación que pueden tener influencia sobre la germinación, permitiendo el establecimiento y supervivencia de plántulas en programas de restauración *in situ* (Saatkamp et al., 2018; Palomeque et al., 2017; Caranqui, 2016; Herranz et al., 2002); por lo tanto, las semillas al ser el punto de partida para la producción de especies nativas es indispensable conocer estas características que permitan entender sus respuestas a las distintas condiciones ambientales que presente el sitio donde vaya a ser utilizada permitiéndole tener un rendimiento óptimo (Doria, 2010).

En lo que respecta a las características morfológicas (tamaño y número), las semillas presentan variabilidades en sus rasgos intraespecíficos (color, apéndices y requisitos para la germinación) que pueden ser expresadas por características hereditarias de las poblaciones o por el entorno (lluvia o composición del suelo) (Saatkamp et al., 2018; Baskin & Baskin, 2001). Con respecto a sus características fisiológicas, las semillas podrían verse afectas al presentarse variaciones en sus rasgos intraespecíficos reflejando un aumento en su metabolismo y sus recursos durante su maduración permitiéndoles establecerse al momento que se presenten condiciones favorables (Bischoff, Vonlanthen, Steinger, & Muller-Scharer, 2006).

Es de gran interés generar conocimiento sobre el desarrollo de semillas, debido a que estas podrían estar influenciadas por múltiples factores en todos los estados de su formación, además de que ayudará a desarrollar la tecnología necesaria para

manejar especies nativas, puesto que algunas especies pueden reflejar respuestas a variaciones en el medio ambiente (Vazquez & Orozco, 2014; Doria, 2010).

En lo que respecta a la especie *Oreocallis grandiflora*, al considerarse una planta de sucesión secundaria su implementación en programas de restauración permitirá generar altos valores ecológicos y económicos en ecosistemas degradados, debido a su gran capacidad asociativa y adaptativa a suelos degradados (ácidos y poco profundos con pendientes moderadas) (Minga et al., 2016). Adicional a esto, la especie presenta gran importancia ecológica al generar asociaciones con insectos, aves y algunos micromamíferos, convirtiéndose en una especie clave dentro del sistema de polinización (Hazlehurst et al. 2016; Cárdenas, 2015).

A pesar de que existen varios estudios sobre su ecología, es necesario generar información sobre sus características morfológicas y fisiológicas teniendo en cuenta los distintos sitios de colección, ya que esta información permitirá a los distintos productores de plántulas proveer de material adecuado, garantizando un mejor establecimiento de especies nativas en los distintos programas de restauración. Por ello, el objetivo de este trabajo es conocer si las características fenotípicas de semillas de *Oreocallis grandiflora* (Lamb) R.Br. varían entre distintas poblaciones de la provincia del Azuay.

CAPITULO 1

MATERIALES Y METODOS

1.1 Poblaciones muestreadas

Para la colección de semillas, se escogieron cuatro poblaciones dentro de la provincia del Azuay con rangos altitudinales que oscilan entre los 2900 a 3100 m.s.n.m entre remanentes de vegetación nativa que se encontraba presente en cada sitio.

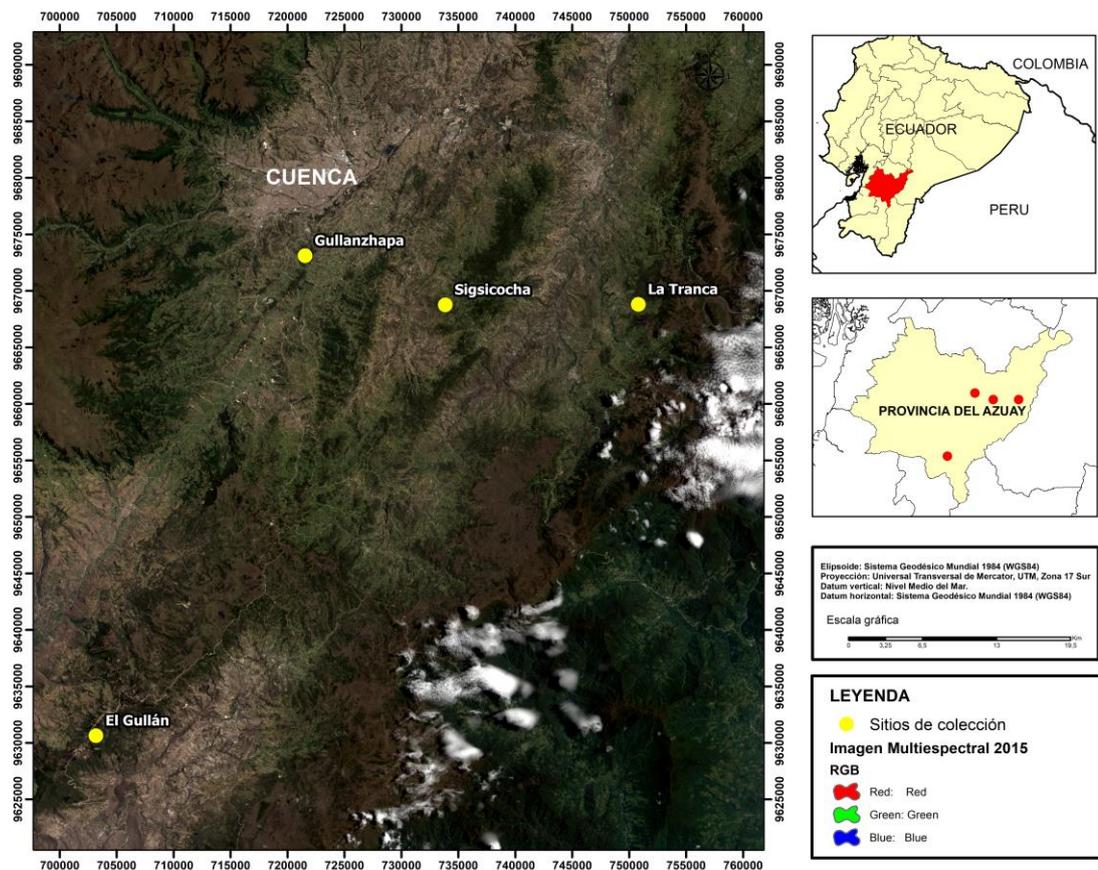


Figura1. Mapa de la provincia del Azuay con la ubicación de los cuatro sitios de colección.

En cada uno de estos sitios se recolectaron semillas de *O. grandiflora* de 10 individuos (plantas madre) con aspecto sano y vigoroso, separados por una distancia de 100 m a 2 km (Schmidt, 2000), los mismos que fueron georreferenciados. De esta forma, se consideró a cada sitio de colección como una población independiente de la especie. En cada uno de estos individuos se procedió a recolectar de forma manual los frutos maduros que presentaron dehiscencia (coloración amarillenta y

apertura natural de la sutura del folículo). Posteriormente fueron colocados en bolsas plásticas y etiquetados con el nombre del sitio y la fecha de colección. Fueron transportados al Laboratorio Ecología y Manejo de Plantas Nativas de la Universidad del Azuay para ser procesados y utilizados en pruebas posteriores.

1.1.1 Hacienda “El Gullán”

Estación Científica “El Gullán” se encuentra ubicada en Cantón Nabón, Parroquia “Las Nieves” con coordenadas UTM 703193; 9630633 (GAD Parroquial Las Nieves, 2018), presentando una extensión de 136 ha. (Neira, 2016). En lo que respecta a su composición vegetal forma parte de un Bosque siempreverde montano alto, suelo cubierto por una densa capa de musgo y sus árboles crecen de forma irregular. Las especies más frecuentes de este lugar son: *Oreocallis grandiflora*, *Clethra fimbriata*, *Lomatia hirsuta*, *Hesperomeles ferruginea*, *Ageratina pseudochilca*, *Baccharis obtusifolia*, *Brachyotum confertum*, *Miconia aspergilliaris*, *Axinaea meriania* y *Morella parvifolia* (Pintado, 2016). Ya que en este sitio se han practicado actividades invasivas como pastoreo, actualmente se encuentra en proceso de recuperación, por lo cual ha sido denominada como área de conservación (Neira, 2016; Franco & Guamán, 2015).

1.1.2 Sigsicocha

Comunidad Sigsicocha pertenece al Cantón Cuenca, Parroquia Santa Ana. Se encuentra ubicado en las siguientes coordenadas UTM 733931; 9668977 (Bueno et al. 2011). Según Sierra (1999) su formación vegetal pertenece a un Bosque siempreverde montano alto, el cual se presenta como fragmentos o partes relegados, estableciéndose en quebradas o laderas que presentan pendientes pronunciadas. Presenta flora nativa característica perteneciente a las familias: Melastomataceae, Myrcinaceae, Cunoniaceae, Clusiaceae, Lauraceae, Myrtaceae. Dentro de este territorio encontramos especies como: *Oreocallis grandiflora*, *Juglans neotropica*, *Cortaderia spp*, *Weinmannia fagaroides* entre otras, alternado entre pastizales activos los cuales han sido creados por aumento de la frontera agrícola (GAD Parroquial “SANTA ANA,” 2019).

1.1.3 La Tranca

Se encuentra en el Cantón Chordelég, Parroquia Luis Galarza Orellana (Delegsol), Comunidad “La Merced”. Este sitio se encuentra ubicado dentro del Bosque y Vegetación Protectora del Collay, en las coordenadas UTM 750818; 9668801, geográficamente ocupa 29427.54 hectáreas. Posee alrededor de 12 microcuencas, siendo las más importante las de los ríos Collay y San Francisco, presentando grandes beneficios a los habitantes de su zona, así como a los habitantes de los cantones en los que se encuentra asentado (Chordelég, Gualaceo, Paute, Guachapala, El Pan, Sevilla de Oro). En lo que respecta a su formación vegetal, está formado de un Bosque siempreverde montano (Sierra, 1999). La vegetación más representativa está compuesta por: *Oreocallis grandiflora*, *Miconia aspergillaris*, *Morella spp*, *Viburnum triphyllum*, *H.ferruginea*, *H. obtusifolia*, *Weinmannia spp*, *Cedrela spp.*, y *Berberis spp*; en cuanto a su historia, este bosque se ha caracterizado por poseer claros y áreas de potrero (GAD Municipal del Cantón Chordelég, 2018; Mancomunidad de Collay, 2018; Chumi & Quizhpi, 2018).

