



UNIVERSIDAD DEL AZUAY
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
ESCUELA DE BIOLOGIA, ECOLOGIA Y GESTION

**Germinación de la Chuquiragua *Chuquiraga jussieui* J. F.
Gmel de los páramos del Antisana y sus implicaciones en la
restauración ecológica.**

**Trabajo de graduación previo al título de:
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN**

**Autor:
CHRISTIAN ANDRES TORO QUEZADA**

**Director:
ANTONIO CRESPO AMPUDIA Ph.D.**

CUENCA, ECUADOR

2022

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi madre y abuela, a mi familia y a todas las personas que confiaron en mí y me brindaron su apoyo.

AGRADECIMIENTO

A mi familia en especial a mi madre y abuelita.

Al Dr. Antonio Crespo Ampudia Ph.D. por permitirme realizar mi trabajo de titulación en su laboratorio, así como por haberme ayudado con sus conocimientos y experiencia para la realización de mi trabajo de titulación. A la Dra. Ximena Palomeque por el apoyo, confianza y por disponer de las instalaciones del “Laboratorio de Agroforestería y Manejo del Paisaje” de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Cuenca para la realización de esta investigación. Así como a Diana Inga y Claudia Patiño por sus consejos y contribuciones.

De igual manera, quisiera agradecer al Ministerios del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador por conceder el permiso de investigación cuyo código es MAE-ARSFC-2020-0432. A la red CEDIA a través del Concurso Ecuatoriano de Proyectos I+D+i (CEPRA) por disponer los recursos financieros al proyecto "Ecología de germinación de especies nativas de páramo enfocado a la propagación y manejo in situ para la restauración ecológica CEPRA XIV-2020-10" ganador de la convocatoria XIV-20 del cual surgió el presente trabajo de titulación.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA -----	II
AGRADECIMIENTO -----	III
INDICE DE CONTENIDOS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS-----	VI
ÍNDICE DE ANEXOS -----	VII
RESUMEN -----	VIII
ABSTRACT -----	IX
CAPÍTULO I: INTRODUCCION -----	10
CAPÍTULO II: MATERIALES Y METODOS -----	14
SITIOS DE RECOLECCIÓN DE SEMILLAS-----	14
ESPECIE EN ESTUDIO -----	15
RECOLECCIÓN DE SEMILLAS -----	16
EXPERIMENTOS DE LABORATORIO: -----	17
IMBIBICIÓN -----	17
CALIDAD DE SEMILLAS -----	18
CONTENIDO DE HUMEDAD-----	18
PESO-----	18
PRUEBAS DE VIABILIDAD -----	18
GERMINACIÓN-----	19
GERMINACIÓN EN OSCURIDAD -----	20
ANÁLISIS DE DATOS-----	20
CAPÍTULO III: RESULTADOS -----	21
CALIDAD DE LAS SEMILLAS -----	21
VIABILIDAD -----	21

PESO -----	21
CONTENIDO DE HUMEDAD -----	21
IMBIBICIÓN -----	22
GERMINACIÓN -----	23
GERMINACIÓN EN OSCURIDAD -----	23
CAPITULO IV: DISCUSIONES	24
RECOMENDACIONES -----	28
REFERENCIAS -----	29
ANEXOS	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Mapa con la ubicación de los 4 puntos de recolección de semillas.....	14
FIGURA 2	Muestra tomada de la y semilla.....	15
FIGURA 3	Ilustración Morfología floral. A) Capitulo c. jussieui. B) Corte transversal de la inflorescencia. C)Flor..	16
FIGURA 4	Tamaño de la semilla. A) Ancho. B) Largo. Foto tomadas Laboratorio de Agroforesteria y Manejo del Paisaje” de la Universidad de Cuenca, utilizando un estereoscopio	16
FIGURA 5	Prueba de tetrazolio: A) Semilla sin teñir (No viable). B) Semilla parcialmente teñida (No viable). C)Semilla completamente teñida (Viable).	19
FIGURA 6	Siembra de semillas en condiciones de Cámara de germinación y Cuarto de crecimiento.	20
FIGURA 7	Semillas de <i>Chuquiraga jussieui</i> viables, no viables , infestadas y vacías.	21
FIGURA 8	Prueba de Imbibición. Evolución temporal de la masa de semillas de <i>Chuquiraga jussieui</i> separadas de la cipsela (Fruto). Las barras denotan la desviación estándar.....	22
FIGURA 9	Germinación de <i>Chuquiraga jussieui</i>	23
FIGURA 10	Método Kaplan Meier. Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de <i>Chuquiraga jussieui</i> sometidas a dos condiciones(Cuarto de crecimiento y Cámara de germinación) durante 60 días.....	23
FIGURA 11	Método Kaplan Meier . Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de <i>C. jussieui</i> , en condiciones de oscuridad (Dentro del cuarto de crecimiento y de la cámara de germinación) durante 60 días.....	24

