



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

**Experimentos de germinación con semillas de Rañas,
Viburnum triphyllum (Benth) y sus implicaciones para la
propagación y restauración.**

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

Autora:

MARÍA EMILIA OCHOA HERMIDA

Director:

ANTONIO MANUEL CRESPO AMPUDIA

CUENCA, ECUADOR

2019

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres Gustavo Ochoa y Patricia Hermida, mi hermana Isabel Ochoa, y mi novio Adiel Nájera

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios, por su bondad y amor incondicional hacia mí.

A mis padres que son mi sustento, gracias por su apoyo en todo sentido durante el desarrollo de este trayecto, a mi novio, mi arquitecto Adiel por brindarme esa fuerza y cariño que necesitaba para no rendirme en los momentos más difíciles.

De especial manera al Dr. Antonio Crespo Ampudia por permitirme trabajar en su laboratorio, brindarme los materiales necesarios, su apoyo, conocimiento y experiencia para culminar con éxito este trabajo de graduación. A los pasantes y personas que trabajan en el laboratorio, entre ellos de especial manera a Diana Inga, Marcela Sánchez, Katherine Nieves y Doménica Vintimilla por sus consejos, ayuda, apoyo y amistad brindada.

A Ximena Palomeque y en general a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Cuenca por permitirme utilizar sus instalaciones, materiales y proporcionarme la información necesaria para la elaboración de este proyecto.

A todos los docentes que de alguna u otra manera en el transcurso de esta carrera inculcaron conocimientos y valores en mí, sé que me servirán toda la 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 I: MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
1.1 Descripción de los sitios de la población muestreada	16
1.2 Especie en estudio:	17
1.2.1 Tamaño y forma del fruto:	18
1.2.2 Morfología del fruto y semilla:	19
1.3 Recolección de semillas:	20
1.4 Experimentos de laboratorio:	21
1.4.1 Imbibición:	21
1.4.2 Germinación:	21
1.4.3 Tratamientos pre-germinativos:	23
1.4.3.1 Control:	23
1.4.3.2 Intemperie:	23
1.4.3.3 Semillas libres expuestas a ácido giberélico:	23
1.4.4 Registros de temperatura	25
1.5 Análisis de datos:.....	26
CAPITULO II: RESULTADOS	27

2.1 Imbibición.....	27
2.2 Germinación	28
CAPITULO III: DISCUSIONES	31
RECOMENDACIONES.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	39
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de los distintos tratamientos pre-germinativos utilizados en semillas de <i>Viburnum triphyllum</i> (Benth).....	24
Tabla 2. Fluctuaciones de temperatura registradas en semillas de <i>Viburnum triphyllum</i> ubicadas dentro del laboratorio y a la intemperie sometidas a distintos tratamientos.....	25
Tabla 3. Efecto de los distintos tratamientos en semillas de <i>Viburnum triphyllum</i> sobre las respuestas de germinación durante 90 días.....	28
Tabla 4. Análisis post-hoc basado en comparaciones múltiples por pares de la germinación de semillas de <i>V. triphyllum</i>	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la provincia del Azuay con la ubicación de los sitios de colección.....	17
Figura 2. a) Frutos maduros de <i>V. triphyllum</i> . Estado de recolección de los frutos en el campo. b) Fruto y semilla libre de <i>V. triphyllum</i>	19
Figura 3. Morfología de la semilla de <i>Viburnum triphyllum</i>	20
Figura 4. Siembra de semillas por tratamiento.....	22
Figura 5. Promedios de temperaturas diarias (\pm Error Estándar) en semillas ubicadas tanto dentro del laboratorio como a la intemperie, durante las 24 horas por 3 meses de monitoreo.....	25
Figura 6. Incremento de masa (peso) de semillas de <i>Viburnun triphyllum</i> con endocarpo y sin endocarpo, durante 72 horas.....	27
Figura 7. Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de <i>Viburnum triphyllum</i> sometidas a distintos tratamientos pre-germinativos con AG3.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

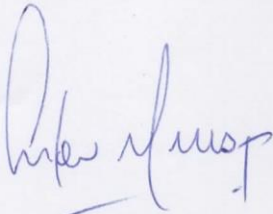
Anexo 1. Frutos maduros de <i>Viburnum triphyllum</i> en la planta madre que presentan una coloración negra-amoratada.....	55
Anexo 2. Medición del tamaño en centímetros del fruto de <i>Viburnum triphyllum</i> con ayuda de un calibrador.....	55
Anexo 3. Morfología del fruto de <i>Viburnum triphyllum</i>	56
Anexo 4. Fruto y semilla intacta de <i>Viburnum triphyllum</i>	56
Anexo 5. Frasco de Ácido giberélico comercial al 90%.....	56
Anexo 6. Presencia de contaminación por hongos en semillas intactas y semillas con tratamiento de AG3 a 500ppm.....	57
Anexo 7. Semillas intactas de <i>Viburnum triphyllum</i> que presentan distintas tonalidades con respecto a su color.....	57
Anexo 8. Semillas maduras de <i>Viburnum betulifolium</i> y <i>Viburnum parvifolium</i>	58
Anexo 9. Crecimiento del embrión después de los 90 días de monitoreo en una semilla sometida a 250ppm de AG3.....	59

Experimentos de germinación con semillas de Rañas, *Viburnum triphyllum* (Benth) y sus implicaciones para la propagación y restauración

RESUMEN

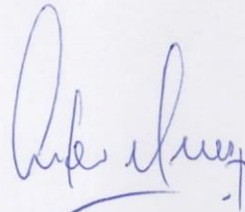
Se analizan distintos tratamientos pre-germinativos para romper y clasificar la dormancia de *Viburnum triphyllum* (Benth); mediante la extracción del endocarpo, semillas libres sembradas en cajas Petri a la intemperie y la aplicación de ácido giberélico en tres concentraciones, 100, 250 y 500 ppm. Los datos de imbibición se analizaron mediante la prueba estadística t Student; mientras que los datos de germinación se examinaron mediante un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, y un test post-hoc de Holm-Sidak. Los resultados demostraron que el endocarpo sí tiene efectos sobre la absorción de agua y germinación, y que se obtienen mejores y más tempranos porcentajes de germinación con la utilización de ácido giberélico. Se concluye que *Viburnum triphyllum* posee una dormancia morfofisiológica combinada, que tiene implicaciones al momento de propagar la especie y a su vez al utilizarla en programas de restauración.

Palabras clave: tratamientos pre-germinativos, *Viburnum triphyllum*, dormancia, germinación, ácido giberélico.



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Director del Trabajo de Titulación



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Coordinador de Escuela



María Emilia Ochoa Hermida

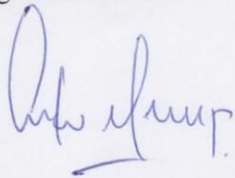
Autora

Germination experiments with seeds of Rañas, *Viburnum triphyllum* (Benth) and their implications for propagation and restoration

ABSTRACT

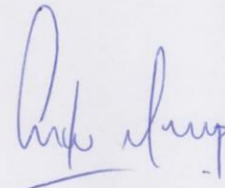
Different pre-germinative treatments were analyzed to break and classify the dormancy of *Viburnum triphyllum* (Benth) by extracting the endocarp, planting free seeds in Petri dishes outdoors and the application of gibberellic acid in three concentrations: 100, 250 and 500 ppm . The imbibition data were analyzed by the t Student statistical test, while the germination data were examined by the Kaplan-Meier survival analysis and a Holm-Sidak post-hoc test. The results showed that the endocarp does have effects on water absorption and germination. Also, better and earlier germination percentages are obtained with the use of gibberellic acid. The investigation concludes that *Viburnum triphyllum* has a combined morphophysiological dormancy, which has implications at the time of propagating the species and in restoration programs.

Keywords: pre-germinative treatments, *Viburnum triphyllum*, dormancy, germination, gibberellic acid.



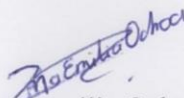
Antonio Manuel Crespo Ampudia

Thesis Director



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Faculty Coordinator

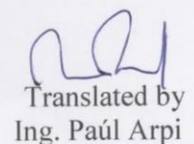


María Emilia Ochoa Hermida

Author



UNIVERSIDAD DEL AZUAY
Dpto. Idiomas



Translated by
Ing. Paúl Arpi

Ochoa Hermida María Emilia

Trabajo de Graduación

Crespo Ampudia Antonio Manuel, PhD

Diciembre, 2019

**Experimentos de germinación con semillas de Rañas, *Viburnum triphyllum* (Benth)
y sus implicaciones para la propagación y restauración**

INTRODUCCIÓN

Los bosques altoandinos se caracterizan por su alta diversidad, endemismo y servicios ecosistémicos que benefician al ser humano, incluyendo producción de agua, captura de carbono, generación de suelos fértiles, entre otros (Bokkestijn, 2017). La capacidad de los ecosistemas para sostener la biodiversidad y sus servicios asociados va disminuyendo año tras año como resultado del cambio climático, la contaminación ambiental, la deforestación, los incendios forestales, la conversión de los bosques a tierras agroproductivas y la actividad minera (Bokkestijn, 2017), provocando el aumento de la pobreza en zonas rurales, degradación de las cuencas hidrográficas y pérdida de la biodiversidad (Blakesley et al., 2002). Hasta el año 2008, en el sur del Ecuador alrededor del 46% de bosques han sido transformados en pastizales, en espacios para la agricultura, urbanizado, entre otros (Tapia et. al, 2015).

La mayoría de estos ecosistemas tienen una capacidad baja para recuperarse por sí solos una vez degradados y necesitan de ayuda externa, a esta asistencia se la denomina “restauración” (Mcdonald et. al, 2016). Según SER, (2004): “La restauración ecológica es el proceso de ayudar al restablecimiento de un ecosistema que se ha degradado, dañado o destruido” (p. 455). La siembra de flora nativa es la principal estrategia de restauración activa, sobre todo en los trópicos (Holl, 2017), y dentro de este proceso son de gran importancia las semillas, puesto que, además de ser el almacén del material genético de las plantas (Rodríguez y Nieto, 1999) de ellas depende la obtención y posterior

propagación del material vegetal que se utilizará para la reconfiguración de las comunidades vegetales en el sitio a restaurar (Ailstock y Shafer, 2010; Insuasty et. al, 2014; Skoglund, 2009). Igualmente, con la utilización de semillas nativas se evitan riesgos de mala adaptación y de contaminación genética (Mondino y Pastorino, 2016); además así se conserva el germoplasma, se establece una mejor adaptación de las plántulas a las condiciones ambientales y se tiene un mayor éxito en el programa de restauración (Arriaga et al., 1994). Sin embargo, los esfuerzos de restauración son limitados debido a la falta de información y poco interés acerca de la propagación de la mayoría de especies nativas (Blakesley et al., 2002), contrariamente a lo que sucede con especies exóticas dado que su propagación es ampliamente conocida (Arriaga et al., 1994). Por lo tanto, es importante comprender ciertos rasgos a nivel de semilla, como la morfología y la fenología reproductiva de las mismas, entre los que están: viabilidad, germinación y sobre todo el tipo de dormancia presente en las mismas (Vargas et. al, 2014).

Es usual que muchas de las semillas nativas altoandinas poco estudiadas presenten dormancia (Mancipe et. al, 2018), es decir que, a pesar de ser viables, son incapaces de germinar bajo condiciones favorables, y ciertos factores ambientales específicos como la luz, la temperatura, la humedad y el almacenamiento, controlan la misma (Finch y Leubner, 2006; Vargas et al., 2014). Este proceso resulta ser un limitante para la propagación de las especies tanto en vivero como en el campo (Alain y Delva, 2016), puesto que “las semillas pueden mantenerse en este estado durante mucho tiempo, en algunas especies durante muchos años” (Megías et. al, 2018, p.8) y en varias de las especies nativas del neotrópico se desconoce este factor, afectando directamente a su germinación (Vargas, 2017). Debido a esto es importante investigar tratamientos pre germinativos que permitan una germinación rápida y homogénea para mejorar la producción de plántulas a gran escala (Varela y Arana, 2011). A pesar de todo, la dormancia pese a causar problemas en la propagación de las especies en viveros, en la naturaleza las especies vegetales por medio de estos mecanismos complejos aseguran la posterior germinación de los individuos y por tanto, la supervivencia de la especie en condiciones adversas e imprevistas (De la Cuadra, 1993).

La dormancia ha ido evolucionando de diferente manera según las especies de plantas, la adaptación a su entorno, el clima y el hábitat, existiendo diferentes tipos y combinaciones (Baskin y Baskin, 2004; Bewley, 1997; Fenner y Thompson, 2005; Finch y Leubner, 2006; Hillhorst, 1995; Li y Foley, 1997; Vleeshouwers y Bouwmeester, 2001). Algunos de ellos se pueden presentar dentro de una misma semilla y existen diferentes tratamientos para romperla (Baskin y Baskin, 1989; Baskin y Baskin, 2004; Baskin et. al, 1998; Nikolaeva, 1969; Nikolaeva et.al, 1999; Nikolaeva et. al, 1985).

Dormancia física, es provocada por barreras mecánicas que impiden la germinación debido a la impermeabilidad al agua y a la restricción del intercambio gaseoso (Baskin y Baskin, 2001b; Jayasuriya et.al, 2007; Pérez et. al, 2014). Para romperla se necesitan ciclos de temperatura (calor seco, calor húmedo), humedad, congelamiento y descongelamiento (Baskin y Baskin, 2001b; Pérez et al., 2014); escarificación ácida o mecánica, reemplazando la endozoocoría (paso de las semillas por el tracto digestivo de los animales) que se produciría normalmente en la naturaleza o simplemente agujereando las capas externas a la semilla para que esta pueda absorber agua (Pérez et al., 2014; Schmidt, 2000).