1.1.4 Comunidad de Gullanzhapa

Ubicada en el Cantón Cuenca, Parroquia Tarqui. Con coordenadas UTM 721553.66; 9673112.20. Según Sierra (1999), su composición vegetal pertenece a Bosque siempreverde montano alto. Sus árboles tienden a crecer de forma irregular. Existe presencia de una densa capa de musgo, entre las especies características de este sitio tenemos: *Tagetes pusilla*, *Baccharis latifolia*, *Berberis pindilicensis*, *Weinmannia fagaroides*, *Erythrina edulis*, *Miconia aspergillaris*, *Oreocallis grandiflora* (GAD Parroquial “TARQUI,” 2015). Esta zona se encuentra privatizada y ha sido medianamente intervenida por actividades como ganadería, agricultura, extracción de madera, botadero de escombros y desechos sólidos

1.2 Especie en estudio

Oreocallis grandiflora (Lamb) R.Br. pertenece al género *Oreocallis*, familia Proteaceae. Es una especie nativa de Bosque de Neblina Montano (1500 a 2900 m.s.n.m) y Matorral Húmedo Montano (2000 a 3000 m.s.n.m), distribuida en Ecuador y Perú, entre los 1.400 y 3.600 metros de altitud. Dentro de Ecuador, su rango de distribución se extiende entre las provincias de Azuay, Loja, Zamora Chinchipe (Missouri Botanical Garden, 2019).

Consiste en un árbol o arbusto pequeño entre 3 a 7 m de altura, su copa es irregular, presenta un tronco cilíndrico, corteza externa café rugosa y su ramificación es alterna, DAP entre 10 y 15 cm. Hojas simples, coriáceas; lámina de elíptica a obovada de 13 a 6,5 cm de largo por 6 a 2,5 cm de ancho, ovadas, peciolo alargado dispuestas en espiral, margen entero revoluto. Presencia de inflorescencias en pirámides de 8 a 12 cm de largo. Flores de 4 a 7 cm de largo color blanco, amarillo o rosado (Minga et al., 2016; Ríos & Acevedo, 2007).

Sus frutos son folículos oblongos leñosos de 5 a 6 cm de largo. Contienen entre 10 y 12 semillas provistas de alas que facilitan su dispersión. Tanto sus flores como frutos presentan abscisiones (abortos) presentando una tasa baja de fructificación respecto al número de flores generadas (Cardenas, 2016). Su floración y fructificación es recurrente en Ecuador (Hazlehurst et al., 2016).

Es una especie ecológicamente importante ya que sirve de alimento para muchas especies de colibríes nativos y endémicos como *Coeligena iris*, *Heliangelus viola*, *Metallura tryanthina*, entre otros (Cardenas, 2016). En el aspecto medicinal, es ampliamente utilizado para el tratamiento de enfermedades que afectan al sistema excretor (infecciones a vías urinarias y estreñimiento), además de que sus flores son utilizadas para elaboración de la bebida tradicional Horchata. Su madera es empleada en elaboración de artesanías y herramientas manuales (Minga et al., 2016).

1.1 Parámetros morfométricos

1.1.1 Tamaño de fruto

Para la determinación del tamaño del fruto, se procedió a medir un total de 50 frutos por población muestreada. Con la ayuda de un calibrador se midió cada uno de los folículos desde el inicio hasta el final de la sutura (Anexo.1).

1.1.2 Número de semillas por fruto

Se utilizó un total de 50 folículos por población muestreada para la determinación del número de semillas por fruto. Para cada folículo se procedió a extraer las semillas con la ayuda de una pinza y un bisturí, las mismas que fueron contabilizadas (Anexo.2)

1.1.3 Tamaño de semillas

En lo que respecta al tamaño de semillas se utilizó un total de 100 semillas por población muestreada. Con la ayuda de un calibrador se procedió a medir la semilla individual de manera longitudinal, sin considerar el apéndice de dispersión (ala) (Anexo.3) (Mendizábal-hernández et al., 2006).

1.1.4 Peso

Para medir el peso de semillas se utilizaron 200 semillas por población muestreada, las cuales fueron pesadas aleatoriamente en grupos de 5 semillas obteniendo un total de 40 réplicas.

1.2 Parámetros fisiológicos

1.4.1 Viabilidad

Se aplicó una prueba de Tetrazolio ($C_{19}H_{15}ClN_4$) en 100 semillas por población muestreada para determinar su viabilidad. Se retiró con mucho cuidado la testa sin causar daños a los cotiledones y a los embriones. Se colocaron 25 semillas en una caja Petri con solución de Tetrazolio al 1%, posteriormente fueron colocadas en un horno a una temperatura de $\pm 40^\circ C$ durante 24 horas. Pasado este tiempo se procedió a observar la tinción del tejido embrionario con ayuda de un estereoscopio (Anexo.4) (Salazar & Botello, 2018; Capelo & Delva, 2016).

1.4.2 Contenido de humedad

Para esta prueba se utilizaron 100 semillas por población muestreada, separándolas en grupos de 25 obteniendo un total de 4 repeticiones. Cada repetición fue pesada y colocada en una estufa a $103^\circ C$ durante 17 horas. Pasado este tiempo, las semillas fueron transportadas a una desecadora por 30 minutos y se procedió a pesarlas nuevamente (Schmidt, 2000; Willan, 1991). Para realizar el calculo de contenido de humedad para cada población se procedió a utilizar la siguiente formula:

$$\% \text{ Contenido de humedad} = \frac{(M_2 - M_3) * 100}{(M_2 - M_1)}$$

Donde M_1 es el peso de la caja, M_2 peso de la caja más semillas y M_3 peso de caja más semillas después de ser retiradas del horno (Schmidt, 2000).

1.4.3 Imbibición

Para la determinación de los patrones de imbibición se utilizaron 200 semillas por población muestreada, las cuales fueron pesadas (peso seco) antes de ser colocadas en agua destilada. El peso se realizó en grupos de 5 semillas, obteniendo un total de 40 repeticiones. Una vez realizado el pesaje de semillas, estas fueron colocadas en un vaso de precipitación que contenía 100 ml de agua destilada a una temperatura que oscila entre los 15° y 22° C. Pasado el lapso de una hora se procedió a retirarlas del agua, secarlas suavemente con papel toalla y pesarlas en grupos de 5 semillas. Así se procedió nuevamente durante las primeras 8 horas, 12, 24, 48 y 72 horas (Anexo. 5) (Baskin, 2004). Para el cálculo del incremento de masa por parte de las semillas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Incremento de masa} = [(W_i - W_s) / W_s]$$

Donde W_i consiste en el peso imbibido y W_s consiste en el peso seco de las semillas (Schmidt, 2000).

1.4.4 Germinación

En cuanto a la germinación, se utilizaron 200 semillas por población muestreada a las cuales se les aplicó un protocolo de desinfección; que consistió en colocar a las semillas en agua destilada con una gota de jabón líquido. Se procedió a removerlas durante un lapso de 5 minutos y se retiró el exceso de jabón con agua destilada para proceder a sembrarlas. Se colocaron las semillas en cajas Petri que contenían papel toalla humedecido con 5 ml de agua destilada. En cada una de las cajas se colocaron 10 semillas obteniendo un total de 20 réplicas por cada sitio de colección. Estos patrones de germinación fueron medidos por tratamiento (sitio de colección) mediante un registro diario no acumulativo hasta 30 días tras la siembra (Ver Anexo 6) (Baskin et al., 2006).

1.5 Análisis de datos

Los análisis estadísticos fueron aplicados para comparar las variables morfométricas y fisiológicas entre las cuatro poblaciones muestreadas. Estos fueron realizados en el programa SigmaPlot (versión 12.5, Systat Software, Inc. 2011). Para el análisis de datos de las distintas variables: tamaño fruto, número de semillas por fruto, tamaño de semillas, peso, viabilidad, contenido de humedad e imbibición se aplicó una prueba Kruskal-Wallis. Esta prueba al no ser paramétrica no asume la normalidad de

los datos, pero si considera que todos provienen de una misma distribución. Además, se aplicó un análisis comparativo de Tukey, el mismo que nos permitió conocer si existen diferencias significativas entre las distintas poblaciones.

Para los datos de las pruebas de germinación se aplicó un análisis de supervivencia con el Método Kaplan-Meier, la prueba estadística Long-Rank y la prueba comparativa Holm-Sidak. Este método conocido también como Análisis de Supervivencia estima el tiempo de ocurrencia de un fenómeno/evento, que en este caso sería la transición de semillas no germinadas a semillas germinadas en cada uno de los tratamientos (población muestreada) (Crespo et al., 2017; Rivas et al., 2014). La prueba Long-Rank nos permite comparar si existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos sin tomar en cuenta el tiempo de ocurrencia. En lo que respecta a la prueba Holm-Sidak, esta realizó una comparación múltiple entre pares de tratamientos para identificar cuales fueron más distintos o mas semejantes.

CAPITULO 2

RESULTADOS

2.1 Parámetros morfométricos

2.1.1 Tamaño de fruto

La longitud en el tamaño del fruto para los cuatro sitios indicó que los frutos de La Tranca alcanzaron una medida ± 6 cm; para el sitio de Gullanzhapa $\pm 5,8$ cm. En lo que respecta para los sitios: El Gullán y Sigsicocha una medida de $\pm 5,5$ cm y $\pm 5,4$ cm respectivamente. El análisis comparativo de Tukey realizado evidencio que diferencias significativas entre los distintos sitios. ($\chi^2 = 76, 72$; $P < 0,001$) (Fig. 2).

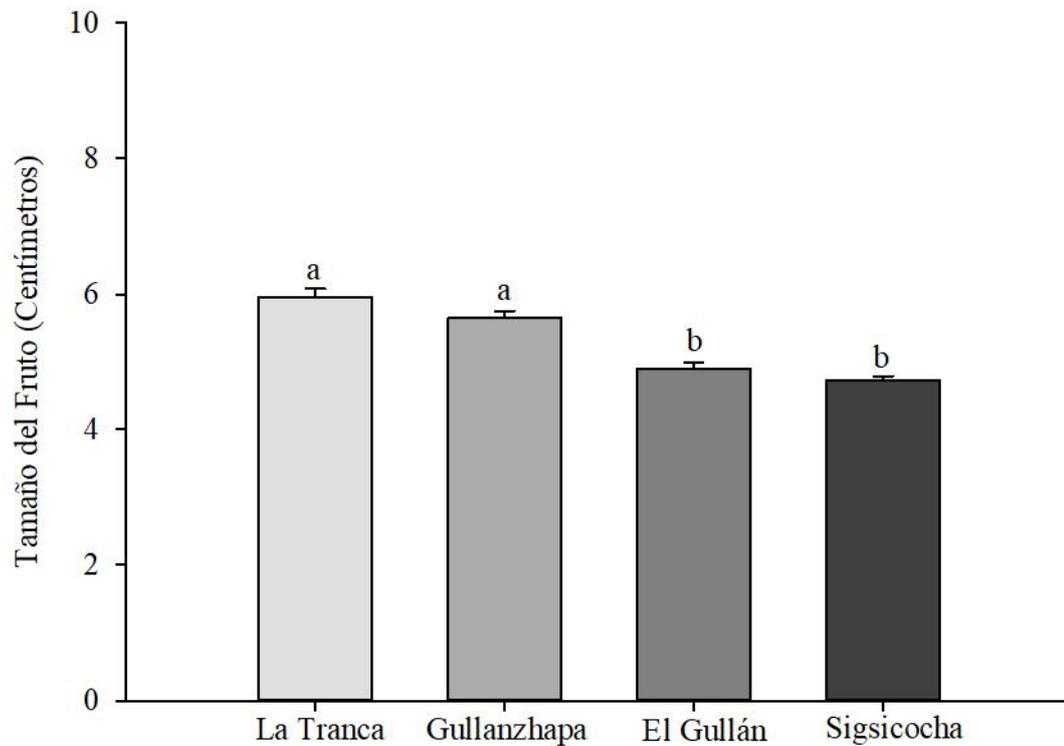


Figura 2. Tamaño en centímetros de frutos de *Oreocallis grandiflora* en los distintos sitios de colección. Letras minúsculas iguales indican que no existen diferencias significativas, letras minúsculas distintas muestran diferencias significativas. Se observa barras de error estándar en cada grupo.

2.1.2 Número de semillas por fruto

El número de semillas que presenta cada sitio de colección indicó para La Tranca un valor de $\pm 10,5$ semillas por fruto; para Gullanzhapa $\pm 10,4$ semillas. En lo que respecta a los sitios de Sigsicocha y El Gullán contenían $\pm 10,7$ y ± 11 semillas respectivamente. En el análisis comparativo de Tukey aplicado nos indicó que existen diferencias significativas entre los sitios de colección. ($\chi^2 = 16,287$; $P < 0,001$) (Fig.3).

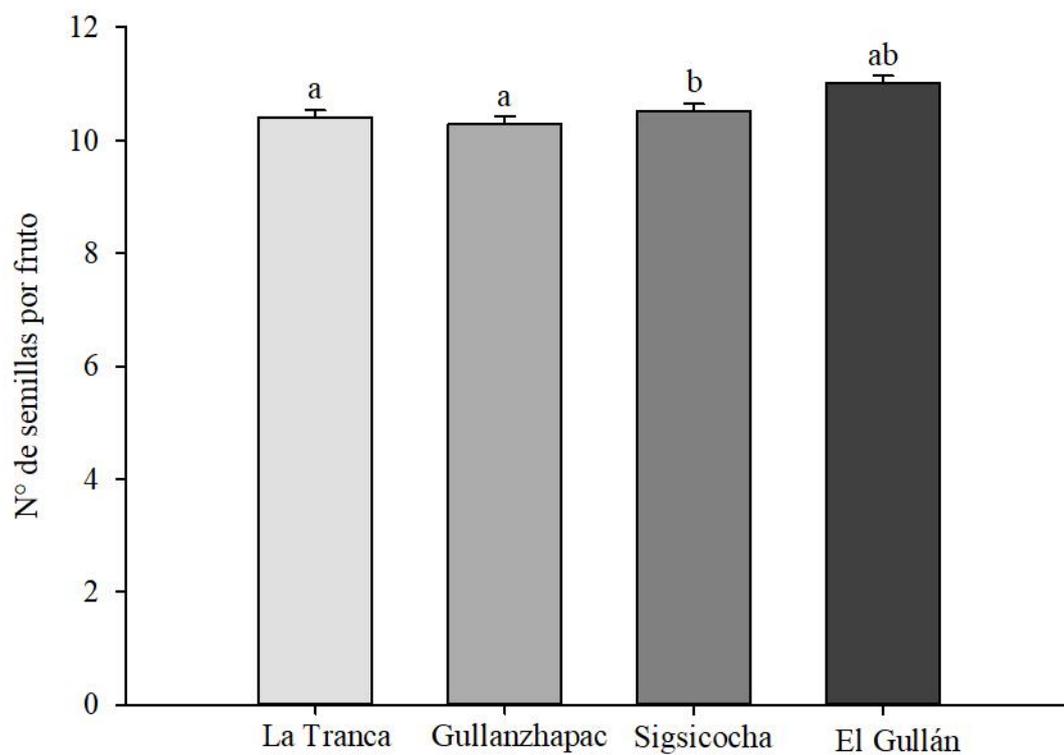


Figura 3. Número de semillas de *Oreocallis grandiflora* comparando los distintos sitios de colección. Letras minúsculas iguales expresan que no existen diferencias significativas. Letras minúsculas distintas indican que existen diferencias significativas. Se observa barras de error en cada grupo.

2.1.3 Tamaño de semillas

El tamaño de semillas que presenta cada sitio de colección indicó para La Tranca una medida de $\pm 0,70$ cm; para Gullanzhapa $\pm 0,62$ cm; para Sigsicocha y El Gullán $\pm 0,47$ cm y $\pm 0,60$ cm respectivamente. En el análisis comparativo de Tukey aplicado nos indicó que existen diferencias significativas entre los sitios de colección. ($\chi^2=211,414$; $P<0,001$) (Fig.4).

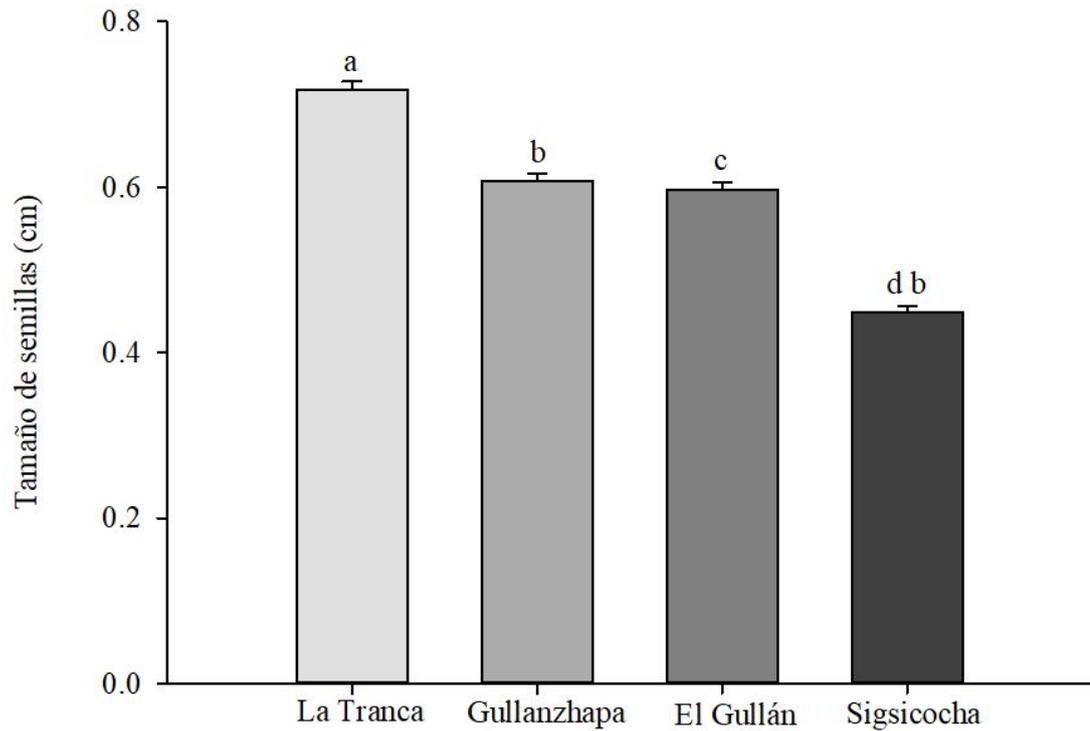


Figura 4. Tamaño en centímetros de semillas de *Oreocallis grandiflora* en los distintos sitios de colección. Letras minúsculas iguales nos indica que no existen diferencias significativas. Letras minúsculas distintas indica diferencias significativas. Se observa barras de error en cada grupo.

2.1.4 Peso

El peso en gramos de las semillas indicó que para el sitio La Tranca alcanzaron un pesaje de $\pm 0,19$ gr; para el sitio Gullanzhapa $\pm 0,16$ gr; para El Gullán $\pm 0,08$ gr; y para Sigsicocha $\pm 0,14$ gr. En el análisis comparativo de Tukey aplicado se evidenciaron diferencias significativas entre todos los sitios de colección. ($\chi^2=132,21$; $P<0,001$) (Fig. 5).