Dormancia morfológica, esta se presenta en embriones subdesarrollados más no en embriones fisiológicamente inactivos, es decir que el embrión no se encuentra totalmente desarrollado y por lo tanto no puede germinar; se necesita de un periodo de crecimiento embrionario y de aparición de la radícula. Este tipo de dormancia no requiere de un tratamiento previo en sí, simplemente necesitan tiempo para que el embrión crezca completamente (suele ser alrededor de 30 días) (Baskin y Baskin, 2004).

Dormancia fisiológica, se produce en semillas permeables al agua y en las que disminuye la actividad del embrión, aun cuando poseen el embrión maduro (Baskin y Baskin, 2004; Finch y Leubner, 2006). Según el tipo y nivel de dormancia esta se puede romper sometiendo a las semillas a distintos rangos de temperatura y reguladores de crecimiento (Baskin y Baskin, 2004; Baskin et al., 1998). Además, se puede establecer un tratamiento en frío, luminoso o almacenamiento en seco (Lallana, Elizalde, y García, 2005).

Dormancia combinada, es cuando una semilla presenta la combinación de dormancias fisiológica y física. Son semillas con un embrión desarrollado pero presentan una capa

impermeable al agua y a su vez el embrión es fisiológicamente inactivo (Baskin y Baskin, 2001b; Baskin y Baskin, 2004). Para romperla en algunos casos solo se necesita un tiempo para la maduración de las semillas en almacenamiento en seco o en el campo, y en otros casos más complejos se necesita de algunas semanas de estratificación en frío (Baskin y Baskin, 2004).

Dormancia morfofisiológica, se produce en semillas con embriones poco desarrollados, con un tamaño relativamente pequeño respecto al resto de la semilla que necesitan crecer y desarrollarse antes de germinar, adicionalmente presentan un componente fisiológico en su dormancia que inhibe la germinación (Baskin et. al, 1995; Baskin y Baskin, 2004; Finch y Leubner, 2006). Estas semillas requieren de un pretratamiento de una combinación de estratificación fría y caliente para el crecimiento del embrión en un periodo de tiempo considerablemente más largo que en semillas con dormancia morfológica (Baskin y Baskin, 2004), o la aplicación de ácido giberélico (giberelinas) que en ocasiones puede reemplazar a estas temperaturas y además ayudar a romper la latencia fisiológica (Finch y Leubner, 2006).

El componente fisiológico que impide la germinación muchas veces está dado por un balance hormonal inadecuado dentro de la semilla y la presencia de compuestos químicos inhibidores, para superar esta dormancia se requiere modificaciones hormonales en el embrión, tanto la reducción de los inhibidores (ácido abscísico) como la síntesis de fitohormonas promotoras de la germinación (ácido giberélico) (Cunha, 2005).

El ácido giberélico (AG3), es uno de los fitorreguladores giberélicos más usado proveniente de las giberelinas (Quezada, 2015). Las giberelinas son hormonas vegetales naturales que se producen en la zona apical del fruto y semilla, promueven la germinación de la misma, e intervienen en los procesos de desarrollo de la planta y semilla (González et. al, 2007; Moreno, 2012). Las giberelinas, inducen el inicio de la germinación activando el crecimiento del embrión, permitiendo la movilización de las reservas de almacén y debilitando la capa de endospermo (Abril et. al., 2017; Rodríguez et al., 2016; Taiz y Zeiger, 2006). Otro de los fitorreguladores principales es el ácido abscísico (ABA) que es un compuesto que mantiene dormantes a gran parte de las semillas mediante la inhibición en la síntesis de proteínas y en la movilización de reservas (Kermode, 2005; Rodríguez

et al., 2016), es decir que promueve y/o mantiene la dormancia (Rodríguez et al., 2016). Por lo tanto, para que exista una regulación adecuada de la dormancia debe existir un equilibrio entre el compuesto ABA y el ácido giberélico (AG3), el mismo que puede romperse mediante el incremento de AG3 (Rodríguez et al., 2016; Sawada et al., 2008). Los factores ambientales pueden ayudar también a mantener este balance (Finkelstein et al., 2008; Rodríguez et al., 2016); sin embargo, la utilización del ácido giberélico puede llegar a reemplazar la necesidad de la luz, temperatura, entre otros estímulos ambientales (Abril et al., 2017; Saldívar et al., 2010).

La problemática antes expuesta se pone en evidencia en la especie nativa “*Viburnum triphyllum* Benth.”, un arbusto que se distribuye en la región biogeográfica de los Andes (Meneses, 2018) y presenta problemas en su germinación, debido a que requiere de un mínimo de cuatro meses para la emergencia de su radícula (Ruano y Benavides, 2018) y posee un endocarpo duro que lo dificulta aún más (Meneses, 2018); Baskin y Baskin, (2001) citado por Lobo, et al., (2007) afirman que semillas que tomen más de 30 días en germinar, se consideran latentes. Además, muchas de las especies del género *Viburnum*, presentan semillas con un embrión pequeño, subdesarrollado (rudimentario), que podría estar asociado a una dormancia morfofisiológica (Chien et al., 2011). Por todas estas razones, se sospecha que *Viburnum triphyllum* posee este tipo de dormancia.

Es por esta razón que surge la necesidad de generar nueva información sobre los patrones de germinación, conocer su mecanismo de dormancia, que factores están implicados en la misma, y establecer un protocolo de germinación mediante la aplicación de tratamientos pre-germinativos que disminuyan el tiempo de germinación permitiendo su propagación y uso en iniciativas de restauración.

CAPÍTULO I

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Descripción de los sitios de la población muestreada

La recolección de semillas se llevó a cabo en cuatro sitios de la provincia del Azuay. La Estación Científica “El Gullán” perteneciente a la “Universidad del Azuay”, ubicada en el cantón Nabón (3°20'17.35"S, 79°10'16.89"O) (Cárdenas, 2016), en la parroquia “Las Nieves” (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Nabón, 2014). La temperatura del sitio oscila entre 6-18°C, con una precipitación anual que varía entre 400-600 mm (MAE, 2013) e históricamente estaba cubierto por un tipo de vegetación de matorral húmedo montano de la Cordillera Oriental (Pintado, 2016; Sierra, 1999). Las especies más frecuentes son: *Oreocallis grandiflora*, *Clethra fimbriata*, *Lomatia hirsuta*, *Hesperomeles ferrugínea*, *Ageratina pseudochilca*, *Baccharis obtusifolia*, *Brachyotum confertum*, *Miconia aspergilliaris*, *Axinaea meriania* y *Morella parviflora* (Pintado, 2016).

La Comunidad de Rumipamba Chico, ubicada en la Parroquia de San Bartolomé, en el cantón Sígsig, con coordenadas 2°59'22.8"S; 78°51'16.2"O (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de San Bartolome, 2019). La temperatura se encuentra entre los 6-27°C (SNI, 2014) y la precipitación anual es de 700-900 mm (MAE, 2013). Según Sierra (1999) su formación vegetal pertenece a un Bosque siempreverde montano alto, presenta flora nativa característica perteneciente a las familias: Melastomataceae, Myrcinaceae, Cunoniaceae, Clusiaceae, Lauraceae, Myrtaceae.

La Tranca, que se encuentra en la comuna “La Merced”, perteneciente a la parroquia rural Luis Galarza Orellana (Delegsol), ubicada en el cantón Chordeleg, en las coordenadas 2°46'55 S; 78°45'6 W, este sitio se encuentra ubicado dentro del Bosque y Vegetación protectora del Collay. La temperatura oscila entre los 8 y 20°C, la precipitación media anual entre los 800 y 2000 mm (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural “Delegsol,” 2014). Según (Sierra, 1999) la formación vegetal original del lugar es Bosque siempreverde montano alto compuesta por las especies más representativas que son: *Oreocallis grandiflora*, *Miconia aspergilliaris*, *Morella spp*, *Viburnum triphyllum*, *H.*

ferruginea, *H. obtusifolia*, *Weinmannia spp*, *Cedrela spp* y *Berberis spp* (Chumi y Quizhpi, 2018).

Finalmente, la comunidad de “Gullanzhapac” perteneciente a la parroquia de Tarqui, con coordenadas $2^{\circ}57'20.28''S$ y $79^{\circ}0'24.22''O$, la temperatura oscila entre 12 y 20°C, las precipitaciones medias anuales fluctúan entre 500 y 2000 mm pudiendo en ocasiones ser menor en vertientes menos expuestas al sol. Su composición vegetal pertenece a Bosque siempreverde montano alto y entre las especies características de este sitio tenemos: *Tagetes pusilla*, *Baccharis latifolia*, *Berberis pindilicensis*, *Weinmannia fagaroides*, *Erythrina edulis*, *Miconia aspergillaris*, *Oreocallis grandiflora* (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Tarqui, 2015).

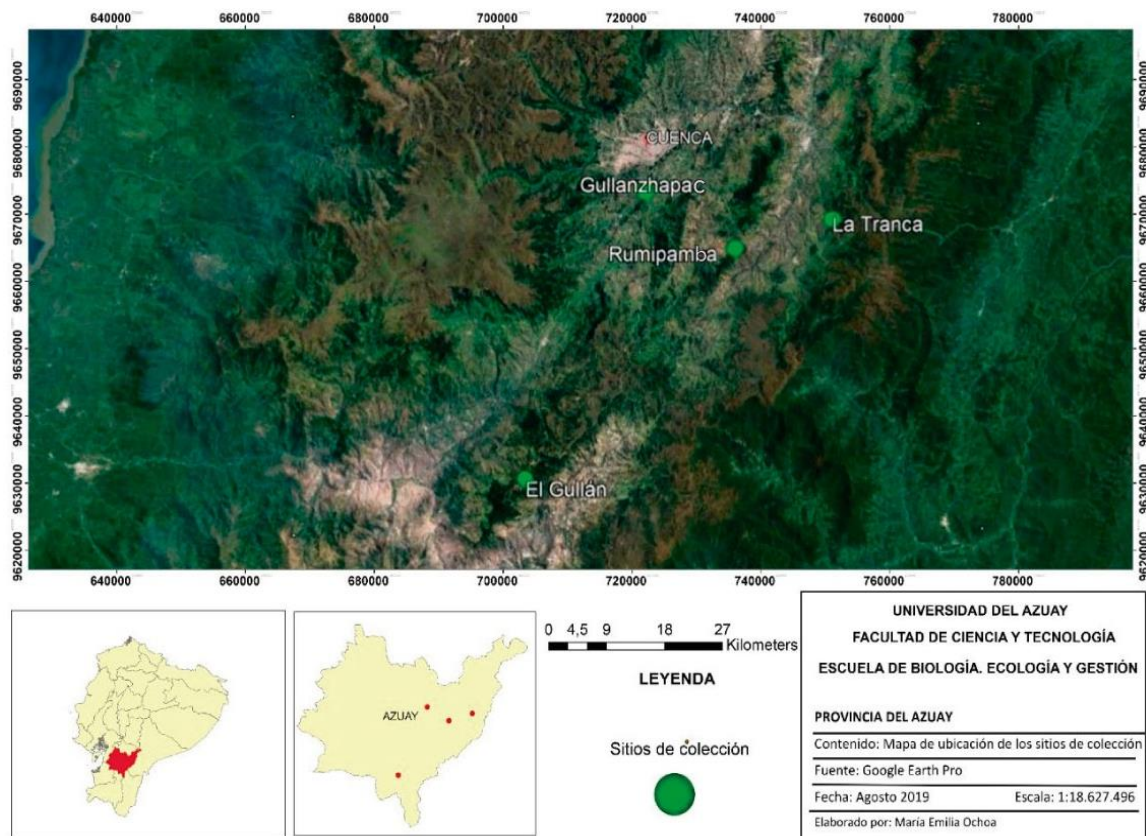


Figura 1. Mapa de la provincia del Azuay con la ubicación de los sitios de colección.

1.2 Especie en estudio:

Viburnum triphyllum (Benth), comúnmente llamado “rañas” o “garrocho”, es una especie de árbol o arbusto perteneciente al orden Dipsacales y a la familia Viburnaceae (Según

Trópicos-Missouri Botanical Garden). Algunos autores sugieren que los primeros representantes de este género se originaron al este de Asia (Bell y Donoghue, 2005; Jacobs et.al, 2009).

En América Latina la especie tiene una amplia distribución en los Andes de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú entre los 1700 y 3400 m s.n.m. (Meneses, 2018). En Ecuador se encuentra en bosques montanos húmedos y matorrales montanos, crece en sitios abiertos y matorrales secundarios (Minga y Verdugo, 2016). Alcanza una altura de hasta 5m, posee un tronco torcido bastante característico de la flora altoandina (Moreno, 2014; Ruano y Benavides, 2018), tallo cilíndrico, corteza de color café (Minga y Verdugo, 2016); hojas simples color verde limón, opuestas con peciolo corto, lámina foliar color verde pálido por el envés y ápice agudo (Meneses, 2018). Su copa es globosa o irregular; posee flores blancas, fragantes, dispuestas en inflorescencias umbeladas que contienen alrededor de 90 flores cada una (Minga y Verdugo, 2016), florece casi todo el año (Villegas, 1984). Es de uso ornamental y se lo utiliza en cercas vivas, sus hojas y se ocupan como calmante de los nervios y sus frutos para trabajos artesanales gracias al tinte morado que poseen (Romo, 2016).

Viburnum triphyllum (Benth), es una especie importante en la restauración ecológica debido a su follaje denso, altas tasas de recambio foliar, asociaciones con hongos que forman micorrizas y bacterias que fijan nitrógeno, ofrece gran cantidad de recursos especialmente para aves dispersoras de semillas (Hernández et al., 2014), sirve de refugio para insectos y mamíferos pequeños y brinda protección para yacimientos de agua, márgenes de ríos y quebradas. Además de su crecimiento rápido, es resistente al frío, fuertes vientos y suelos pobres, poco profundos y erosionados (Organización para la Educación y Protección Ambiental, 2016; Ruano y Benavides, 2017).

1.2.1 Tamaño y forma del fruto:

Los frutos colectados tuvieron un tamaño promedio de 0,65 cm de largo y 0,50 cm de ancho y poseen una forma redondeada en su mayoría. Se midieron 400 frutos con la ayuda de un calibrador (Anexo. 2).