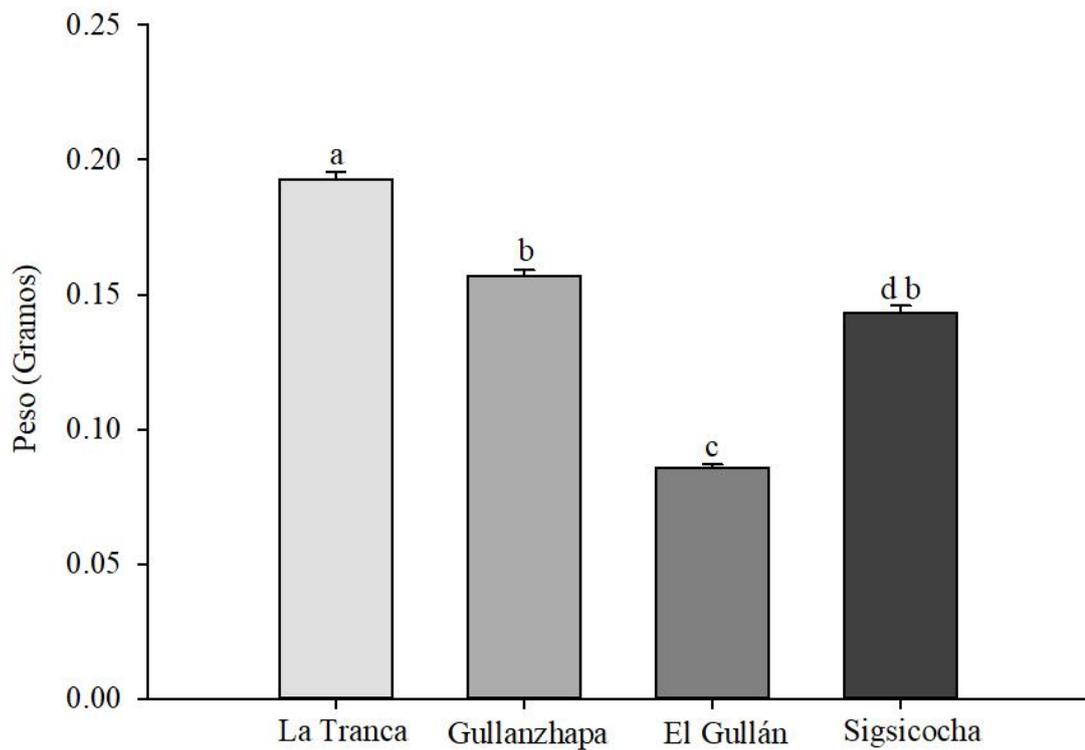


Figura 5. Peso en gramos de semillas de *Oreocallis grandiflora* en los distintos sitios de colección. Letras minúsculas iguales indican que no existen diferencias significativas. Letras minúsculas distintas indican que existen diferencias significativas. Se observa barras de error en cada grupo.

2.2 Parámetros fisiológicos

2.2.1 Viabilidad

El porcentaje de viabilidad que presentan las semillas nos indicó que el sitio con mayor número de semillas viables es el sitio La Tranca con un porcentaje de viabilidad de 87%, seguido de El Gullán con un valor de 71%, para Gullanzhapa 68% y por último tenemos a Sigsicocha con un valor de 50%. (Tabla.1)

Tabla 1. Viabilidad expresada en porcentaje de semillas de *Oreocallis grandiflora* comparando los distintos sitios de colección.

	<i>Viabilidad</i> (%)
<i>La Tranca</i>	87
<i>El Gullán</i>	71
<i>Gullanzhapa</i>	68
<i>Sigsicocha</i>	50

2.2.2 Contenido de humedad

El porcentaje de contenido de humedad que presentan las semillas nos indico que el sitio La Tranca presenta un valor de 38,39%; para Gullanzhapa existe un valor de 11,07%; para El Gullán un 32,64%; y para Sigsicocha un 11,95%. ($\chi^2 = 14,12$; $P < 0,003$) (Tabla.2).

Tabla 2. Contenido de humedad expresado en porcentaje de semillas de *Oreocallis grandiflora* comparando los distintos sitios de colección.

	<i>Contenido de</i> <i>Humedad</i> (%)	Σ (<i>ERR.EST</i>)
<i>La Tranca</i>	38.39	0.163
<i>El Gullán</i>	32.64	0.078
<i>Sigsicocha</i>	11.95	0.506
<i>Gullanzhapa</i>	11.07	1.065

2.2.3 Imbibición

La imbibición de las semillas nos indicó que las curvas de los sitios de El Gullán, Gullanzhapa y Sigsicocha presentan patrones similares, mientras que para La Tranca existen diferencias significativas. Aplicando una prueba Kruskal-Wallis y un análisis comparativo de Tukey se observó el incremento de masa de las semillas provenientes de los distintos los sitios a la hora 72, determinando que existen diferencias significativas entre los sitios de colección. ($p=0,325$; $df=3$) ($\chi^2= 105,391$; $P<0,001$) (Fig. 6).

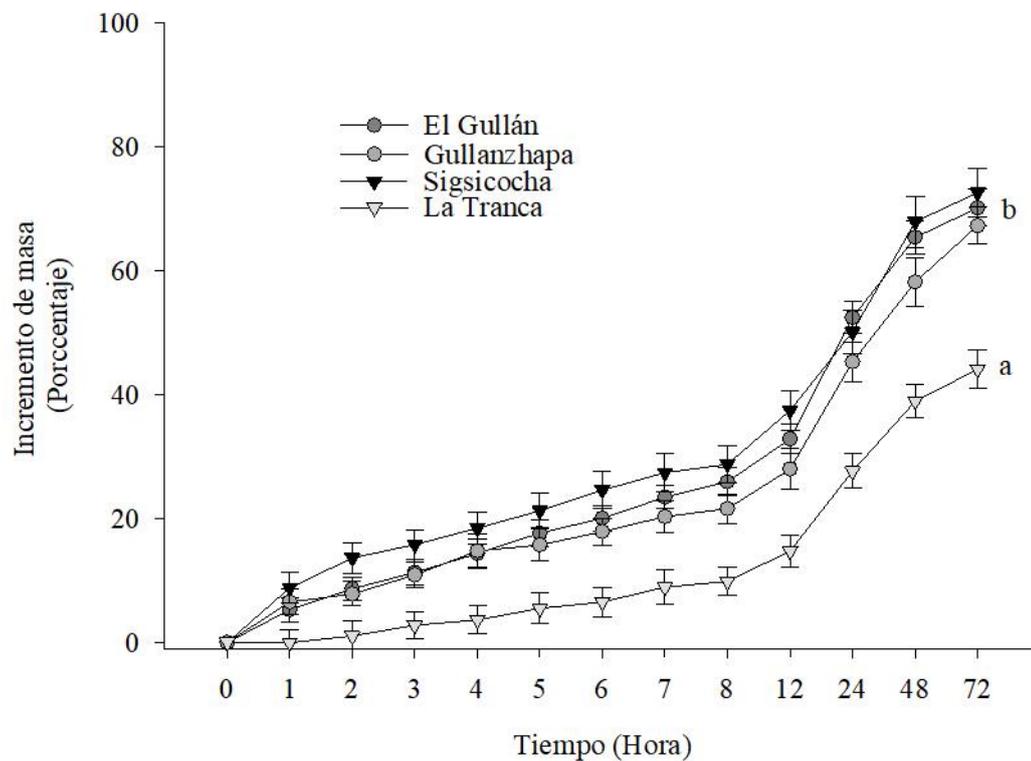


Figura 6. Incremento de masa (peso) de semillas de *Oreocallis grandiflora* comparando los distintos sitios de colección durante 72 horas. Letras minúsculas distintas indican que existen diferencias significativas.

2.2.4 Germinación

El porcentaje de germinación de semillas fue del 99,5% para la población de La Tranca (con un pico en el día ocho después de la siembra); para El Gullán fue de 98% (pico en el día nueve); Gullanzhapa 91% (pico en el día nueve); y Sigsicocha 88,5% (pico en el día ocho) (Tabla.3). Las curvas de germinación fueron significativamente distintas entre las cuatro poblaciones; no se evidenciaron agrupaciones evidentes entre las curvas. ($p=0,05$; $gl=3$; $P<0,001$) (Fig. 7).

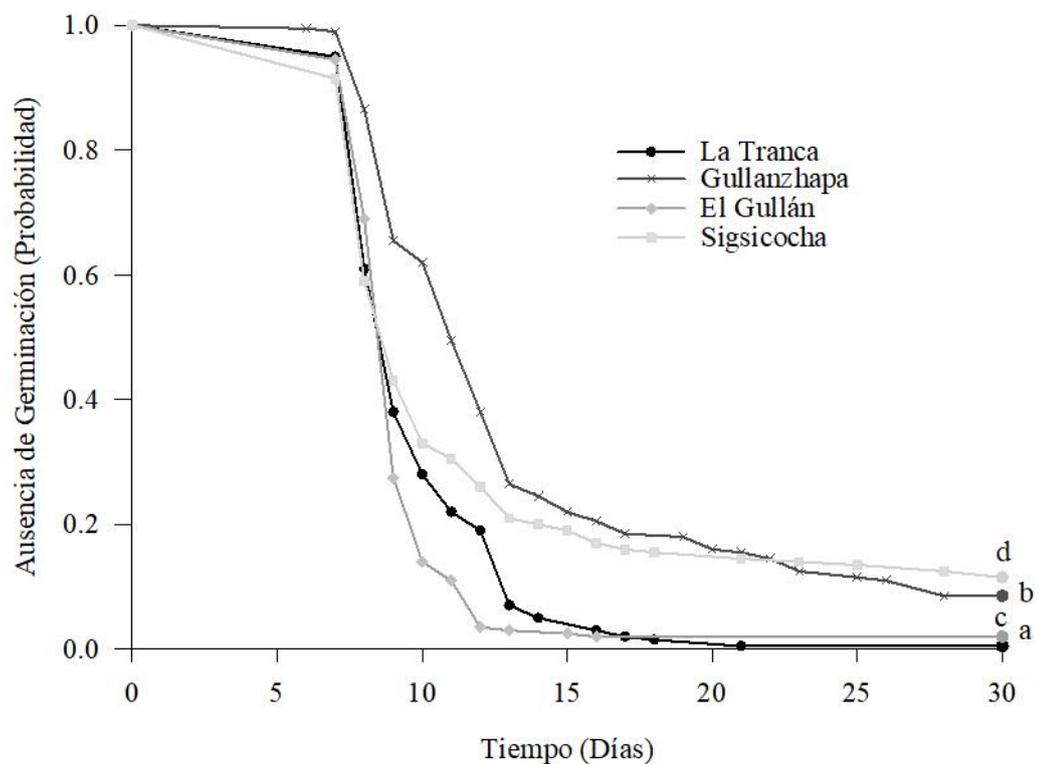


Figura 7. Probabilidad de germinación de semillas de *Oreocallis grandiflora* en los distintos sitios de colección en un periodo de 30 días. Letras minúsculas a, b, c, d indican existencia de diferencias significativas.

Tabla 3. Número de germinantes, expresados en porcentaje con sus respectivos intervalos de confianza por cada sitio de colección.

	Total de Germinantes	Retardo (Días)	t50 (Días) 95% IC	Germinantes Finales (%)
La Tranca	199	7	9 (8,708; 9,292)	99,50%
Gullanzhapa	183	6	11 (10,423; 11,577)	91,50%
El Gullán	196	7	9 (8,851; 9,149)	98%
Sigsicocha	177	7	9 (8,571; 9,429)	88,50%

Retardo: Número de días desde la siembra en los que no se registraron germinantes. t50: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes.

CAPITULO 3

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que las semillas de *Oreocallis grandiflora* tienen rasgos morfológicos y fisiológicos distintos según la ubicación geográfica de sus poblaciones. Por ejemplo, las semillas provenientes de La Tranca ($\pm 0,70$ cm) tuvieron un tamaño promedio mayor; Gullanzhapa y El Gullán ($\pm 0,62$ cm; $\pm 0,60$ cm respectivamente) tuvieron un tamaño promedio intermedio, mientras que las semillas de Sigsicocha ($\pm 0,47$ cm) obtuvieron un menor tamaño promedio. Estos parámetros pueden estar correlacionados con la cantidad de nutrientes que puede existir en el suelo, así como también el estado de conservación de los distintos sitios de colección. Estudios realizados por Baraloto et. al (2005) y Leishman et al. (2009) demuestran que esta premisa se podría cumplir, debido a que la concentración de macronutrientes en el suelo puede llevar a la producción de semillas grandes, permitiéndoles a las futuras plántulas la supervivencia en el entorno al cual sea empleado. Estudios sobre estos aspectos son escasos, es por ello se debe considerar el inicio de investigaciones sobre la relación que podría existir entre el estado de conservación o uso de suelo sobre la producción de frutos/semillas.

Con respecto al peso de semillas tenemos que para La Tranca, Gullanzhapa y Sigsicocha ($\pm 0,19$ gr; $\pm 0,16$ gr; $\pm 0,14$ gr respectivamente) presentan mayor pesaje con respecto a El Gullán ($\pm 0,08$ gr) que presenta un pesaje menor. Un estudio realizado por Kolodziejek (2017) nos indica que el tamaño y el peso de las semillas pueden afectar a: la germinación, dispersión, contenido de humedad, así como también el establecimiento, crecimiento y supervivencia de las plántulas. La variación que puede presentar la masa de las semillas puede estar basada en: las condiciones del suelo y los rasgos maternos. La concentración de nutrientes que presente el suelo puede conducir a la producción de semillas pesadas con niveles altos de nutrientes, lo que nos indica que podría poseer una gran capacidad de almacenamiento de recursos, permitiéndoles establecerse y sobrevivir a condiciones ambientales estresantes como: sombra, sequía y daños (Baraloto et al., 2005). En el caso de las semillas provenientes de La Tranca, Gullanzhapa y Sigsicocha al presentar un mayor peso en sus semillas, indican que poseen mayor cantidad de

recursos lo que les permitirá resistir a las distintas condiciones que presenten los sitios a los cuales sean empleados. En el caso de El Gullán al poseer un menor peso en sus semillas nos indican que la cantidad de recursos que poseen es menor, por lo cual pueden presentar dificultades al momento de su establecimiento.

En lo que respecta a viabilidad, tenemos a La Tranca (87%) como sitio con mayor porcentaje de viabilidad, El Gullán y Gullanzhapa (71%; 68% respectivamente) presentan un porcentaje intermedio, mientras que Sigsicocha (50%) presenta un porcentaje menor. Esta característica puede estar relacionada con la diversidad genética que pueda existir en los distintos sitios, ya que permitirá garantizar que el material se mantenga disponible a largo plazo (Espitia et al., 2017; Forte et al., 2017; Trenchard & Merino, 2008). Así podríamos considerar que La Tranca al ser un sitio mejor conservado, la diversidad genética es mayor; además se puede considerar las características que presente el suelo ya que beneficiarán a la absorción de nutrientes por parte de las plantas madre. En lo que respecta a Sigsicocha al presentar un bajo porcentaje de viabilidad, nos indica que en este sitio la diversidad genética es menor debido a la presencia de actividades antropogénicas (pastoreo y agricultura), afectando a la absorción de nutrientes por parte de las plantas madre.

Con respecto al contenido de humedad, tenemos a La Tranca y El Gullán (38,39 %; 32,64 % respectivamente) como sitios con mayor contenido de humedad, mientras que Sigsicocha y Gullanzhapa (11,95 %; 11,07 % respectivamente) como sitios con menor contenido de humedad. Esta información es importante para el almacenamiento de semillas sin comprometer su viabilidad (Palomeque et al., 2017). En lo que respecta a *O.grandiflora* al presentar mayor capacidad para evitar la pérdida de agua en sus semillas (bajo contenido de humedad) se las considera menos sensibles a la desecación (ortodoxas); en comparación con semillas de especies que presenten frutos carnosos como *Etythrina edulis* que posee un alto contenido de humedad pero la capacidad de evitar la desecación es baja por lo cual se las denomina recalcitrantes (Palomeque et al., 2017; Caicheo, 2008; Schmidt, 2000; Rodríguez & Nieto, 1999). Para poder almacenar semillas ortodoxas durante un periodo de 1 a 2 años, estas deben de poseer un valor de $\pm 8\%$ a $\pm 10\%$ de humedad relativa. Este porcentaje puede variar de acuerdo con la especie y el tiempo de almacenamiento; así como también las condiciones del sitio de almacenaje

(temperatura- luz) (Schmidt, 2000). Conociendo estos aspectos podríamos deducir que las semillas con porcentaje de humedad alto como las provenientes de La Tranca y El Gullán son más propensas a desecarse y su viabilidad podría verse afectada al momento de ser almacenarlas en comparación con Gullanzhapa y Sigsicocha que al poseer un porcentaje bajo presentan mayores posibilidades de conservar su viabilidad al ser almacenadas. Otro factor importante que se debe considerar es la relación entre el tamaño y el contenido de humedad que existe en las semillas, ya que, al poseer un porcentaje alto de contenido de humedad, su tamaño es mayor. Esto puede ser corroborado con los datos obtenidos, ya que La Tranca al poseer un mayor tamaño en sus semillas ($\pm 0,70$ cm), su contenido de humedad es mayor; mientras que Sigsicocha al poseer un tamaño menor ($\pm 0,47$ cm), su contenido de humedad es menor.

Para la imbibición de semillas se obtuvo para La Tranca (45%) como sitio con menor incremento de masa, mientras que para Sigsicocha, El Gullán y Gullanzhapa (73%; 70%; 68% respectivamente) como sitios que presentan altos porcentajes de incremento en su masa. Este aspecto presenta una relación directa con el contenido de humedad, puesto que, si la semilla presenta un mayor porcentaje de contenido de humedad, el incremento en su masa será menor. Así tenemos a La Tranca que, al poseer un contenido de humedad relativamente alto (38,39%), el incremento en su masa fue menor; mientras que para Sigsicocha su contenido de humedad fue relativamente bajo (11,95%) por lo cual el incremento de la masa en sus semillas fue mayor. Un estudio realizado por Rivera (2019) indica que para *O. grandiflora* existe un mayor incremento de masa, el cual es intensificado por la actividad respiratoria (formación de energía) que permitirá degradar sustancias de reserva que impulsaran a la germinación (Morris et al., 2000).

En lo que respecta a la germinación, se obtuvo para La Tranca y El Gullán (99,5%; 98% respectivamente) como sitios con mayor porcentaje de germinación, para Gullanzhapa (91%) como sitio con un porcentaje intermedio de germinación, mientras que para Sigsicocha (88,5%) como sitio con menor porcentaje de germinación. Este parámetro es clave en el desarrollo de la planta; tanto la viabilidad, el contenido de humedad y la imbibición tienen relación directa con este parámetro. Un estudio realizado por Bischoff et al., (2006) nos indica que puede existir

variaciones entre distintas poblaciones. Esto puede indicar que La Tranca al poseer un mayor porcentaje de viabilidad (87%), un contenido de humedad de 38,39% y un incremento de masa de 45%; la germinación alcanzó un porcentaje alto destacándose como el sitio con mejores características en el desarrollo de *O. grandiflora*. Para El Gullán al tener un porcentaje de viabilidad intermedio (71%), un contenido de humedad de 32,64% y un incremento de masa de 70%; su germinación alcanzó un porcentaje alto. Con respecto a Gullanzhapa al poseer un porcentaje de viabilidad de 68%, un contenido de humedad de 11,07% y un incremento de masa de 67%; su germinación alcanzó un porcentaje intermedio. Por último, tenemos a Sigsicocha con el menor porcentaje de viabilidad (50%), un contenido de humedad de 11,95% y un incremento de masa de 73%, se obtuvo un porcentaje de germinación menor, siendo el sitio que presentó bajas características en el desarrollo de *O. grandiflora*. Se debe tener en cuenta que las características de la germinación pueden verse afectadas por las condiciones del ambiente y las condiciones experimentadas por las plantas madre (Midgley, Cowling, & Lamont, 1991). En el caso de la localidad La Tranca presenta mayor cantidad de germinantes, esto podría verse influenciado por los valores obtenidos para el contenido de humedad (38,39%) ya que al obtener este porcentaje la actividad celular aumenta dando paso a la germinación. Con respecto al sitio Sigsicocha al obtener un bajo porcentaje de germinantes en comparación con los otros sitios, su contenido de humedad (11,07%) indica que estas semillas podrían favorecer el crecimiento de hongos y proliferación de bacterias perjudicando el proceso de germinación (Trujillo, 1998) (Véase anexo. 9). La relación que existe entre la viabilidad y la germinación nos indica que si el porcentaje de semillas viables es alto, la actividad enzimática de las mismas es mayor ayudando a que se desarrolle la germinación (Espitia et al., 2017).

La variación intraespecífica en caracteres reproductivos ha sido reportada para varias especies de la familia Proteaceae; por ejemplo *Hakea erinacea* (Groom & Lamont, 2005) y *Hakea trifurcata* (Midgley et al., 1991). Para *O. grandiflora*, existe un solo estudio que reporta variaciones intraespecíficas en la morfología de la flor entre poblaciones geográficamente distantes de Ecuador y Perú (Hazlehurst et al., 2016). Dicho estudio comparó estructuras florales en poblaciones del extremo norte y del extremo sur de su distribución (sur del Ecuador y sur del Perú, respectivamente), encontrando diferencias significativas en tamaño del estilo, apertura de la flor y

producción de néctar entre las dos poblaciones. De forma similar, los resultados del presente estudio confirman la variación intraespecífica en caracteres reproductivos para *O. grandiflora*. En este caso entre poblaciones geográficamente cercanas con una distancia promedio de 1.378 km entre ellas.