1.2.2 Morfología del fruto y semilla:

Los frutos de *V. triphyllum* son drupas simples y carnosas, con el epicarpo verde cuando está inmaduro (Manrique y Morales, 2016) y con un color vino tinto al madurar (Moreno, 2014; Ruano y Benavides, 2018) (Véase Anexo .1). Para las poblaciones muestreadas en este estudio, los frutos tuvieron un tamaño promedio de 0,65 cm (largo) x 0,50 cm (ancho) (el promedio viene de la medición individual de 400 frutos. Cada fruto contiene una semilla redonda y lisa (Manrique y Morales, 2016).

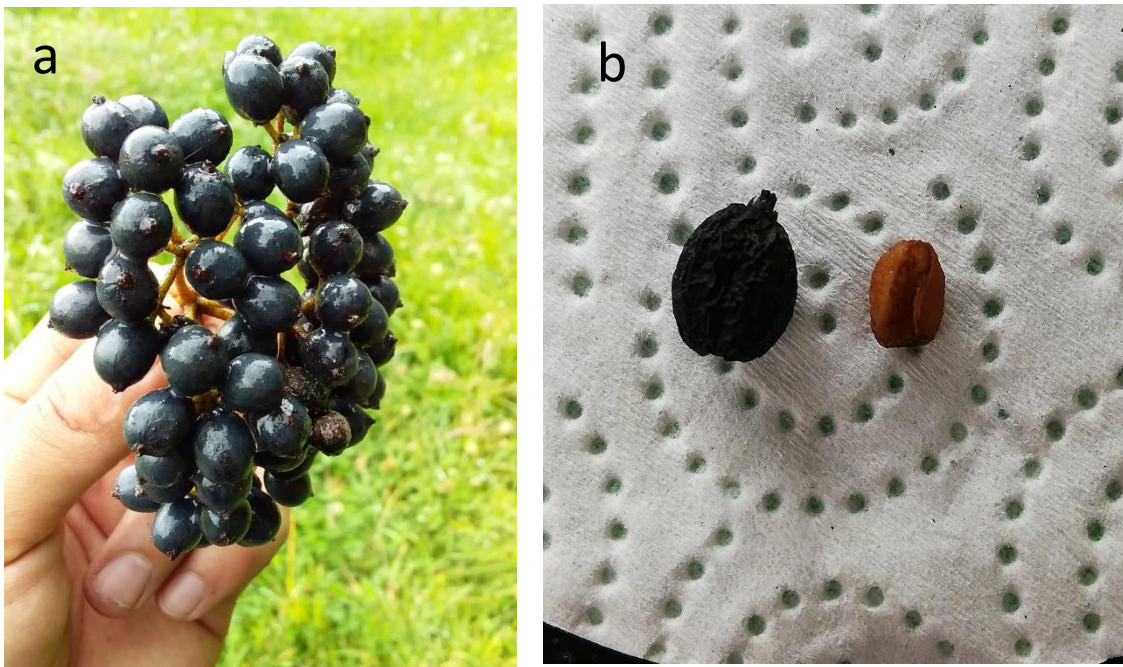


Figura 2. a) Frutos maduros de *V. triphyllum*. Estado de recolección de los frutos en el campo. b) Fruto y semilla libre de *V. triphyllum*.

La drupa de esta especie se origina de un ovario súpero y posee tres capas: epicarpo o exocarpo que es la piel externa del fruto; mesocarpo que es la pulpa del fruto; y endocarpo, es la capa más interna que en esta especie es leñosa y forma el llamado “hueso pireno” que envuelve a la semilla (Invernón, González, López, Arnelas, y Devesa, 2012). En la semilla del género *Viburnum* el endocarpo presenta dos capas, una capa externa y una interna (Véase Anexo. 3) (Baskin y Baskin, 2001a; Jacobs et. al, 2008).

La semilla está formada por un embrión de tamaño pequeño, de forma lineal, con una relación volumétrica menor a $\frac{1}{4}$ con respecto al endospermo (Jacobs et al., 2008). Está compuesta por el endospermo, siendo este una reserva alimenticia del embrión; y la cubierta seminal que forma la llamada testa (Ramírez, 2008). En la madurez, la semilla está cubierta por una exotesta bastante desarrollada con una capa de células grandes parenquimatosas; debido a esto, la cubierta es frágil y se puede llegar a dañar fácilmente (Jacobs et al., 2008).

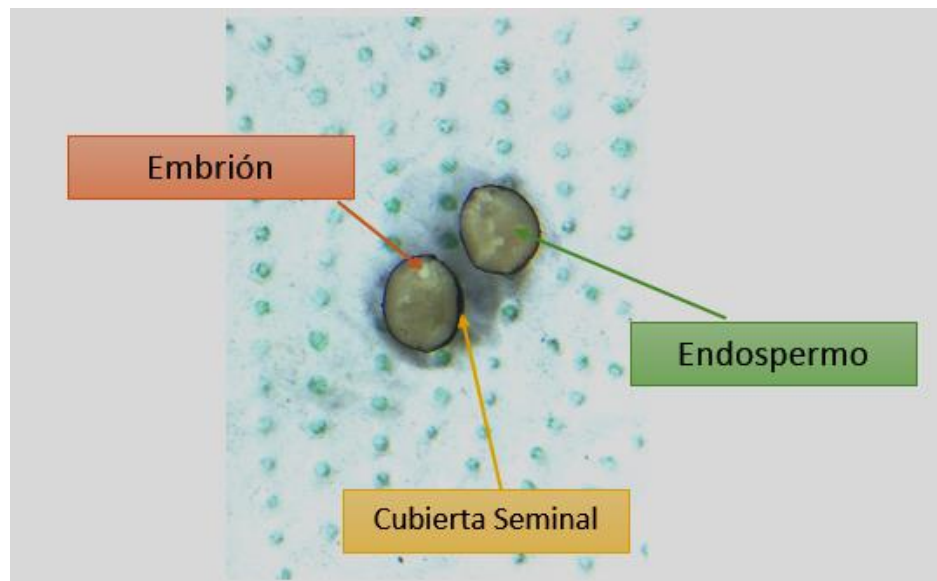


Figura 3. Morfología de la semilla de *Viburnum triphyllum*

1.3 Recolección de semillas:

Las semillas para los experimentos se recolectaron en los meses de marzo y abril del 2019. De cada sitio se seleccionaron 10 árboles adultos separados de 100 a 2000 m entre sí; cada individuo fue georreferenciado. De cada uno se colectaron frutos maduros de coloración negra-amoratada brillante (Véase Anexo. 1). Después de su extracción del árbol, los frutos fueron colocados en fundas plásticas y trasladados al Laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas para su procesamiento.

1.4 Experimentos de laboratorio:

Los experimentos de imbibición y germinación que a continuación se detallan, se realizaron en el laboratorio de Ecología y Manejo de Plantas Nativas de la Universidad del Azuay, en colaboración con el Centro de Agroforestería y Manejo del Paisaje de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Cuenca.

1.4.1 Imbibición:

Las pruebas de imbibición se realizaron para comparar el porcentaje de agua absorbido por semillas con y sin endocarpo. Para las mismas se utilizaron 480 semillas (160 semillas de cada población) las cuales se dividieron en dos grupos: 160 semillas con endocarpo (40 de cada población) y 320 semillas (80 de cada población) sin endocarpo (semillas libres) (Véase Anexo. 5). Se registró su biomasa fresca en grupos de 5 semillas y los datos del aumento de esta a intervalos de una hora tras sumergirse en agua destilada, se secan y se pesan; así en intervalos de 8, 12, 24, 48 y 72 horas. Los datos del aumento de masa se convierten a porcentajes mediante la fórmula $Wi = [(Wi - Wd) / Wd]$, donde Wi y Wd son masas de semillas asimiladas e imbibición, respectivamente (Baskin y Baskin, 2004).

1.4.2 Germinación:

Se utilizaron seis tratamientos pre-germinativos: control (con endocarpo), semillas libres sin endocarpo dentro del laboratorio, semillas libres y ubicadas a la intemperie, semillas libres y aplicación de AG3 a 100ppm, a 250ppm y a 500ppm (más detalle a continuación). Para cada tratamiento se establecieron 16 repeticiones (cajas Petri), con 10 semillas cada una, utilizando una cantidad de 160 semillas por tratamiento y 960 semillas en total. Los patrones de germinación fueron medidos por tratamiento, mediante un registro diario no acumulativo durante 90 días desde la siembra en cajas Petri (Figura 4).

Para diferenciar las distintas poblaciones y tratamientos se utilizaron etiquetas con códigos de números de tres cifras, en donde, la centésima representa el número de tratamiento, la décima es una constante (cero), y la unidad representa las poblaciones (1=La Tranca, 2=Gullanzhapa, 3=El Gullán, 4=Rumipampa). Ejemplo: Vtri402, semillas de *Viburnum triphyllum* colectadas en Rumipampa sometidas al tratamiento 4. Por lo tanto, la etiqueta va así: Vtri402/R2/23-abril-2019/Turi.

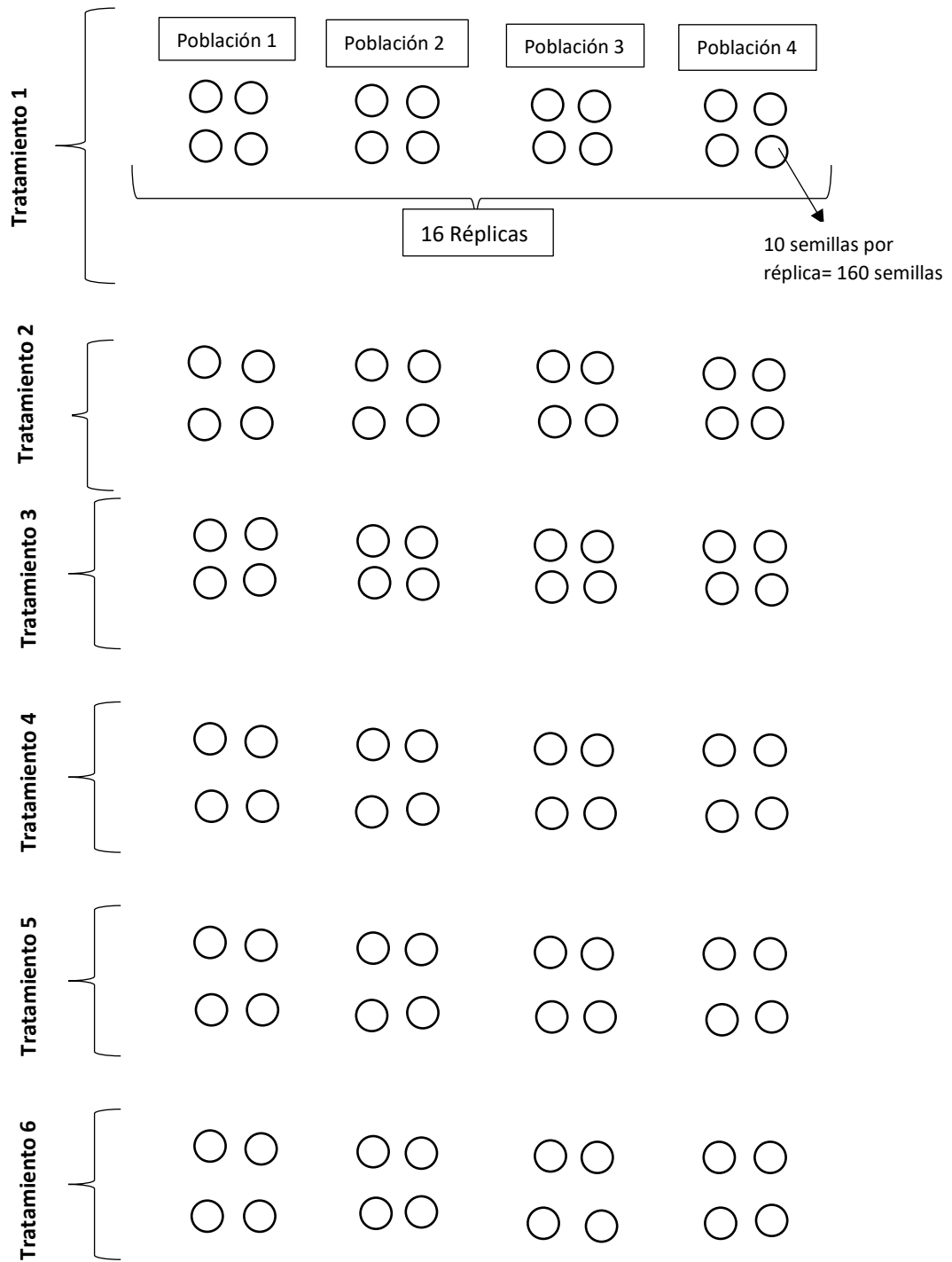


Figura 4. Siembra de semillas por tratamiento, cada tratamiento consta de 16 réplicas cada una con 10 semillas en total 160 semillas por tratamiento, 960 semillas en total.

Previo a la siembra en las cajas Petri se realizó un protocolo de desinfección. Se lavaron las semillas con 30 ml de agua destilada y 5 ml de jabón durante 5 minutos,

posteriormente se enjuagaron con otros 2 ml de agua destilada para retirar el exceso de jabón (Inga, 2017) y cualquier resto de ácido giberélico que pudiera haberse adherido a las semillas.

1.4.3 Tratamientos pre-germinativos:

Para los ensayos de semillas con endocarpo, se realizó la extracción de la pulpa que rodea al fruto con la ayuda de una lija y una navaja pocos días después de su recolección, para evitar la fermentación y aumento de temperatura de la semilla (Ruano y Benavides, 2018; Stein, et. al, 1974). Para los experimentos con la utilización de semillas libres se realizó el mismo procedimiento anterior, extrayendo de forma mecánica y con mucho cuidado además el endocarpo, con la ayuda de un bisturí de mango 24 y una navaja.