La diferencia observada entre las características de las semillas de las cuatro poblaciones podría deberse a una serie de factores ecológicos. Inicialmente, se trabajó con la hipótesis de que estas diferencias podrían asociarse a regímenes distintos de precipitación; un régimen relativamente seco para El Gullán y Sigsicocha (811, 37 mm/año y 526,9 mm/año; respectivamente) y un régimen relativamente lluvioso para La Tranca y Gullanzhapa (1011,99 mm/año y 837,78 mm/año; respectivamente). Sin embargo, los datos obtenidos en el presente estudio no mostraron tendencias claras en este sentido, y por lo tanto se descartó la hipótesis.

Otro factor ecológico que podría influenciar estos datos es la época de colección de semillas, puesto que la temperatura, humedad relativa y precipitación que presente cada sitio puede ser diferente. La colección de semillas se llevó a cabo en los meses de diciembre, enero y febrero; los cuales presentaron una precipitación que oscila entre los 71 mm a 120 mm (Véase anexo. 10). Determinando a La Tranca como sitio con mayor precipitación (93 mm a 120 mm); mientras que El Gullán presenta un porcentaje menor de precipitación (71 mm a 99 mm), lo cual podría verse reflejado sobre las características que presentaron sus semillas. Es por esta razón que se debe tomar en cuenta la época de colección puesto que puede existir una variación tanto en las características de los sitios de acuerdo con la época del año, así como también la tendencia que presentan los datos podría variar.

Finalmente, esta información generada permitirá a viveristas, restauradores y ecólogos vegetales entender la influencia que presenta las características del sitio en conjunto con las características de las plantas madre sobre las semillas. Es muy importante tener conocimiento de estos aspectos puesto que en los distintos programas de restauración se deberían considerar las características del sitio de donde proviene la semilla y las características del sitio donde vayan a ser aplicadas garantizando un establecimiento y crecimiento óptimo de plántulas.

CONCLUSIONES

- El estudio de parámetros morfométricos y fisiológicos son importantes debido a que brindan información sobre los requerimientos que presentan estas semillas para futuras aplicaciones en programas de restauración.
- La variabilidad genética tiene un papel importante en la producción y funcionalidad de las semillas, así como en el futuro establecimiento de plántulas en las distintas zonas a las cuales serán empleadas.
- De acuerdo con las características morfológicas y fisiológicas analizadas, la localidad de La Tranca presenta buenas características de sus semillas en los meses de colección.

RECOMENDACIONES

- Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que para *Oreocallis grandiflora* es necesario evaluar constantemente las características del sitio de estudio (temperatura, precipitación, rango altitudinal, tipo de suelo, etc.) puesto que tiene influencia directa sobre los recursos que serían asignados a las plantas madre. Es por lo que se recomienda realizar investigaciones que permitan determinar si existen variaciones sobre estas características en un año consecutivo.
- Para futuras investigaciones se recomienda realizar un seguimiento de los individuos (plantas madre) analizados en este trabajo, lo que permitirá conocer de manera más efectiva el comportamiento de los parámetros previamente analizados.
- Se recomienda tomar en cuenta que las características que presenta el lugar de proveniencia de semillas sean similares al lugar donde vayan a ser aplicadas para garantizar un desarrollo óptimo de las mimas.

BIBLIOGRAFIA

- Balaguer, L. (2013). Restauración ecológica. *ResearchGate*. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/259621018>
- Baraloto, C., Forget, P. M., & Goldberg, D. E. (2005). Seed mass, seedling size and neotropical tree seedling establishment. *Journal of Ecology*, *93*(6), 1156–1166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01041.x>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2001). *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego, California: Academic Press.
- Baskin, C. C., Thompson, K., & Baskin, J. M. (2006). Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research*, *16*, 165–168. <https://doi.org/10.1079/SSR2006247>
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, *14*(01). <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bergh, G., & Promis, A. (2011). Un análisis al Informe FAO sobre la Evaluación de los Recursos Forestales Nacionales. *Revista Bosque Nativo*, *48*, 9–11.
- Bischoff, A., Vonlanthen, B., Steinger, T., & Muller-Scharer, H. (2006). Seed provenance matters — Effects on germination of four plant species used for ecological restoration. *ELSEVIER Basic and Applied Ecology*, *7*, 347–359. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.07.009>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00609-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00609-0)
- Bueno, J., Neira, D., Cárdenas, E., Parra, C., & Guaicha, E. (2011). Actualización del plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la parroquia Santa Ana. Retrieved from <http://www.santana.gob.ec/images/PDOT.pdf>
- Caicheo, A. M. (2008). “*ALMACENAMIENTO Y ALGUNOS PROTOCOLOS DE RUTINA PARA LA MANTENCIÓN DE SEMILLAS.*” Universidad de Magallanes.

- Capelo, A. G., & Delva, J. (2016). “*RESPUESTA GERMINATIVA DE CUATRO ESPECIES FORESTALES NATIVAS DEL MACIZO DEL CAJAS.*” Universidad de Cuenca.
- Caranqui, J. (2016). *Árboles y arbustos nativos potenciales para reforestación en la Sierra Central, Ecuador.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4589>
- Cardenas, S. (2016). *Ecología de polinización de Oreocallis grandiflora (Lam.) R. Br. (Proteaceae) en un matorral montano del sur del Ecuador.* Universidad del Azuay. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2989.0964>
- Chumi, I., & Quizhpi, L. (2018). *Influencia de técnicas de siembra directa para Oreocallis grandiflora (Lam.) R. Br. y Viburnum triphyllum Benth., en dos Ecosistemas del Sur del Ecuador.* Universidad del Azuay. Retrieved from <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/8274>
- Crespo, A. (2014). *DIRECT SEEDING WITH NATIVE TREES IN SOUTH CENTRAL ECUADOR: ENHANCING RESTORATION POTENTIAL WITH LOCAL KNOWLEDGE.* University of Florida. <https://doi.org/10.1192/bjp.205.1.76a>
- Crespo, A., Pintado, K., & Perez, H. (2017). Influencia de la herbivoría y el deshierbe en la siembra directa de árboles nativos en un valle del sur del Ecuador. In M. Mazón, J. Maita, & N. Aguirre (Eds.), *Restauración del paisaje en Latinoamérica: experiencias y perspectivas futuras* (p. 231). Loja, Ecuador: Universidad Nacional de Loja, CONDESAN. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/320014151%0A>
- Doria, J. (2010). GENERALIDADES SOBRE LAS SEMILLAS: SU PRODUCCIÓN, CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74–85. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr11110.pdf>
- Draper, N. R., & Smith, H. (1998). *Applied Regression Analysis. Applied Regression Analysis.* <https://doi.org/10.2307/2987167>
- Duarte, N., Cuesta, F., Terán, A., Pinto, E., Arcos, I., Solano, A., & Torres, O. (2017). PROTOCOLO PARA MONITOREO DE ÁREAS DE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN LOS BOSQUES MONTANOS DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DEL ECUADOR. CONDESAN, *Fundación Imaymana, 1.*

- Espitia Camacho, M. M., Araméndiz Tatis, H., & Cardona Ayala, C. E. (2017). Características morfológicas, anatómicas y viabilidad de semillas de *Cedrela odorata* L. y *Cariniana pyriformis* Miers*. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3), 605. <https://doi.org/10.15517/ma.v28i3.26287>
- FAO. (2013, November 27). El problema de la deforestación en Ecuador. *Organizacion de Las Naciones Unidas Para La Alimentacion y Agricultura*. Retrieved from <http://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/513063/>
- FAO. (2017). Invasive species: impacts on forests and forestry. Retrieved December 9, 2018, from <http://www.fao.org>
- Forte, J., Yabor, L., Bellido, A., Collado, F., Ferrer, P., Vicente, O., & Boscaiu, M. (2017). A Methodological Approach for Testing the Viability of Seeds Stored in Short-Term Seed Banks. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(4), 563. <https://doi.org/10.15835/nsb9410173>
- Franco, R., & Guamán, S. (2015). “Propuesta para la Implementación de Agroturismo en la Hacienda ‘El Gullán’ de la Universidad del Azuay.” Universidad del Azuay.
- GAD Municipal del Cantón Chordeleg. (2018). Retrieved December 11, 2018, from <http://www.chordeleg.gob.ec/>
- GAD Parroquial Las Nieves. (2018). Las Nieves. Retrieved December 11, 2018, from <http://gadlasnieves.gob.ec/azuay/>
- GAD PARROQUIAL “SANTA ANA.” (2019). FLORA Y FAUNA. Retrieved from <http://santana.gob.ec/index.php>
- GAD Parroquial “TARQUI.” (2015). PLAN DE DESARROLLO Y ORDENAMIENTO TERRITORIAL DE LA PARROQUIA TARQUI. Retrieved from http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/01600262300_01_PDOT_TARQUI_2015_29-10-2015_22-19-52.pdf
- Groom, P. K., & Lamont, B. B. (2005). Fruit and seed development in two *Hakea* species (Proteaceae). *Royal Society of Western Australia*, 87(1797), 135–138.
- Hazlehurst, J. A., Tinoco, B., & Karubian, J. (2016). POLLINATION ECOLOGY OF *OREOCALLIS GRANDIFLORA* (PROTEACEAE) AT THE NORTHERN AND SOUTHERN ENDS OF ITS GEOGRAPHIC RANGE. *Journal of Pollination Ecology*, 19(10), 71–80.

- Henley, S. (1983). Principles and procedure of statistics: A biometrical approach. *Computers & Geosciences*. [https://doi.org/10.1016/0098-3004\(83\)90054-7](https://doi.org/10.1016/0098-3004(83)90054-7)
- Herranz, J. M., Ferrandis, P., Copete, M. A., & Martínez-Sánchez, J. . (2002). Influencia de la temperatura de incubación sobre la germinación de 23 endemismos vegetales ibéricos o iberoafricanos. *Investigacion Agraria. Producción y Protección Vegetales.*, 17(2), 229–246. Retrieved from Jherranz@prov-ab.uclm.es
- Houghton, R. A. (1991). TROPICAL DEFORESTATION AND ATMOSPHERIC CARBON DIOXIDE. *Restoration Ecology*, 0, 99–118.
- Kolodziejek, J. (2017). Effect of seed position and soil nutrients on seed mass, germination and seedling growth in *Peucedanum oreoselinum* (Apiaceae). *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02035-1>
- Lamb, D., Erskine, P. D., & Parrotta, J. A. (2012). Restoration of Degraded Tropical Forest Landscapes. *Science*, 1628(2005). <https://doi.org/10.1126/science.1111773>
- Leija L., E. G., Reyes H., H., Reyes P., O., Flores F., J. L., & Sahagún S., F. J. (2016). Cambios en la cubierta vegetal, usos de la tierra y escenarios futuros en la región costera del estado de Oaxaca, México. *Maderas y Bosques*, 22(1), 125–140. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712016000100125&lang=es
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2009). The evolutionary ecology of seed size. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, (January), 31–57. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0031>
- Little, C., & Lara, A. (2010). Restauración ecológica para aumentar la provisión de agua como un servicio ecosistémico en cuencas forestales del centro-sur de Chile Ecological restoration for water yield increase as an ecosystem service in forested watersheds of south-central Chile. *Bosque*, 31(3), 175–178.
- Mancomunidad de Collay. (2018). No Titl. Retrieved December 11, 2018, from <http://www.mancomunidadcollay.gob.ec/la-instucion/ubicacion>
- McDonald, T., Jonson, J., & Dixon, K. W. (2016). National standards for the practice of ecological restoration in Australia. *Restoration Ecology*, 24(S1), S4–S32. Retrieved from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/rec.12359>

- Meffe, G. K., & Carroll, C. R. (1994). *Principles of conservation biology* (2nd ed.). Sunderland, Ma. : Sinauer, c1997.
- Mendizábal-hernández, L. C., Alba-landa, J., & Cabrera, M. (2006). VARIACIÓN DE SEMILLAS DE *Pinus patula* Schl. et Cham. CON RESPECTO A SU POSICIÓN EN EL FRUTO. *Foresta Veracruzana*, 8(1), 13–16. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49780103%0ACómo>
- Midgley, J. J., Cowling, A. M., & Lamont, B. B. (1991). Relationship of follicle size and seed size in *Hakea* (Proteaceae); isometry , allometry and adaptation. *South African Journal of Botany*, 57(2), 107–110. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(16\)30968-1](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(16)30968-1)
- Minga, D y A. Verdugo 2016. Árboles y arbustos de los ríos de Cuenca. Serie Textos Apoyo a la Docencia Universidad del Azuay. Imprenta Don Bosco. Cuenca.
- Missouri Botanical Garden. (2019). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Retrieved April 29, 2019, from <https://www.tropicos.org/Project/CE>
- Morris, E. C., Tieu, A., & Dixon, K. (2000). Seed coat dormancy in two species of *Grevillea* (Proteaceae). *Annals of Botany*, 86(4), 771–775. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1249>
- Murcia, C. (1995). Implications for Conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10(2), 58–62. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-A-366.1>
- Neira, F. J. (2016). *Influencia de diferentes tratamientos de polinización sobre características físicas y fisiológicas de semillas de Oreocallis grandiflora (Lam) R. Br. (Proteaceae)*. Universidad del Azuay.
- Palomeque, X., Maza, A., Iñamagua, J. P., & Gunter, S. (2017). Intraspecific Variability in Seed Quality of Native Tree Species in Mountain Forests in Southern Ecuador : Implications for Forest Restoration Intraspecific Variability in Seed Quality of Native Tree Species in Mountain Forests in Southern Ecuador: Impli. *Revista de Ciencias Ambientales*, 51(2), 52–72. <https://doi.org/10.15359/rca.51-2.3>
- 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. Retrieved from <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/5498>

- Ríos, L., & Acevedo, G. (2007). *ECOLOGÍA, UTILIZACIÓN E IMPACTOS PRODUCIDOS POR EL APROVECHAMIENTO DEL CUCHARILLO Oreocallis grandiflora (Lam) R. Br. EN LAS PARROQUIAS DE TAQUIL, CHANTACO, CHUQUIRIBAMBA Y GUALEL DE LA PROVINCIA DE LOJA*. Universidad Nacional de Loja.
- Rivas, R., Rodríguez, M., Palacios, L., & Talavera, J. O. (2014). Del juicio clínico al análisis de supervivencia. *Revista Medica Instituto Mexicano de Seguro Social*, 52(3), 308–3015.
- Rivera, D. (2019). “*Germinación de semillas y crecimiento inicial de cuatro especies forestales nativas del bosque de Nero, Provincia del Azuay.*” Universidad de Cuenca.
- Rodríguez, JavierSchmidt, L. (2000). G. to handling of tropical and subtropical forest seed. D. F. S. C. R. from <https://static-curis.ku.dk/portal/files/2071283>., & Nieto, V. (1999, July). Investigación en Semillas Forestales Nativas. *SERIE TECNICA*, 43, 3–89.
- Saatkamp, A., Cochrane, A., Commander, L., Guja, L. K., & Jimenez-, B. (2018). A research agenda for seed-trait functional ecology. *New Phytologist*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/nph.15502>
- Salazar, S., & Botello, E. (2018). Viabilidad de semillas de Glycine max (L .) utilizando la prueba de tetrazolio. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(2), 90–98. <https://doi.org/10.22490/21456453.2270>
- Schmidt, L. (2000). *Guide to handling of tropical and subtropical forest seed*. Danida Forest Seed Centre. Retrieved from <https://static-curis.ku.dk/portal/files/20712835>
- Sewell, A., Bouma, J., & Van Der Esch, S. (2016). INVESTIGATING THE CHALLENGES AND OPPORTUNITIES FOR SCALING UP ECOSYSTEM RESTORATION. *The Hague: PBL Netherlands Environmental Assessment Agency*, (June), 1–78. <https://doi.org/10.1007/s11001-005-1887-x>
- Sierra, R. (1999). *Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental* (Editorial). Quito, Ecuador: EcoCiencia. <https://doi.org/10.13140/2.1.4520.9287>
- Systat Software, I. (2011). SigmaPlot.

- Trenchard, G., & Merino, G. (2008). Fase fermentativa de la germinación de las semillas. *Fisiología Vegetal*, 10. Retrieved from http://pendientedemigracion.ucm.es/info/cvicente/seminarios/germinacion_semillas.pdf
- Trujillo, E. (1998). Guía para el desarrollo de la investigación en semillas de diez especies forestales. *CONIF*.
- Vazquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (2014). Patterns of Seed Longevity and Germination in the Tropical Rainforest. *Annual Review Of Ecology and Systematics*, 24(1993), 69–87. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.000441>
- Willan, R. L. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos*. Roma: FAO. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/006/AD232S/ad232s00.htm#TOC>

ANEXOS

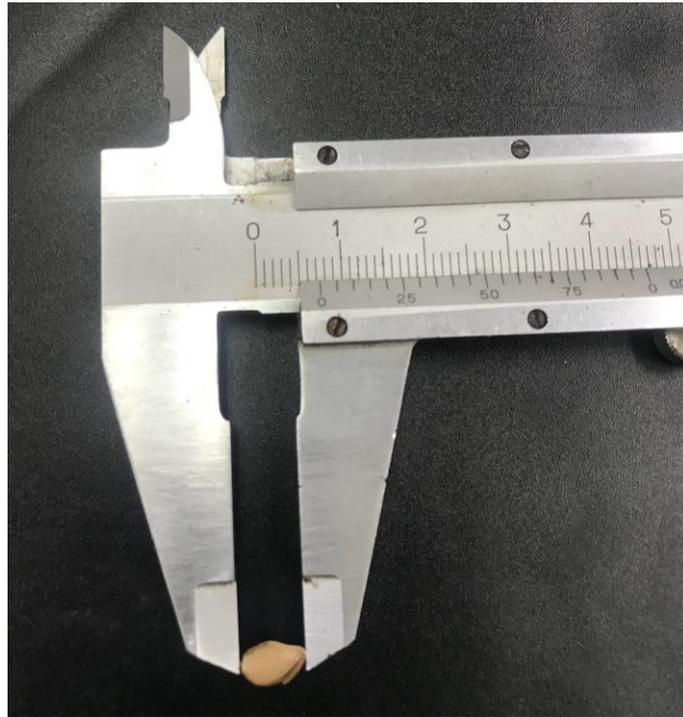
Anexo 1. Tamaño de fruto de *O. grandiflora* en centímetros.



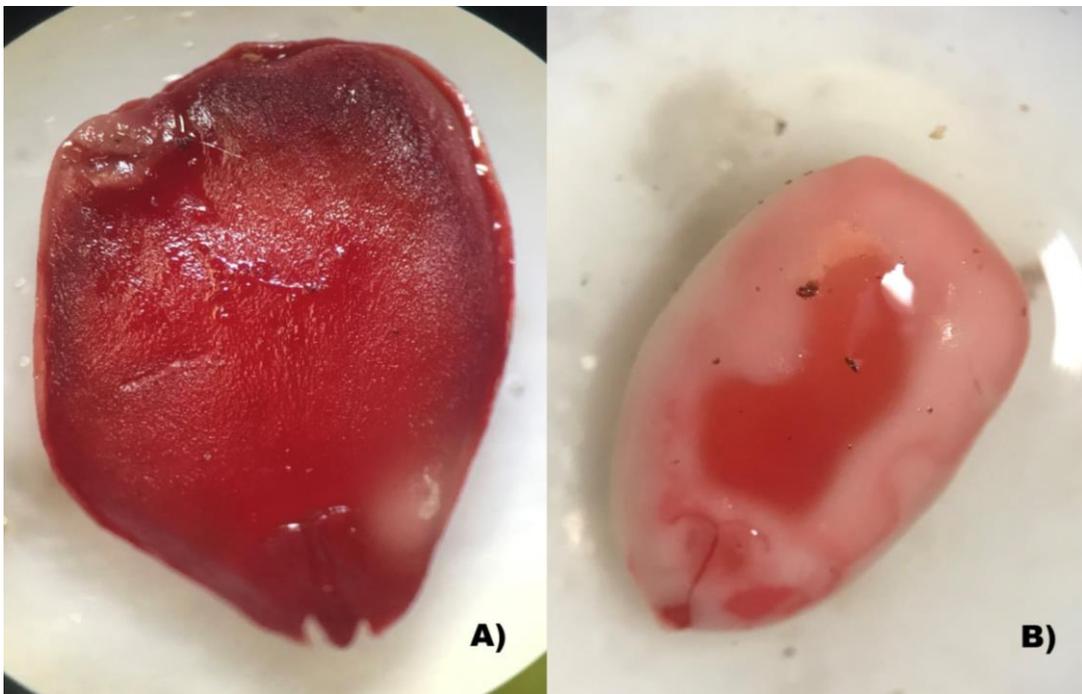
Anexo 2. Número de semillas por fruto de *O. grandiflora*.



Anexo 3. Tamaño de semillas de *O. grandiflora* en centímetros.