1.4.3.1 Control:

El objetivo del tratamiento de control, fue comprobar el efecto que tiene el endocarpo sobre la germinación de la semilla y el tiempo que esta tarda normalmente en germinar. Para esto se mantuvo el endocarpo intacto y no se realizó ninguna aplicación de ácido giberélico.

1.4.3.2 Intemperie:

El objetivo de este experimento fue simular las condiciones de temperatura y luz que podrían llegar a tener las semillas en el campo y comprobar si es que las fluctuaciones de temperatura tienen algún efecto sobre la germinación; puesto que, la temperatura es un factor que influye sobre la velocidad y el porcentaje de germinación en las semillas (Smith et. al, s.f.).

1.4.3.3 Semillas libres expuestas a ácido giberélico:

El objetivo de estos experimentos fue comprobar si es que las distintas concentraciones del mismo tienen un efecto positivo en acortar el tiempo de germinación y la ruptura de la dormancia de las semillas, y cuál es el más adecuado para las mismas.

Se utilizó ácido giberélico puro al 90% (Auxillin Art. 4128) en polvo (Anexo. 5), se procedió a pesar 125 g de este producto y se lo disolvió en 250 ml de agua destilada para establecer una concentración de 500 ppm. Se lo vertió en un envase, al mismo que se lo

colocó en un agitador durante 5 minutos para homogenizar la mezcla y al cabo de este tiempo se lo retiró y se lo cubrió con papel aluminio. Este proceso se lo realizó dos veces al no ser suficiente cantidad de producto.

Para el resto de concentraciones se realizaron sus respectivas diluciones a partir de la concentración de 500 ppm previamente preparada. De cada concentración se realizaron 4 réplicas con 40 semillas cada una.

Tabla 1. Descripción de los distintos tratamientos pre-germinativos utilizados en semillas de *Viburnum triphyllum* (Benth).

Tratamiento	Descripción
Semillas con endocarpo (Tratamiento 1)	Extraer la pulpa de los frutos con ayuda de una lija y una navaja, colocarlas en agua destilada por 72 horas y posteriormente sembrarlas en caja Petri con 5ml de agua destilada
Semillas libres (sin endocarpo) (Tratamiento 2)	Extraer la pulpa con una lija y navaja, posteriormente retirar el endocarpo de forma mecánica con mucho cuidado con la ayuda de un bisturí de mango 24 y una navaja. Colocarlas en agua destilada por 72 horas y posteriormente sembrarlas en caja Petri con 5ml de agua destilada.
Semillas libres y ubicadas a la intemperie (Tratamiento 3)	Extraer la pulpa y el endocarpo, colocarlas en agua destilada por 72 horas, y posteriormente sembrarlas en cajas Petri, con doble papel toalla humedecido con 5 ml de agua destilada para que el mismo mantenga la humedad y así evitar la desecación de las semillas, ubicarlas en la parte externa del laboratorio bajo sombra para evitar la exposición directa al sol.
Semillas libres e inmersión en AG3 a 100ppm (Tratamiento 4)	Con las semillas libres en una caja Petri, verter ácido giberélico a una concentración de 100 ppm hasta cubrir en su totalidad a las semillas, posteriormente envolverlas con una capa de papel aluminio y colocarla bajo sombra durante 72 horas. Pasado este tiempo retirarlas del ácido, desinfectarlas, enjuagarlas con bastante agua destilada y sembrarlas en cajas Petri con 5ml de agua destilada.
Semillas libres e inmersión en AG3 a 250ppm (Tratamiento 5)	Con las semillas libres en una caja Petri, verter ácido a una concentración de 250ppm hasta cubrir en su totalidad a las semillas, posteriormente envolverlas con una capa de papel aluminio y colocarla bajo sombra durante 72 horas. Pasado este tiempo retirarlas del ácido, desinfectarlas, enjuagarlas con bastante agua destilada y sembrarlas en cajas Petri con 5ml de agua destilada.
Semillas libres e inmersión en AG3 a 500ppm (Tratamiento 6)	Con las semillas libres en una caja Petri, verter ácido a una concentración de 500ppm hasta cubrir en su totalidad a las semillas, posteriormente envolverlas con una capa de papel aluminio y colocarla bajo sombra durante 72 horas. Pasado este tiempo retirarlas del ácido, desinfectarlas, enjuagarlas con bastante agua destilada y sembrarlas en cajas Petri con 5ml de agua destilada.

1.4.4 Registros de temperatura

Se colocaron data loggers dentro de una caja Petri, para medir las fluctuaciones de temperatura tanto fuera como dentro del laboratorio, las mismas fueron tomadas cada 15min durante las 24 horas en los meses de abril, mayo, y junio

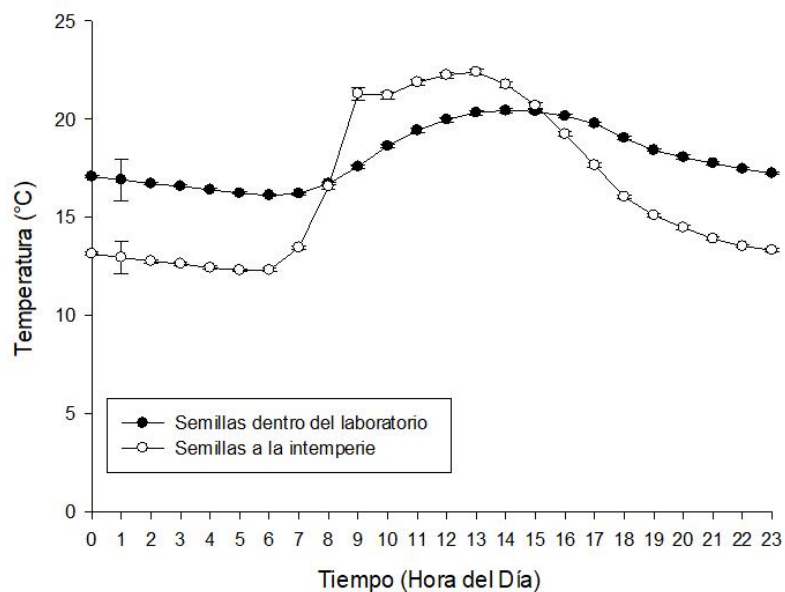


Figura 5. Promedios de temperaturas diarias (\pm Error Estándar) en semillas ubicadas tanto dentro del laboratorio como a la intemperie, durante las 24 horas por 3 meses de monitoreo. Se aprecian mayores fluctuaciones de temperatura en los data loggers ubicados a la intemperie, manteniendo valores por encima de los 20°C desde las 9h00 hasta las 15h00 y descendiendo desde la hora 16 hasta las 6h00 que comienza a subir la temperatura.

Tabla 2. Fluctuaciones de temperatura registradas en semillas de *Viburnum triphyllum* ubicadas dentro del laboratorio y a la intemperie sometidas a distintos tratamientos.

Tratamiento	Promedio (°C)	Min (°C)	Max (°C)
Semillas dentro del laboratorio	18,07	13	26,5
Semillas a la intemperie	16,40	9	36,5

1.5 Análisis de datos:

Los análisis estadísticos fueron aplicados para comparar el efecto que ejerce el endocarpo sobre la absorción de agua en la semilla, la ruptura de la dormancia mediante la aplicación de distintos tratamientos y por lo tanto el tiempo de germinación de la misma. Para ello se utilizó el software estadístico SigmaPlot (v.12.0, Sysat Software, Inc 2011). Para analizar los patrones temporales de imbibición que corresponden a datos continuos, primero se verificó la normalidad de los datos mediante un test de Shapiro Wilk y se utilizó un t test para comparar si es que existieron diferencias estadísticamente significativas en el aumento de peso a la hora 72 entre semillas con endocarpo y semillas sin endocarpo.

Para los datos de germinación, se aplicó un análisis de supervivencia (“tiempo al evento”), mediante el método de Kaplan-Meier con estadístico log-rank, con el objeto de comparar los patrones temporales de germinación entre los distintos tratamientos, (Crespo et al., 2017). Este método trabaja con datos no paramétricos y reconoce que al final del periodo de estudio el evento crítico, en este caso la emergencia, probablemente no ocurre en todos los casos y a estos se los denomina eventos censurados (Crespo et al., 2017; McNair et. al, 2012). Además, se aplicó la prueba comparativa Holm-Sidak como test post-hoc basado en una prueba de comparaciones múltiples por pares de tratamiento. De esta forma se pudo apreciar si los distintos tratamientos pre-germinativos tuvieron o no un efecto en la germinación de las semillas.

CAPITULO II

RESULTADOS

Tanto para los resultados de imbibición como para los de germinación, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ciertas curvas, encontrando datos relevantes para este estudio, que más adelante se discutirán.

2.1 Imbibición

En los datos obtenidos se encontró que las semillas con endocarpo aumentan hasta en un 8% en masa hasta la hora 72, a diferencia de las semillas sin endocarpo que llegan a aumentar hasta en un 19% en masa. Además, existen diferencias estadísticamente significativas entre el promedio del aumento de masa en la hora 72 de semillas con endocarpo y semillas sin endocarpo ($t= 5,993$; $p=<0,001$; $DF= 62$).

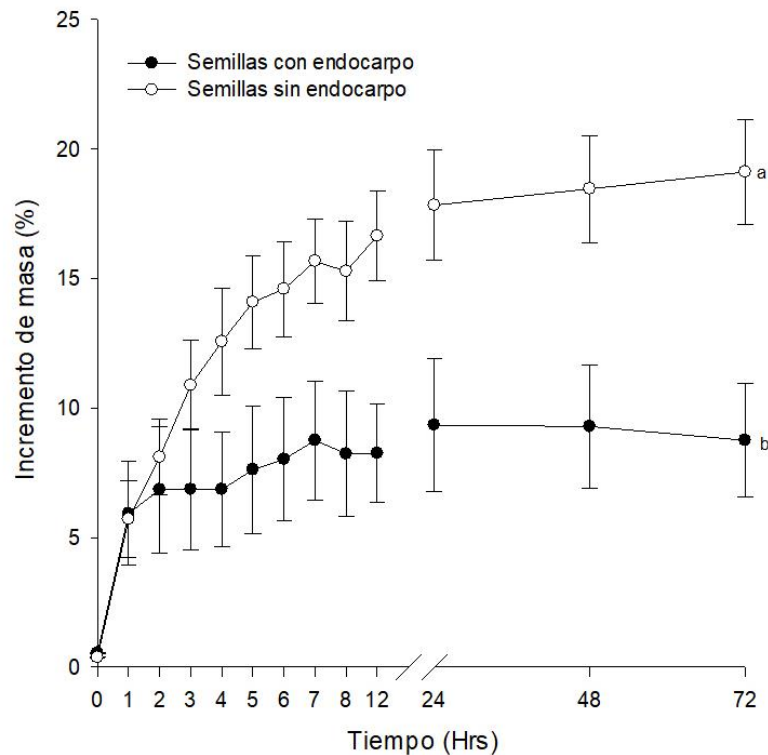


Figura 6. Incremento de masa (peso) de semillas de *Viburnun triphyllum* con endocarpo y sin endocarpo, durante 72 horas.

2.2 Germinación

En el control (con endocarpo) el porcentaje de germinación de semillas fue del 1%, se obtuvo la primera semilla germinante al día 82, concluyendo con la segunda germinante al día 87; para el tratamiento de semillas libres dentro del laboratorio, el porcentaje de germinación fue del 21%, al día 56 se obtuvo la primera semilla germinante; para el tratamiento de semillas libres a la intemperie el porcentaje de germinación fue del 18% obteniendo la primera semilla germinante al día 51. En cuanto al tratamiento con semillas libres sumergidas en AG3 a 100 ppm el porcentaje de germinación fue del 56% con un pico de germinación a partir del día 35 después de la siembra; el tratamiento con AG3 a 250 ppm con el 59% con un pico desde el día 39; y el tratamiento con AG3 a 500 ppm con el 65% con un pico desde el día 38 (Figura 4). Los patrones de germinación en general, presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos aplicados ($\chi^2= 272,109$; $p= <0,001$, $DF= 5$). Mediante un análisis post-hoc basado en una comparación múltiple por pares se evidenció que solamente existían diferencias estadísticamente significativas entre el control y cada uno de los diferentes tratamientos aplicados, igualmente entre los tratamientos con semilla libre sin la aplicación de ácido giberélico y aquellos a los que se les aplicó el ácido, presentando patrones distintos entre sus curvas (Véase tabla 3).

Tabla 3. Efecto de los distintos tratamientos en semillas de *Viburnum triphyllum* sobre las respuestas de germinación durante 90 días.

Tratamientos	Total de germinantes	Retardo (Días)	t50 (Días) 95% IC	Germinantes Finales (%)
Control (con endocarpo)*	2	82	- ^b	1%
Semillas libres en laboratorio*	33	56	- ^b	21%
Semillas libres a la intemperie	29	51	- ^b	18%
Semillas libres a 100ppm AG3*	90	35	88 (75,802; 88,198)	56%
Semillas libres a 250ppm AG3*	94	39	86 (63,981; 86,019)	59%
Semillas libres a 500ppm AG3*	104	38	74 (65,625; 74,375)	65%

Retardo: Número de días desde la siembra que no se obtuvo germinantes. t50: Número de días para alcanzar el 50% de germinantes. ^b: las estimaciones Kaplan Meier fueron inferiores al 50%. *: Experimentos realizados dentro del laboratorio.