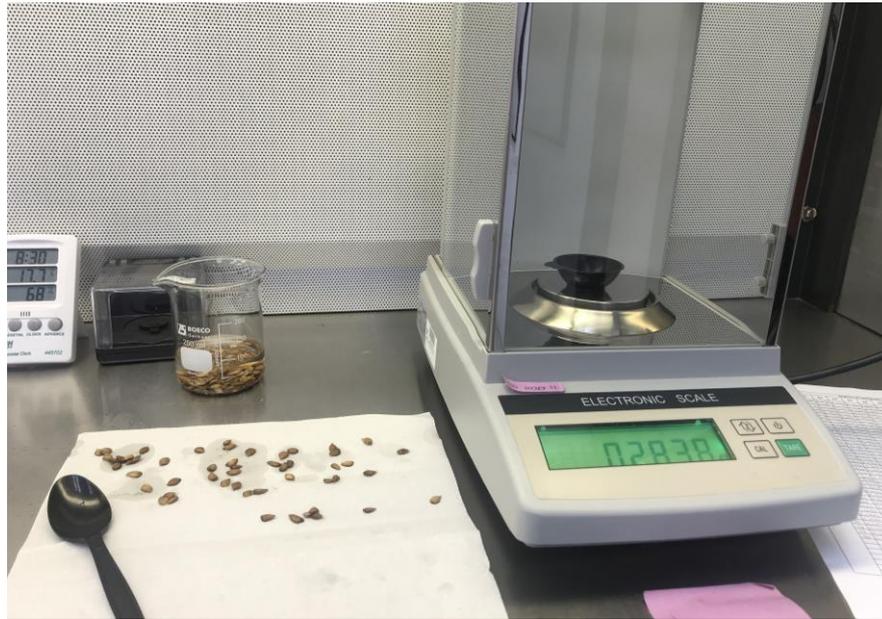


Anexo 4. Viabilidad de semillas de *O. grandiflora*.



Anexo 4. Prueba de tetrazolio aplicada a semillas de *O. grandiflora*. A) Semillas con mayor actividad celular (Viabilidad); B) Semillas con menor actividad celular (No Viables)

Anexo 5. Imbibición de semillas de *O. grandiflora*.



Anexo 6. Registro de pesaje para imbibición de semillas de *O. grandiflora*.

Registro de Imbibición														
Lote	Rep	Peso Seco	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h12	h24	h48	h72
Oyland 003 Colección 22-01-19 n=200 ±s= 0,0289 Ss= 0,1652 Legar Siguiendo	1	0,1529	0,1507	0,1632	0,1649	0,1611	0,1858	0,1614	0,1948	0,1661	0,2018	0,2266	0,1601	0,2211
	2	0,1534	0,1457	0,1658	0,1467	0,1549	0,2246	0,1615	0,1437	0,1903	0,1840	0,2180	0,2358	0,2230
	3	0,1356	0,1463	0,1649	0,1860	0,1682	0,1690	0,1832	0,1999	0,2014	0,1570	0,2059	0,2128	0,2457
	4	0,1677	0,1437	0,1726	0,1665	0,1734	0,2005	0,2101	0,1674	0,1212	0,2207	0,1477	0,2487	0,2642
	5	0,1526	0,1419	0,1472	0,1609	0,1614	0,1992	0,1927	0,1952	0,1723	0,2154	0,2254	0,2494	0,2584
	6	0,1485	0,1418	0,1332	0,1322	0,1426	0,1302	0,1819	0,1672	0,1556	0,1872	0,2120	0,1961	0,2325
	7	0,1638	0,1676	0,1445	0,1321	0,1366	0,1629	0,1693	0,1837	0,1966	0,1766	0,1731	0,2182	0,2494
	8	0,1574	0,1560	0,1614	0,1554	0,1638	0,1574	0,1883	0,1798	0,1998	0,2298	0,2265	0,2206	0,2299
	9	0,1149	0,1089	0,1282	0,1357	0,1681	0,1399	0,1624	0,1988	0,2007	0,2040	0,2040	0,2659	0,2326
	10	0,1529	0,1592	0,1490	0,1596	0,1886	0,1561	0,1794	0,1861	0,1940	0,2264	0,2092	0,2224	0,2129
	11	0,1366	0,1231	0,1251	0,1446	0,1260	0,1968	0,1998	0,1812	0,1462	0,2122	0,2320	0,2089	0,2321
	12	0,1192	0,1242	0,1205	0,1284	0,1528	0,1411	0,1762	0,2092	0,2096	0,1802	0,1992	0,2101	0,2388
	13	0,1394	0,1425	0,1672	0,1822	0,1322	0,1595	0,1688	0,1831	0,1820	0,1962	0,1882	0,2140	0,2180
	14	0,1562	0,1618	0,1779	0,1681	0,1972	0,1818	0,1682	0,1361	0,1795	0,1964	0,2121	0,2142	0,2272
	15	0,1302	0,1189	0,1502	0,1698	0,1474	0,1578	0,1741	0,1827	0,1812	0,2124	0,2101	0,2392	0,2292
	16	0,1482	0,1537	0,1792	0,1817	0,1999	0,1852	0,1494	0,2037	0,1714	0,1500	0,2124	0,2444	0,2431
	17	0,1525	0,1722	0,1582	0,1758	0,1922	0,1827	0,1796	0,1772	0,1966	0,1948	0,2182	0,2447	0,2166
	18	0,1426	0,1142	0,1612	0,1890	0,1576	0,1838	0,1307	0,1863	0,1965	0,1915	0,2169	0,2261	0,2325
	19	0,1008	0,1350	0,1447	0,1425	0,1640	0,1322	0,1708	0,1381	0,1572	0,1938	0,2072	0,2270	0,2272
	20	0,1350	0,1477	0,1263	0,1492	0,1794	0,1726	0,1882	0,1892	0,1940	0,1864	0,2372	0,2295	0,2340
	21	0,1508	0,1798	0,1716	0,1890	0,1512	0,1567	0,1922	0,1967	0,1552	0,1844	0,1956	0,2060	0,2341
	22	0,1625	0,1402	0,1610	0,1644	0,1622	0,1558	0,1884	0,1300	0,1846	0,2072	0,2165	0,2168	0,2102
	23	0,1700	0,1558	0,1668	0,1705	0,1844	0,1359	0,1410	0,2202	0,1722	0,1992	0,2144	0,2390	0,2428
	24	0,1528	0,1620	0,1959	0,1952	0,1729	0,1610	0,1648	0,1721	0,1728	0,1628	0,2292	0,2525	0,2522
	25	0,1282	0,1691	0,1649	0,1741	0,1882	0,1785	0,1802	0,1822	0,1928	0,1720	0,2105	0,2111	0,2254
	26	0,1231	0,1214	0,1222	0,1422	0,1604	0,1578	0,1888	0,1417	0,1859	0,2017	0,2188	0,2390	0,2390
	27	0,1508	0,1837	0,1307	0,1258	0,1735	0,1562	0,1172	0,1890	0,1257	0,1902	0,2220	0,2147	0,2349
	28	0,1367	0,1681	0,1432	0,1582	0,1614	0,1637	0,1882	0,1952	0,1894	0,1929	0,2147	0,2349	0,2395
	29	0,1649	0,1808	0,1604	0,1508	0,1304	0,1689	0,1535	0,1902	0,2117	0,1892	0,2145	0,2116	0,2219
	30	0,1367	0,1456	0,1707	0,1720	0,1722	0,1920	0,1928	0,1928	0,2324	0,2326	0,2326	0,2326	0,2326
	31	0,1547	0,1426	0,1472	0,1529	0,1729	0,1765	0,1707	0,1612	0,1890	0,1894	0,1902	0,2265	0,2697
	32	0,1122	0,1156	0,1178	0,1468	0,1446	0,1608	0,1962	0,1722	0,1724	0,1718	0,2292	0,2595	0,2572
	33	0,1612	0,1287	0,1550	0,1581	0,1854	0,1632	0,1840	0,1915	0,1881	0,1892	0,2295	0,2426	0,2357
	34	0,1415	0,1484	0,1720	0,1435	0,1748	0,1580	0,1822	0,1621	0,1666	0,2316	0,2072	0,2464	0,2482
	35	0,1420	0,1612	0,1782	0,1589	0,1846	0,1691	0,1854	0,1522	0,1804	0,1905	0,1932	0,2221	0,2072
	36	0,1514	0,1620	0,1490	0,1711	0,1572	0,1326	0,1850	0,1725	0,1417	0,2047	0,2022	0,2418	0,2310
	37	0,1411	0,1761	0,1849	0,1678	0,1314	0,1934	0,1789	0,1710	0,1822	0,2041	0,1921	0,2092	0,2429
	38	0,1272	0,1551	0,1328	0,1452	0,1320	0,1612	0,1620	0,1316	0,1348	0,1898	0,2311	0,2192	0,2372
	39	0,1229	0,1321	0,1506	0,1624	0,1764	0,1781	0,1891	0,1614	0,2072	0,2078	0,2172	0,2134	0,2324
	40	0,1320	0,1622	0,1520	0,1478	0,1800	0,1506	0,1614	0,1747	0,1881	0,2029	0,2128	0,2288	0,1822

Anexo 9. Tabla de porcentajes de contenido de Humedad.

INCIDENCIA DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN LAS SEMILLAS	
Contenido de Humedad (%)	Dato Potencial
Menos del 5%	Auto oxidación de lípidos.
Entre 6 y 10 %	Rango aceptable o ideal (comprobado para muchas de las especies ortodoxas).
Entre 10 y 18%	Se favorece el crecimiento de hongos y proliferación de insectos.
Entre 18 y 30%	Hay un aumento en el gradiente de respiración. Descomposición de glucosa y proteínas por el incremento de la fermentación y actividad bacteriana.
Más de 45-60%	Se inicia la germinación.

Fuente: Trujillo, 1998

Anexo 10. Tabla de promedio de precipitaciones mensuales.

Lugar	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
La Paz	71.44	99.10	119.56	150.46	69.99	38.03	15.37	15.42	19.56	31.96	33.86	79.99
La Tranca	93.22	120.87	129.75	168.08	120.13	166.23	99.22	66.57	60.61	76.00	82.07	94.15
Sigsicocha	71.23	96.57	109.06	159.04	87.58	85.88	38.02	32.66	35.74	77.58	81.04	85.65
Gullanzhapa	57.64	74.99	99.63	156.19	83.88	43.35	43.87	35.30	50.86	85.27	75.86	83.66

Fuente: MAE e INAMHI, 2019