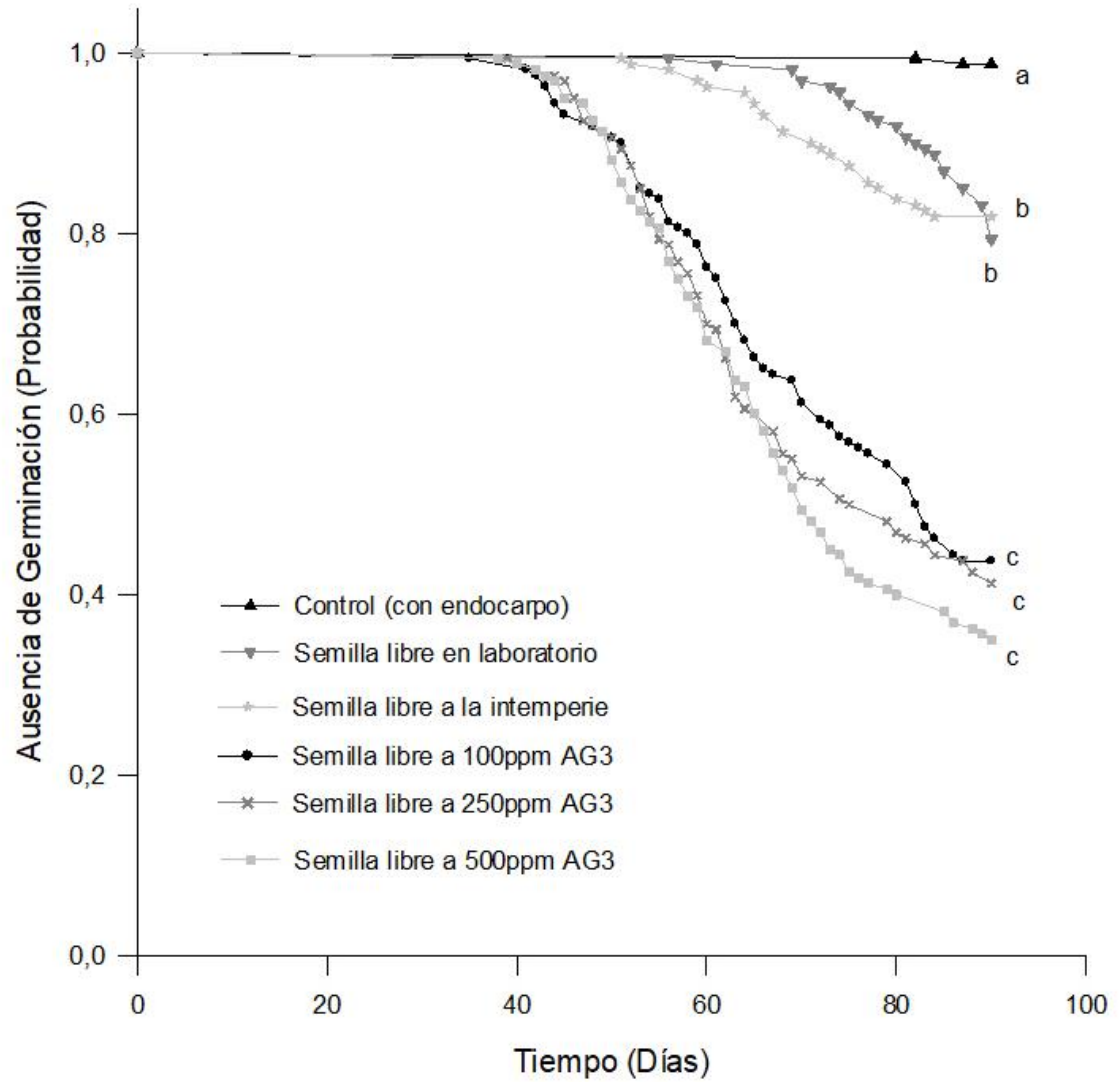


Figura 7. Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de *Viburnum triphyllum* sometidas a distintos tratamientos pre-germinativos con AG3 durante un periodo de 90 días. Curvas con distintas letras indican diferencias significativas.

Tabla 4. Análisis post-hoc basado en comparaciones múltiples por pares de la germinación de semillas de *V. triphyllum*. Diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos aplicados

Comparaciones	x²	p
Control vs 500ppm AG3	155,606	0,000
Control vs 250ppm AG3	131,769	0,000
Control vs 100ppm AG3	123,094	0,000
Semillas libres dentro del laboratorio vs 500ppm AG3	84,710	0,000
Semillas libres a la intemperie vs 500ppm AG3	81,773	0,000
Semillas libres dentro del laboratorio vs 250ppm AG3	63,204	1,887E-014
Semillas libres a la intemperie vs 250ppm AG3	62,740	2,098E-014
Semillas libres dentro del laboratorio vs 100ppm AG3	54,731	1,106E-012
Semillas libres a la intemperie vs 100ppm AG3	53,514	1,798E-012
Control vs semillas libres dentro del laboratorio	30,844	0,000000168
Control vs semillas libres a la intemperie	26,334	0,00000144
100ppm AG3 vs 500ppm AG3	3,238	0,258
250ppm AG3 vs 500ppm AG3	1,041	0,668
100ppm AG3 vs 250ppm AG3	0,516	0,722
Semillas libres dentro del laboratorio vs semillas libres a la intemperie	0,0818	0,775

CAPITULO III

DISCUSIONES

En base a los resultados obtenidos en esta investigación, se sugiere que las semillas de la especie *Viburnum triphyllum* (Benth) poseen dos tipos de dormancia dentro de la misma semilla, dormancia morfofisiológica y combinada; es decir poseen dormancia morfofisiológica combinada. En este tipo de dormancia las semillas poseen un embrión rudimentario fisiológicamente inactivo que está cubierto por una capa impermeable al agua, esta última característica viene dada por la dormancia combinada (Baskin y Baskin, 2014; Baskin y Baskin, 2004; Just, 2018), y que escurificando o retirando esta capa, promueve la absorción de agua y en algunos casos también la germinación (Just, 2018). Otra característica de este tipo de dormancia, es el tamaño y el estado del embrión dentro de la semilla. Las especies con dormancia morfofisiológica, poseen un embrión rudimentario, es decir de tamaño muy pequeño que tan sólo ocupa el 1% del interior de la semilla y por lo tanto no ha completado su desarrollo morfológico, y que además posee un componente fisiológico de latencia en su interior que inhibe su germinación (Lobo et al., 2007; Nikolaeva, 1969). Por ser pequeños, estos embriones deben crecer y desarrollarse dentro de la semilla rompiendo la latencia fisiológica antes que ocurra la germinación; un proceso que puede durar meses o años según la especie (Baskin y Baskin, 2001b; Lobo et al., 2007). Para este tipo de dormancia, la germinación está regulada por la relación entre el potencial de crecimiento del embrión y las restricciones que las capas que lo rodean imponen sobre éste (Bentsink y Koornneef, 2008; Lobo et al., 2007). Debido a dichas características esta dormancia podría ser problemática al no poder utilizar las semillas post-almacenamiento si es que se ha decidido almacenarlas, puesto que las mismas necesitan primero un intervalo de maduración del embrión, tardándose en germinar (Baskin y Baskin, 2004; Mattana et. al, 2014; Romero y Pérez, 2016); al contrario de lo que sucede en semillas con embriones totalmente maduros y bien desarrollados (Forbis et. al, 2002; Romero y Pérez, 2016).

En *V. triphyllum*, la remoción del endocarpo incrementó la tasa de germinación en cierta medida, comprobando la ruptura de una de las características que se manifiesta en la dormancia combinada. Esta afirmación se confirma en las pruebas de imbibición y

germinación realizadas, en donde las semillas con endocarpo aumentaron un 8% en masa luego de 72 horas, mientras que semillas sin endocarpo aumentaron un 19% en el mismo período. Esta diferencia está relacionada con la presencia de un endocarpo duro llamado “hueso pireno” en las especies del género *Viburnum* (López, 2017; Courtis, 2013). Este endocarpo está formado por capas esclereidas (células del esclerénquima) con paredes celulares gruesas que rodean a la semilla (Konarska y Domaciuk, 2018). Esta capa cumple la función de regular el transporte de agua hacia el interior de la misma (Courtis, 2013) y posiblemente, ésta cubierta dura hace que se produzca una absorción lenta y restringida de agua y gases, evitando un gran incremento en masa de la semilla, lo cual disminuye su porcentaje de germinación, pues para obtener una germinación rápida y uniforme la entrada de agua es necesaria (Arnold Arboretum, 1960). En cuanto a la germinación, en el control de semillas con endocarpo se obtuvieron solamente 2 germinantes (1%), una al día 82 y otra al día 87. Por el contrario, en el tratamiento con semillas libres (sin endocarpo) dentro del laboratorio, la germinación comenzó al día 56 con un total del 21% de semillas germinadas, comprobando así que, como se mencionó anteriormente, el endocarpo sí ejerce una influencia negativa sobre la absorción de agua y por lo tanto la germinación. En un estudio elaborado por Chien et al., (2011) en semillas maduras de *Viburnum betulifolium* y *Viburnum parvifolium* con dormancia morfofisiológica, sometidas a distintas temperaturas, luz y extracción del endocarpo, se puede apreciar que las semillas que fueron extraídas el endocarpo poseen un embrión alargado que ha crecido y se ha desarrollado; por el contrario, en semillas con endocarpo se aprecia el menor tamaño del embrión y su poco desarrollo (Véase Anexo. 9). En condiciones naturales *Viburnum triphyllum* dispersa sus semillas por endozoocoría (Manrique y Morales, 2016); es decir que distintos animales consumen los frutos haciendo que las semillas pasen por su tracto digestivo, y el ácido contenido dentro del mismo permita que se rompan las cubiertas duras (endocarpo) de protección de la semilla (Junta de Andalucía, s.f.) y regresen a la tierra naturalmente tratadas para germinar (García, 1991); este proceso podría facilitar la germinación, que de otro modo sería difícil que ocurra (Junta de Andalucía, s.f.). Otras especies vegetales con dispersión por endozoocoría requieren escarificación de sus semillas para que se produzca la germinación debido a cubiertas duras, gruesas e impermeables que impiden el paso de agua y gases, entre estas especies

se encuentran *Duranta serratifolia*, *Celtis spinosa* y *Cassia carnaval* (Speroni y De Viana, 2000).

Igualmente, al diseccionar la semilla de *V. triphyllum* se pudo observar en su interior la diferencia existente entre el tamaño del embrión y el endospermo, un embrión muy pequeño en comparación al resto de la semilla (Véase Figura 3). Para su crecimiento y desarrollo se necesitan distintos pre-tratamientos, algunos de estos consisten en la exposición de las semillas a distintas temperaturas, debido a que existe la hipótesis de que las amplias fluctuaciones de temperatura pueden llegar a romper la dormancia y acortar el tiempo necesario para la germinación (Romero, 2016; Santana et al., 2010), en la naturaleza estas condiciones pueden simplemente ocurrir con el paso del tiempo (Baskin y Baskin, 2001c; Hidayati et al., 2005; Nikolaeva, 1969). Es por esto que, después de eliminar la barrera del endocarpo, se expuso a las semillas durante tres meses (periodo natural de germinación de las mismas) a dichas fluctuaciones al colocarlas a la intemperie bajo sombra. No obstante, dicha hipótesis, no se comprobó en los resultados de este estudio, pues en cuanto a los tratamientos con temperatura, no existió influencia positiva de la misma sobre la germinación; se obtuvieron mejores resultados en semillas sembradas en cajas Petri dentro del laboratorio, con un porcentaje del 21%, en comparación a las semillas sembradas en cajas Petri a la intemperie con un porcentaje del 18%. Los porcentajes no presentan una gran diferencia y no es un dato relevante en este estudio. Los resultados pueden estar relacionados a las altas y bajas temperaturas que recibían las semillas a la intemperie durante ciertas horas del día (llegando incluso a sobrepasar los 30°C), haciendo que estas fluctuaciones, de lo contrario a lo que se cree, disminuyan en cierta medida la germinación. El género de *Viburnum* se distribuye ampliamente por todo el hemisferio norte, el sudeste asiático tropical y montañoso, en México, América central y los andes de América del sur. No obstante, su centro de diversificación se encuentra en el sudeste asiático (Clement et al., 2014) que presenta un clima monzónico con precipitaciones, humedad y temperaturas cálidas constantes durante todos los meses del año (Encyclopaedia Britannica, s.f.). Sin embargo un estudio de la filogenia de *Viburnum* confirma que existe una estrecha relación entre clados de especies de Norteamérica (en donde existen las 4 estaciones) como *Viburnum dentatum* y la radiación latinoamericana representada por *Viburnum triphyllum* (Clement et al., 2014).

Su comportamiento de germinación con respecto a la temperatura podría estar ligado a esta relación existente, pudiendo necesitar de estratificaciones frías y calientes durante periodos largos. El efecto de este tipo de tratamientos puede ser imitado con el uso de ácido giberélico debido a que este tiene la capacidad de reemplazar la necesidad de estímulos ambientales (Pupiales, 2016), como sucedió con especies de *Viburnum trilobum* (Baskin et al., 2008; Fedec y Knowles, 1973) y *Jaltomata procumbes* (Moreno, 2012; Saldívar et al., 2010). Además, que el ácido giberélico rompe el componente de la dormancia fisiológica dentro del embrión, aumentando así los porcentajes de germinación y disminuyendo el tiempo requerido para la misma (Moreno, 2012; Saldívar et al., 2010). Este componente de dormancia fisiológica se produce en respuesta a señales específicas de temperatura, hormonales o luz, cuando estas condiciones específicas se cumplen disminuye el nivel de ácido abscísico y la biosíntesis de ácido giberélico se incrementa, lo que rompe la latencia y da paso a la germinación (Oh et al., 2006; Vásquez et al., 2019). Conjuntamente, esta ruptura de la dormancia se da mediante la activación del crecimiento vegetativo del embrión, el debilitamiento de la capa del endospermo y la movilización de reservas nutricionales acumuladas en el mismo (Abril et al., 2017; Taiz y Zeiger, 2006). Esta descripción concuerda con los resultados de este estudio, en general la adición de ácido giberélico sobre las semillas resultó en tasas superiores al 50% en 31 días. Se encontró que semillas sometidas a tratamientos con concentraciones de 100ppm, 250ppm y 500ppm de AG3 redujeron el tiempo necesario para la germinación de 56 a 31 días, y los porcentajes totales de germinación incrementaron del 21 al 65% con respecto al tratamiento de semillas libres sin AG3. Además, se puede observar el incremento del tamaño del embrión después de los 90 días de monitoreo, en semillas sometidas a 250ppm de AG3 (Véase Anexo. 9), comprobando la ruptura del componente fisiológico de la dormancia y el posterior desarrollo del embrión. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de germinación entre las distintas concentraciones de AG3, pero el que presentó mejores resultados fue el de mayor concentración, es decir el de 500ppm al tener el 65% de germinantes; coincidiendo con autores como: Hermosillo et al., (2008) que trabajo con especies como *Leucaena leucocephala*, *Leucaena lanceolata*, *Gliricidia sepium*, entre otras, obteniendo los mejores resultados en semillas colocadas en agua a 75°C por 30 seg y remojo en agua a

18°C por 24 h con dosis desde 600 a 2.300 mg/L de AG3; Lobo et. al, (2007) que trabajo con semillas de guanábana y chirimoya y rompió la latencia de las mismas a concentraciones de 800 ppm de AG3; en las semillas de chirimoya obtuvo efectos sinérgicos al combinar el tratamiento de 800 ppm de AG3 y estratificación caliente húmeda durante 90 días; y Moreno, (2012) que centró su estudio en semillas de *Solanum sessiliflorum* obteniendo los mejores resultados con tratamientos con AG3 y KNO₃ tanto en presencia como en ausencia de luz, presentando disminución de tiempos de germinación e incremento en los porcentajes. El tratamiento más eficiente resultó del efecto sinérgico de AG3 a 500 ppm y KNO₃ a 0,25M. Todos estos autores indicaron en sus estudios que, a mayores concentraciones de ácido giberélico obtienen mayores porcentajes de germinación en un menor tiempo.

Por otro lado, en cuanto a la presencia del endocarpo duro, ésta está ligada a la tolerancia a la desecación en las semillas, en la que existen semillas ortodoxas y recalcitrantes; las semillas ortodoxas toleran la deshidratación en bajos contenidos de agua (< 7%) (Roberts, 1973; Romero y Pérez, 2016), sin perder su viabilidad, pudiendo conservarse, mientras que las semillas recalcitrantes mueren durante el secado si existe menos del 20-30% de humedad y no pueden ser almacenadas (Chin et. al, 1989; Romero y Pérez, 2016). No obstante, entre éstas pueden existir estados intermedios, las semillas que se encuentran en estos estados toleran hasta un 7-20% de humedad, y su viabilidad va disminuyendo con el almacenamiento a largo plazo. Existen otras características morfológicas de la semilla y el fruto que ayudan a clasificarlas en ortodoxas o recalcitrantes; frutos como vainas, bayas y cápsulas que poseen más de una semilla tienden a ser ortodoxas (Hong y Ellis, 1997; Romero y Pérez, 2016), semillas con un tamaño igual o mayor a 17 mm de ancho por 13 mm de largo tienden a tener un comportamiento recalcitrante (Daws et. al, 2005; Hong y Ellis, 1997; Romero y Pérez, 2016), semillas que pesan más de 3 gramos suelen ser recalcitrantes por su alto contenido de humedad y proteínas oleosas (Magnitskiy et. al, 2007; Romero y Pérez, 2016). Por último, semillas con capas blandas y permeables aumentan la probabilidad de que sufran de desecación y por lo tanto sean recalcitrantes (Daws et al., 2005; Romero y Pérez, 2016). Además, semillas sensibles a la desecación poseen un alto contenido de agua al momento de su dispersión y tienden a germinar rápidamente al evitar secarse facilitando el ingreso de la humedad directamente del suelo

(Daws et al., 2005; Daws et. al, 2006; Pritchard, 2004); tales respuestas pueden retrasarse debido a una gruesa cubierta de la semilla, dado que demora la germinación (Daws et al., 2006).

En pruebas preliminares realizadas en colaboración con el Centro de Agroforestería y Manejo del Paisaje de la Universidad de Cuenca, se obtuvo un promedio de 52,71% de contenido de humedad luego de pesar 200 semillas libres de *V. triphyllum*. El contenido de humedad se expresa como la pérdida de humedad del peso seco en porcentaje de la muestra original, y según el promedio obtenido indica una baja capacidad de las semillas para evitar la desecación (ISTA, 1996; Schmidt, 2000), confirmando el resguardo de agua al interior de la semilla por parte del endocarpo. Debido al endocarpo duro que evita la pérdida de agua de la semilla, su tiempo de germinación tardío desde que se dispersa, y otras características morfológicas como su tamaño, peso y número de semillas por fruto, se considera que esta especie está en un estado intermedio tendiendo un poco más hacia un comportamiento ortodoxo. Sin embargo, podemos entender según los resultados que el endocarpo retarda la germinación y si se lo retira, las semillas germinan en menor tiempo, pero quedan vulnerables a la desecación y no pueden ser almacenadas.

Es importante además mencionar que, un factor limitante en los experimentos llevados a cabo, fue la contaminación, gran parte de semillas no completaron el monitoreo de los 90 días y fueron vulnerables a la afectación que recibieron por parte de hongos, entre los principales que afectan a las semillas forestales se encuentran géneros como: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillum* y *Monilia* (Ver Anexo. 6) (Arguedas, 2011; Borges y Urdaneta, 2010; Carvalho y Muchovej, 1991; Correa, Paternina, Espitia, Campo, y Urango, 2012; Lee, 2011; Monroy y Lizarazo, 2010; Orlando, Urango, y Espitia, 2014). Este evento suele ser común durante las pruebas de germinación, o puede haberse presentado antes, durante la extracción de las semillas por falta de higiene en el lugar de trabajo (Rao et al., 2007), por lo cual se debe tener más cuidado con los procedimientos realizados para procesar y sembrar las semillas, y además mejorar la desinfección en las mismas.

Un dato interesante que se encontró en esta investigación es que, al momento de procesar las semillas maduras, después de la extracción del endocarpo se pudieron notar distintas

tonalidades en el color de la semilla, que variaban desde verde claro hasta un anaranjado-rojizo (Ver Anexo.7), este dato no fue considerado para los tratamientos y análisis aplicados, sin embargo, es un factor que podría estar estrechamente relacionado con la germinación y afectar la misma; debido a que dependiendo los componentes fenólicos que se encuentren presentes en la cubierta seminal, el color de la semilla esta positivamente correlacionado a la restricción de la germinación, y la dormancia (Debeaujon et. al, 2000; Tenorio et. al, 2008). “La variación en color de la cubierta de la semilla se interpreta como una estrategia adaptativa para producir semillas que pueden germinar en un intervalo más amplio de condiciones ambientales” (Tenorio et al., 2008, p.591). Además, los distintos colores de las semillas podrían estar relacionados con la temperatura adecuada para su germinación, los colores oscuros absorben más radiación infrarroja y por lo tanto se calientan más, es decir que las semillas más oscuras tenderán a germinar en mayor porcentaje, dependiendo de la temperatura de germinación óptima para la especie (Tenorio et al., 2008). Así que es importante para futuras investigaciones, no solo tomar en cuenta la coloración del fruto, sino además el color de la cubierta seminal.

Ésta investigación es de gran relevancia, debido a que en Ecuador no se han realizado antes estudios sobre la germinación y dormancia de *Viburnum triphyllum*, y mediante éstos hallazgos, se podrá facilitar la propagación de la especie y a su vez a la utilización de la misma en programas de restauración posteriores.

RECOMENDACIONES

- Analizar y medir el tamaño del embrión durante los meses de monitoreo y relacionarlo con la germinación.
- Realizar un estudio relacionado a la endozoocoría de *Viburnum triphyllum* principalmente llevada a cabo por las aves, y su posterior germinación.
- Considerar al color de la semilla como un factor importante para la posterior germinación de la misma, y realizar estudios.
- Continuar con el estudio a profundidad de los tipos de dormancia morfofisiológica existentes en el género *Viburnum*.

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, R., Ruiz, T., Alonso, J., y Cabrera, G. (2017). Germinación, diámetro de semilla y tratamientos pregerminativos en especies con diferentes finalidades de uso. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3), 703–717.
<https://doi.org/10.15517/ma.v28i3.26205>
- Ailstock, S. M., y Shafer, D. (2010). Effects of Planting Depth, Sediment Grain Size, and Nutrients on *Ruppia maritima* and *Potamogeton perfoliatus* Seedling Emergence and Growth. *Restoration Ecology*, 18(4), 574–583.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2010.00697.x>
- Alain, J., y Delva, J. (2016). *Respuesta germinativa de cuatro especies forestales nativas del macizo del Cajas*. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26131/1/Tesis.pdf>
- Arguedas, M. (2011). Problemas fitosanitarios en teca (*Tectona grandis* L. F.) en América central. In *Protección fitosanitaria forestal*. (ICA, pp. 147–160). Colombia.
- Arnold Arboretum. (1960). *Propagation of woody plants by seed*. (Vol. 20). Recuperado de <http://arnoldia.arboretum.harvard.edu/pdf/articles/1960-20--propagation-of-woody-plants-by-seed.pdf>
- Arriaga, V., Cervantes, V., y Vargas Mena, A. (1994). Manual de reforestación con especies nativas. *Secretaría de Desarrollo Social Instituto Nacional de Ecología*, 186.
- Baskin, C. C., y Baskin, J. M. (2001a). Causes of Within-Species Variations in Seed Dormancy and Germination Characteristics. In *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* (pp. 181–187). <https://doi.org/978-0-12-080263-0>
- Baskin, C. C., y Baskin, J. M. (2001b). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* (1st ed.; Academic Press, Ed.). Kentucky, Lexington: Elsevier.

- Baskin, C. C., y Baskin, J. M. (2014). *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* (2nd ed.; Academic Press, Ed.). Kentucky, Lexington.
- Baskin, C. C., Chien, C. Te, Chen, S. Y., y Baskin, J. M. (2008). Germination of *Viburnum odoratissimum* seeds: A new level of morphophysiological dormancy. *Seed Science Research*, 18(3), 179–184.
<https://doi.org/10.1017/S0960258508042177>
- Baskin, C. C., Meyer, S., y Baskin, J. M. (1995). Two Types of Morphophysiological Dormancy in Seeds of Two Genera (*Osmorhiza* and *Erythronium*) with an Arcto-Tertiary Distribution Pattern. *American Journal of Botany*, 82(3), 293–298.
<https://doi.org/10.2307/2445574>
- Baskin, J., y Baskin, C. (1989). Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. *Ecology of Soil Seed Banks*, 53–66.
- Baskin, J. M., y Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 1–16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Baskin, J., Nan, X., y Baskin, C. (1998). A comparative study of seed dormancy and germination in an annual and a perennial species of *Senna* (Fabaceae). *Seed Science Research*, 8, 501–512.
- Bell, C. D., y Donoghue, M. J. (2005). Dating the Dipsacales: Comparing models, genes, and evolutionary implications. *American Journal of Botany*, 92(2), 284–296.
<https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.284>
- Bentsink, L., y Koornneef, M. (2008). Seed dormancy and germination. *American Society of Plant Biologists*, 19. <https://doi.org/10.1199/tab.0119>
- Bewley, D. (1997). Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*, 9, 1055–1066.
 Recuperado de
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=buh&AN=9208310667&site=ehost-live>
- Blakesley, D., Elliott, S., Kuarak, C., Navakitbumrung, P., Zangcum, S., y Anusarnsunthorn, V. (2002). Propagating framework tree species to restore

seasonally dry tropical forest : Implications of seasonal seed dispersal and dormancy Propagating framework tree species to restore seasonally dry tropical forest : implications of seasonal seed dispersal and. *Forest Ecology and Management*, 31–38.

- Bokkestijn, A. (2017). Gestión y valorización de paisajes de Bosques Andinos para la mitigación y adaptación al Cambio Climático: Aprendizajes y desafíos. In *BOSQUES ANDINOS: Estado Actual y Retos para su Conservación en Antioquia* (p. 556). Recuperado de http://www.bosquesandinos.org/wp-content/uploads/2018/01/Libro_Bosques_Andinos_Interactivo.pdf
- Borges, J., y Urdaneta, J. (2010). Efecto de *Fusarium* Sp. en la germinación, fenología y supervivencia de plántulas de *Leucaena leucocephala* (lam.) de wit. *Agronomía Tropical*, 60(2). Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2010000200004&lng=es&synrm=1&isoytlng=es
- Cárdenas, F. S. (2016). Ecología de polinización de *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br. (Proteaceae) en un matorral montano del sur del Ecuador. *Escuela de Biología, Ecología y Gestión*, (January), 1–40. <https://doi.org/10.1246/cl.2002.392>
- Carvalho, W., y Muchovej, J. (1991). Fungos asociados a sementes de essências florestais. *Revista Árvore*, 15(2), 173–178.
- Chien, C. Te, Chen, S. Y., Tsai, C. C., Baskin, J. M., Baskin, C. C., y Kuo-Huang, L. L. (2011). Deep simple epicotyl morphophysiological dormancy in seeds of two *Viburnum* species, with special reference to shoot growth and development inside the seed. *Annals of Botany*, 108(1), 13–22. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr096>
- Chin, H. ., Krishnapillay, B., y Stanwood, P. . (1989). Seed moisture: recalcitrant vs. orthodox seeds. In *Seed Moisture* (pp. 15–22). Madison.
- Chumi, I., y 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.

- Clement, W. L., Arakaki, M., Sweeney, P. W., Edwards, E. J., y Donoghue, M. J. (2014). A chloroplast tree for *Viburnum* (Adoxaceae) and its implications for phylogenetic classification and character evolution. *American Journal of Botany*, *101*(6), 1029–1049. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400015>
- Correa, A. ., Paternina, P. ., Espitia, M., Campo, A. R. ., y Urango, N. (2012). Identificación de hongos asociados a semillas de *Acacia mangium* Wild. *Tectona grandis* L.f y *Gmelina arborea* Roxb. *Fitopatología Colombiana*, *36*(1), 1–5.
- Courtis, A. (2013). *Germinación de Semillas Cátedra de Fisiología Vegetal*. Recuperado de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/GuiadeestudioGerminacion.pdf>
- Crespo, A., Pintado, K., y Pérez, H. (2017). Influencia de la herbivoría y el deshierbe en la siembra directa de árboles nativos en un valle interandino del sur del Ecuador. In M. Mazón, J. Maita, y N. Aguirre (Eds.), *Restauración del paisaje en Latinoamérica: Experiencias y perspectivas futuras* (p. 231). Loja, Ecuador, Universidad Nacional de Loja, CONDESAN.
- Cunha, D. (2005). Seed news. Retrieved November 29, 2019, from Dormancia en semillas website: <https://seednews.com.br/edicoes/artigo/1208-dormancia-en-semillas-edicao-julho-2005>
- Daws, M. I., Garwood, N. C., y Pritchard, H. W. (2005). Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panamá: Some ecological implications. *Functional Ecology*, *19*(5), 874–885. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.01034.x>
- Daws, M. I., Garwood, N. C., y Pritchard, H. W. (2006). Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: A probabilistic model based on two seed traits and 104 species. *Annals of Botany*, *97*(4), 667–674. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl022>
- De la Cuadra, C. (1993). Germinación, letencia y dormición de las semillas: Dormición de las avenas locas. In *Hojas divulgadoras* (Vol. 3). Recuperado de

https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf

Debeaujon, I., Léo, K., y Koornneef, M. (2000). Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 122(2), 403–413. Recuperado de <http://www.plantphysiol.org/content/plantphysiol/122/2/403.full.pdf>

Encyclopaedia Britannica. (n.d.). Tropical monsoon and trade-wind littoral climate. Retrieved October 17, 2019, from <https://www.britannica.com/science/tropical-monsoon-and-trade-wind-littoral-climate>

Fedec, P., y Knowles, R. H. (1973). Afterripening and germination of seeds of American highbush cranberry (*Viburnum trilobum*). *Canadian Journal of Botany*, 51, 1761–1764.

Fenner, M., y Thompson, K. (2005). The ecology of seeds. In *Annals of Botany* (Vol. 97). <https://doi.org/10.1093/aob/mcj016>

Finch-Savage, W., y Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, (171), 501–523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>

Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T., y Steber, C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*, (59), 387–415. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092740>

Forbis, T. ., Floyd, S. ., y de Queiroz, A. (2002). The evolution of embryo size in angiosperms and other seed plants: implications for the evolution of seed dormancy. *Evolution*, 56(11), 2112–2125. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00137.x>

García, A. (1991). La dispersión de las semillas. *Ciencias*, 3-6. Recuperado de <https://www.revistaciencias.unam.mx/images/stories/Articles/24/CNS02402.pdf>

Gobierno Autonomo Descentralizado Municipal Nabón. (2014). Plan de Ordenamiento Territorial del cantón Nabón. *Programa de Población y Desarrollo Local Sustentable*, 282.

- Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de San Bartolome. (2019). San Bartolome Patrimonio Cultural del Ecuador. Recuperado de <http://gpsanbartolome.gob.ec/azuay/?p=94>
- Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Tarqui. (2015). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento territorial de la parroquia Tarqui*. Recuperado de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/0160026230001_PDOT_TARQUI_2015_29-10-2015_22-19-52.pdf
- Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural “Delegsol.” (2014). *Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento territorial de la parroquia Luis Galarza Orellana “Delegsol.”* Recuperado de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/0160033950001_Diagnostico_PDyOT_Parroquia_Delegsol_15-05-2015_16-24-33.pdf
- González, M., Caycedo, C., Velásquez, M., Flórez, V., y Garzón, M. (2007). Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* L.) var. *Botrytis* DC. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 54–61. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v25n1/v25n1a07.pdf>
- Hermosillo, Y., Aguirre, J., Alonso, R., Ortega, C., Gómez, A., y Magaña, R. (2008). Métodos inductivos para maximizar la germinación de semilla de germoplasma nativo en vivero para sistemas silvopastoriles en Nayarit, México. *Zootecnia Tropical*, 26(3), 355–358. Recuperado de [http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/204/Métodos inductivos para maximizar la germinación de semilla de germoplasma nativo en vivero para sistemas silvopastoriles en Nayarit Mexico..pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/204/Métodos%20inductivos%20para%20maximizar%20la%20germinación%20de%20semilla%20de%20germoplasma%20nativo%20en%20vivero%20para%20sistemas%20silvopastoriles%20en%20Nayarit%20Mexico..pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Hernández-Pineda, L., Roa-Casas, O., y Cortés-Pérez, F. (2014). Crecimiento de *Baccharis macrantha* y *Viburnum triphyllum*, dos especies nativas útiles en restauración ecológica, plantadas en un pastizal andino (Boyacá, Colombia). In *Biota Colombiana* (Vol. 15). Boyacá-Colombia.

- Hidayati, S. N., Baskin, C. C., y Baskin, J. M. (2005). Epicotyl Dormancy in *Viburnum acerifolium* (Caprifoliaceae). *BioOne*, 15. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2005\)153](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2005)153)
- Hillhorst, H. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 5(2), 61–73. <https://doi.org/10.1017/S0960258500002634>
- Holl, K. . (2017). Restoring tropical forests from the bottom up. *Science*, 355(6324), 455–456. <https://doi.org/10.1126/science.aam5432>
- Hong, T. D., y Ellis, R. H. (1997). Ex situ biodiversity conservation by seed storage: multiple-criteria keys to estimate seed storage behaviour. *Seed Science and Technology*., 25(1), 157–161.
- Inga Zumba, D. E. (2017). *Ecología de germinación de Morella sp., enfocada a la propagación y restauración de ecosistemas*. Recuperado de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6656/1/12676.pdf>
- Insuasty Torres, J., Pérez Martínez, L. V., y Vargas, O. (2014). Semillas y Restauración ecológica. In *Semillas de plantas de páramo/Greunal* (pp. 44–61).
- Invernón, V., González, M., López, E., Arnelas, I., y Devesa, J. (2012). Manual de laboratorio de Botánica: El fruto. *Reduca (Biología). Serie Botánica*, 5(2), 1–14. Recuperado de http://www.uco.es/organiza/departamentos/botanica/recursos-innovacion/Manual_Fruto.pdf
- ISTA. (1996). *International Rules for Seed Testing, Rules 1996*. (Internatio; Seed Science and Technology 24, Ed.). Zurich, Switzerland.
- Jacobs, B., Donoghue, M. J., Bouman, F., Huysmans, S., y Smets, E. (2008). Evolution and Phylogenetic Importance of Endocarp and Seed Characters in *Viburnum* (Adoxaceae) . *International Journal of Plant Sciences*, 169(3), 409–431. <https://doi.org/10.1086/526468>
- Jacobs, B., Lens, F., y Smets, E. (2009). Evolution of fruit and seed characters in the Diervilla and Ionicera clades (caprifoliaceae, dipsacales). *Annals of Botany*, 104(2), 253–276. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp131>

- Jayasuriya, K., Baskin, J., Geneve, R., y Baskin, C. (2007). Morphology and anatomy of physical dormancy in *Ipomoea lacunosa*: identification of the water gap in seeds of Convolvulaceae (Solanales). *Annals of Botany*, 100(1), 13–22.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcm070>
- Junta de Andalucía. (n.d.). Polinización Dispersión de frutos y semillas. Retrieved September 22, 2019, from Dossier Informativo website:
https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Educacion_Y_Participacion_Ambiental/Educacion_Ambiental/Educam/tulallevas3.pdf
- Just, M. (2018). *Seed morphology , dormancy and germination of South-West Australian Ericaceae* (Cowan University School of Science). Recuperado de
<http://ro.ecu.edu.au/theses/2051>
- Kermode, A. R. (2005). Role of abscisic acid in seed dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24(4), 319–344. <https://doi.org/10.1007/s00344-005-0110-2>
- Konarska, A., y Domaciuk, M. (2018). Differences in the fruit structure and the location and content of bioactive substances in *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* fruits. *Protoplasma*, 255(1), 25–41. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1130-z>
- Lallana, V. H., Elizalde, J. H., y García, L. F. (2005). Germinación y Latencia de semillas y yemas. In *Fisiología Vegetal*. Recuperado de
http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV_2010/mat_did/Ut_11GLSY.pdf
- Lee, S. (2011). Diseases of acacias in SouthEast Asia. In *Protección fitosanitaria forestal*. (ICA, pp. 69–76). Colombia.
- León, G. (2017). *Ensayos de germinación de semillas de especies arbustivas nativas de la reserva geobotánica Pululahua* (Universidad de las Américas). Recuperado de
<http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/7521/1/UDLA-EC-TIAM-2017-07.pdf>
- Li, B., y Foley, M. (1997). Genetic and molecular control of seed dormancy. *Trends in Plant Science*, 2(10), 384–389. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)90053-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)90053-4)
- Lobo, M., Delgado, Ó., Cartagena, J. R., Fernández, E., y Medina, I. (2007).

- Categorización de la germinación y la latencia en semillas de chirimoya (*Annona cherimola* L.) y guanábana (*Annona muricata* L.), como apoyo a programas de conservación de germoplasma. *Agronomía Colombiana*, 25(2), 231–244.
Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v25n2/v25n2a05.pdf>
- Magnitskiy, Stanislav, V., y Plaza, G. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 96–103. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180316240011>
- Mancipe, C., Calderón, M., y Pérez, L. (2018). Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Caldasia*, 40(2), 366–382.
<https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n2.68251>
- Manrique, N., y Morales, M. (2016). Frutos y Semillas en Remanentes de bosque Altoandino del páramo de Rabanal (Boyacá, Colombia). *Bistua- Revista de La Facultad de Ciencias Basicas*, 14(2), 1441–168.
- Mattana, E., Stuppy, W. ., Fraser, R., Waller, J., y Pritchard, W. (2014). Dependency of seed dormancy types on embryo traits and environmental conditions in *Ribes* species. *Plant. Biology*, 16(4), 740–747. <https://doi.org/10.1111/plb.12115>
- Mcdonald, T., Gann, G. D., Jonson, J., y Dixon, K. W. (2016). *Estándares internacionales para la práctica de la restauración ecológica- incluyendo principios y conceptos clave* (Society for Ecological Restoration (SER), Ed.).
Recuperado de https://cdn.ymaws.com/www.ser.org/resource/resmgr/custompages/publications/ser_publications/SER_Standards_Spanish_rev.pdf
- McNair, J. N., Sunkara, A., y Frobish, D. (2012). How to analyse seed germination data using statistical time-to-event analysis: Non-parametric and semi-parametric methods. *Seed Science Research*, 22(2), 77–95.
<https://doi.org/10.1017/S0960258511000547>
- Megías, M., Molist, P., y Pombal, M. (2018). Organos vegetales: Semilla. In *Texstudio*

- (Ed.), *Atlas de Histología Vegetal y Animal* (software L, p. 9). Recuperado de http://mmegias.webs2.uvigo.es/inicio.html.%0Ahttps://mmegias.webs.uvigo.es/1-vegetal/guiada_v_proteccion-c.php
- Meneses Marroquín, L. M. (2018). *Caracterización de ecosistemas de referencia y propagación de especies nativas de interés para restauración ecológica en la jurisdicción de Corpochivor*. Recuperado de <http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/14012/1/MenesesMarroquínLauraMelissa2018.pdf>
- Minga, D., y Verdugo, A. (2016). *Árboles y arbustos de los ríos de Cuenca Azuay-Ecuador* (Editorial). Cuenca.
- Ministerio del Ambiente (MAE). (2013). *Modelo Bioclimático para la Representación Cartográfica de Ecosistemas del Ecuador Continental*. Subsecretaría de Patrimonio Natural-Proyecto Mapa de Vegetación.
- Mondino, V., y Pastorino, M. (2016, September). *Restauración de bosques nativos La importancia del origen de la semilla*. (1), 115–118.
- Monroy, L., y Lizarazo, L. M. (2010). Identificación De Hongos Fitopatógenos Asociados Al Roble (*Quercus Humboldtii* Bonpl.), en los Municipios de Encino (Santander), Arcabuco, y Tipacoque (Boyacá). *Revista Colombia Forestal*, 13(2), 347–356. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v13n2/v13n2a11.pdf>
- Moreno, C. (2012). *Efecto del ácido giberélico (AG3), nitrato de potasio (KNO3) y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGRPs) sobre el desarrollo temprano de Solanum sessiliflorum (Cocona)* (Universidad Militar Nueva Granada). Recuperado de <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/6768/MorenoCurtidorCatalina2012.pdf;jsessionid=CA1D40EC7DE5219F406A83B55D257391?sequence=1>
- Moreno, M. (2014). *Vegetación Árborea Del Campus (Puj)* (Pontificia Universidad Javeriana). Recuperado de

https://www.javeriana.edu.co/documents/16101/4318124/Catalogo_flores_campus.pdf/8b7e3b1f-fa75-4622-9c7b-c9dff8d91a4a

Nikolaeva, M. . (1969). *Physiology of Deep Dormancy in Seeds (Fiziologiya Glubokogo Pokoya Semyan)*.

Nikolaeva, M. ., Lyanguzova, I. ., y Pozdova, L. M. (1999). Biology of seeds. *Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences*.

Nikolaeva, M. ., Rasumova, M. ., y Gladkova, V. . (1985). *Reference book on dormant seed germination*. (M. F. Danilova, Ed.). Leningrad, ‘Nauka.’

Oh, E., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., Bae, G., Chung, W., y Choi, G. (2006). Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellin in Arabidopsis. *Plant J*, 47(1), 124–139. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02773.x>

Organización para la Educación y Protección Ambiental. (2016). OpEPA. Recuperado de http://www.opepa.org/index.php?option%0A=com_content&task%0A=view&id=45&Itemid=30

Orlando, R., Urango, N., y Espitia, M. (2014). Hongos asociados a la semilla de seis forestales nativos, cultivados en el departamento de Córdoba. *Fitopatología Colombiana*, 38(2), 27–31.

Pérez, L., Rodríguez, N., Vargas, O., y Melgarejo, L. M. (2014). Germinación y dormancia de semillas. In *Semillas de plantas de páramo/Greunal* (pp. 64–113). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/324808113_Germinacion_y_dormancia_de_semillas

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.

Pritchard, W. (2004). Classification of seed storage ‘types’ for ex situ conservation in

relation to temperature and moisture. *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild.*, 139–161.

Pupiales, P. (2016). *Efecto de escarificación química y aplicación de ácido giberélico en la germinación de semillas en tres variedades de mora (Rubus glaucus Benth)* (Universidad Central del Ecuador). Recuperado de

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9268/1/T-UCE-0004-72.pdf>

Quezada, J. (2015). *Uso de giberelinas en la producción forzada de naranja Washington Navel (Citrus sinensis), en la granja experimental La Cuca* (Universidad Técnica de Machala). Recuperado de

http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1111/7/CD331_TESIS.pdf

Ramírez, S. (2008). *Morfología y Anatomía de Semillas*. Recuperado de

<https://es.scribd.com/doc/103490994/Morfologia-y-Anatomia-de-Semillas>

Rao, K., Hanson, J., Dulloo, E., Ghosh, K., Nowell, D., y Larinde, M. (2007). Manual para el Manejo de Semillas en Bancos de Germoplasma. In *Manuales para Bancos de Germoplasma No.8* (Bioversity, Vol. 8, pp. 1–165). Recuperado de

https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Manual_para_el_manejo_de_semillas_en_bancos_de_germoplasma_1261_01.pdf

Roberts, E. H. (1973). Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1, 499–514.

Rodríguez, J., y Nieto, V. M. (1999). *Investigación en Semillas Forestales Nativas* (CONIF, Ed.). Recuperado de

<http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/005027/SEMILLASforestales.pdf>

Rodríguez, M., Hormazábal, N., Araneda, X., Tampe, J., Lobos, V., y Castillo, C. (2016). Efectos del ácido giberélico, bencilaminopurina y fluridona en la germinación in vitro de *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae). *Gayana. Botánica*, 73(1), 77–84. <https://doi.org/10.4067/s0717-66432016000100010>

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

- distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur del Ecuador (Universidad Politécnica de Madrid). <https://doi.org/10.7818/ecos.2016.25-2.12>
- Romero, J. ., y Pérez, C. (2016). Rasgos morfológicos de semillas y su implicación en la conservación ex situ de especies leñosas en los bosques secos Tumbesinos. *Ecosistemas Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente*, 25(2), 59–65. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2016.25-2.07>
- Romo, J. (2016). *Evaluación del carbono en la biomasa de 3 especies forestales nativas (Shiripe- *Myrsine dependens*, Rañas- *Viburnum triphylum*, Yugyug- *Miconia theaezans*) en el bosque Aguarongo*. Recuperado de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/11653>
- Ruano, M., y Benavides, E. (2018). *Evaluación de tasas de germinación, supervivencia y desarrollo de cuatro especies nativas altoandinas en vivero y en un área degradada en la provincia Carchi* (Universidad Técnica del Norte de Ibarra). Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/8596/2/ARTÍCULO.pdf>
- Saldívar, P., Laguna, A., Gutiérrez, F., y Domínguez, M. (2010). Ácido Giberélico en la Germinación de semillas de Jaltomata procumbens (CAV) J.L.Gentry. *Agronomía Mesoamericana*, 21(2), 327–331. Recuperado de http://www.mag.go.cr/rev_meso/v21n02_327.pdf
- Santana, V. ., Bradstock, R. A., Ooi, M. K. J., Denham, A. J., Auld, T. D., y Baeza, J. (2010). Effects of soil temperature regimes after fire on seed dormancy and germination in six Australian Fabaceae species. *Australian Journal of Botany*, 58, 539–545. <https://doi.org/10.1071/BT10144>
- Sawada, Y., Katsumata, T., Kitamura, J., Kawaide, H., Nakajima, M., Asami, T., ... Toyomasu, T. (2008). Germination of photoblastic lettuce seeds is regulated via the control of endogenous physiologically active gibberellin content, rather than of gibberellin responsiveness. *Journal of Experimental Botany*, 59(12), 3389–3393. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern192>

- Schmidt, L. H. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. Danida Forest Seed Centre (Denmark).
- Sierra, R. (1999). Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental. In *EcoCiencia*.
<https://doi.org/10.13140/2.1.4520.9287>
- Sistema Nacional de Información (SNI). (2014). Sistema Nacional de Información.
- Skoglund, J. (2009). The role of seed banks in vegetation dynamics and restoration of dry tropical ecosystems. *Journal of Vegetation Science*, 3(3), 357–360.
<https://doi.org/10.2307/3235760>
- Smith, M., Wang, B., y Msanga, H. (n.d.). Dormancia y Germinación Latencia, Germinación y Adaptación. In *Manual de Semillas de Árboles Tropicales* (Vol. 5, p. 26).
- Society for Ecological Restoration (SER). (2004). Principios de SER International sobre la restauración ecológica. *Stratfor*, 15. Recuperado de
https://cdn.ymaws.com/www.ser.org/resource/resmgr/custompages/publications/SER_Primer/ser-primer-spanish.pdf
- Speroni, F. C., y De Viana, M. L. (2000). Requerimientos de escarificación en semillas de especies autóctonas e invasoras. *Ecologia Austral*, 10(2), 123–131. Recuperado de
https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/ecologiaaustral/ecologiaaustral_v010_n02_p123.pdf
- Stein, W., Slabaugh, P., y Plummer, A. (1974). Harvesting, processing and storage of fruits and seeds and seeds of woody plants in the united states. In *Agricultural Handbook Forest Service*. Washington-USA.
- Taiz, L., y Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal* (Sinauer As). Recuperado de
<https://fisiologiavegetalundec.files.wordpress.com/2018/04/fv-taiz-zeiger-vol-i.pdf>
- Tapia, M. F., Homeier, J., Espinoza, C. I., Leuschner, C., y De la Cruz, M. (2015). Deforestation and Forest Fragmentation in South Ecuador since the 1970s – Losing

- a Hotspot of Biodiversity. *PLOS ONE*, 10(11).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142359>
- Tenorio, G., Rodríguez, D. A., y López, G. (2008). Efecto del tamaño y color de la semilla en la germinación de *Cecropia obtusifolia* Bertol (Cecropiaceae). *Agrociencia*, 42(5), 585–593. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v42n5/v42n5a10.pdf>
- Varela, S. A., y Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Serie Técnica "Sistemas Forestales Integrados,"* 3(1), 10. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202113>
- Vargas-Simón, G. (2017). *Germinación y crecimiento de especies nativas potenciales para reforestación en el estado de Tabasco, México* (Universidad de Valladolid). Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/28665/1/Tesis1361-180222.pdf>
- Vargas, O., Pérez Martínez, L. V., Melgarejo, L. M., Rodríguez Castillo, N. A., y Insuasty Torres, J. (2014). *Semillas de plantas de páramo: ecología y métodos de germinación aplicados a la restauración ecológica* (Vol. 91; O. Vargas y L. V. Pérez Martínez, Eds.). Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Orlando_Vargas2/publication/265847972_Semillas_de_plantas_de_paramo_ecologia_y_metodos_de_germinacion_aplicados_a_la_restauracion_ecologica/links/541e0c910cf241a65a189f2b/Semillas-de-plantas-de-paramo-ecologia-y-metodo
- Vásquez, W., Pupiales, P., Viteri, P., Sotomayor, A., Feican, C., y Campaña, D. (2019). Escarificación química y aplicación de ácido giberélico para la germinación de semillas de cultivares de mora (*Rubus glaucus* Benth). *Interciencia*, 44(3), 161–166. Recuperado de https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2019/06/161_6331_Com_Viera_v44n3.pdf
- Villegas, B. (1984). *Flora de Los Andes Cien especies del Altiplano Cundi-Boyacense* (B. Villegas, Ed.). Recuperado de <https://villegaseditores.com/flora-de-los-andes-cien-especies-del-altiplano-cundiboyacense>

Vleeshouwers, L., y Bouwmeester, H. (2001). A simulation model for seasonal changes in dormancy and germination of weed seeds. *Seed Science Research*, 11(1), 77–92.
<https://doi.org/10.1079/SSR200062>

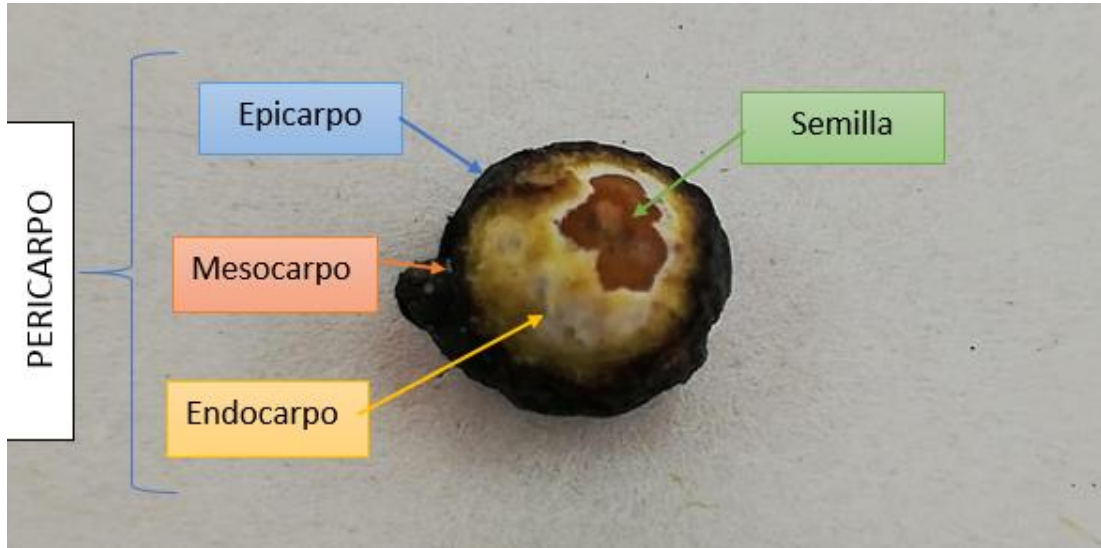
ANEXOS



Anexo 1. Frutos maduros de *Viburnum triphyllum* en la planta madre que presentan una coloración negra-amoratada



Anexo 2. Medición del tamaño en centímetros del fruto de *Viburnum triphyllum* con ayuda de un calibrador.



Anexo 3. Morfología del fruto de *Viburnum triphyllum*



Anexo 4. Fruto y semilla intacta de *Viburnum triphyllum*



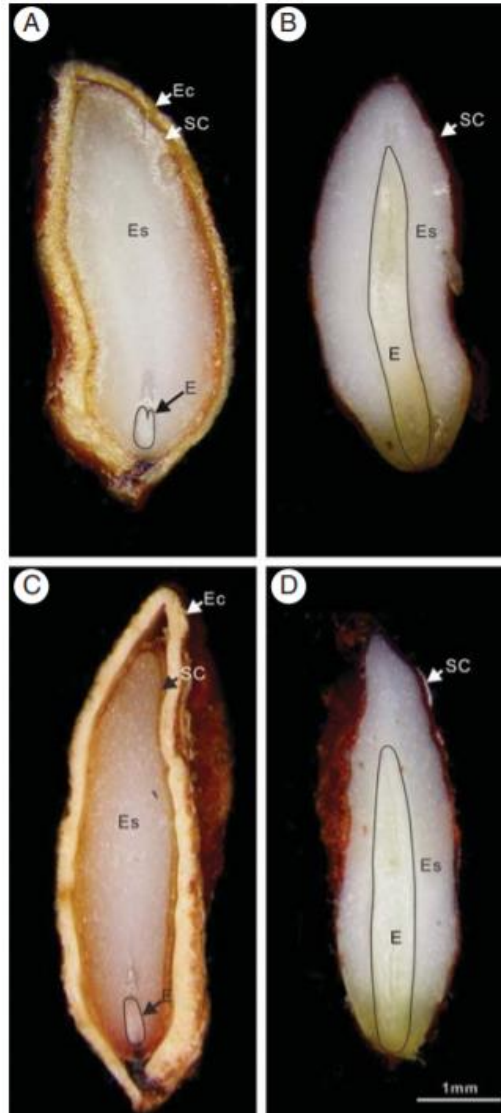
Anexo 5. Frasco de Ácido Giberélico comercial al 90%



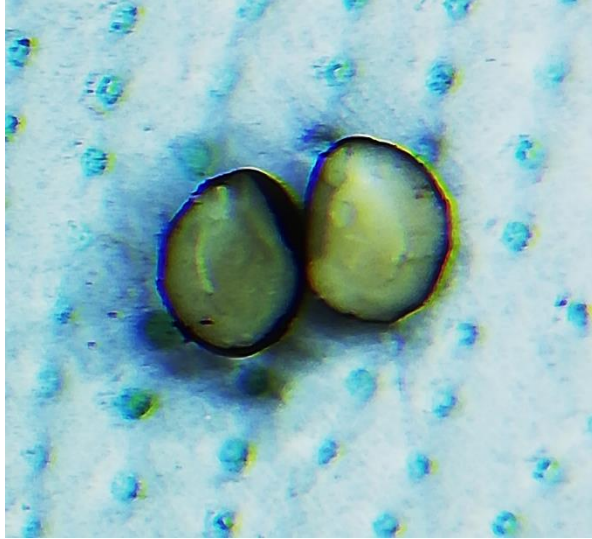
Anexo 6. Presencia de contaminación por hongos en semillas intactas y semillas con tratamiento de AG3 a 500ppm



Anexo 7. Semillas intactas de *Viburnum triphyllum* que presentan distintas tonalidades con respecto a su color.



Anexo 8. Semillas maduras de *Viburnum betulifolium* y *Viburnum parvifolium*, A y C son semillas con endocarpo, se puede apreciar el tamaño del embrión en comparación con semillas sin endocarpo (B y D). **Fuente:** (Chien et al., 2011).



Anexo 9. Crecimiento del embrión después de los 90 días de monitoreo en una semilla sometida a 250ppm de AG3