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1	Procesamiento de semillas y eliminación de residuos.....	33
ANEXO 2	Medición del tamaño de las semillas de <i>c. jussieui</i> , con la ayuda de un calibrador electrónico(datos tomados en cm).....	34
ANEXO 3	Semillas utilizadas en la prueba de tetrazolio.....	35
ANEXO 4	Base de datos pruebas de imbibición.....	35
ANEXO 5	Plántulas de <i>C. jussieui</i> trasplantadas a turba	36

Germinación de la Chuquiraga *Chuquiraga jussieui* J. F. Gmel de los páramos del Antisana y sus implicaciones en la restauración ecológica.

RESUMEN

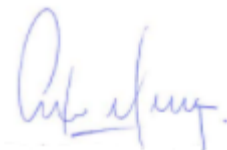
Se analizó la viabilidad y capacidad germinativa de *Chuquiraga jussieui*, un arbusto leñoso nativo de los páramos del Ecuador. Para el análisis de viabilidad se realizaron pruebas de tetrazolio, obteniéndose un porcentaje del 84%. Adicionalmente, se evaluó la imbibición de las semillas. Fueron analizadas variables morfológicas, incluyendo el contenido de humedad, peso, tamaño de la semilla y tamaño del embrión. Las pruebas de germinación dentro de una cámara germinación y de un cuarto de crecimiento (condiciones de luz y temperatura diferentes). Realizando un análisis de supervivencia (método Kaplan Meier) para los datos para determinar la probabilidad de que un evento de germinación ocurra. Los resultados demostraron que la germinación de esta especie está condicionada por la temperatura, obteniendo porcentajes más altos a temperaturas de 9°C-11°C dentro de la cámara de germinación.

Palabras clave: *Chuquiraga jussieui*, germinación, viabilidad, Kaplan Meier.



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Director del Trabajo de Titulación



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Coordinador de Escuela



Christian Andrés Toro Quezada

Autor

Germination of *Chuquiraga Chuquiraga jussieui* J. F. Gmel from the Antisana paramos and its implications for ecological restoration.

ABSTRACT

The viability and germination capacity of *Chuquiraga jussieui*, a woody shrub native to the paramos of Ecuador, was analyzed. For the viability analysis, tetrazolium tests were carried out, obtaining a percentage of 84%. Additionally, the imbibition of the seeds was evaluated. Morphological variables were analyzed, including moisture content, weight, seed size, and embryo size. Germination tests inside a germination chamber and a growth room (different light and temperature conditions). She performed a survival analysis (Kaplan Meier method) to determine the probability of a germination event occurring. The results showed that the germination of this species is conditioned by temperature, obtaining higher percentages at temperatures of 9°C-11°C inside the germination chamber.

Keywords: *Chuquiraga Jussieu*, germination, viability, Kaplan Meier



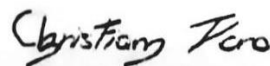
Antonio Manuel Crespo Ampudia

Thesis Director



Antonio Manuel Crespo Ampudia

Faculty Coordinator



Christian Andrés Toro Quezada

Author



CAPITULO 1: INTRODUCCION

El páramo es un ecosistema de alta montaña caracterizado por la presencia de herbazales de distinto tipo generalmente llamados pajonales (Giné y Sánchez, 2015). Son considerados de gran importancia debido a que presentan un alto grado de endemismo, una alta biodiversidad y proveen varios servicios ambientales a poblaciones humanas (Hofstede et al., 2014). En el Ecuador los páramos no son homogéneos, aquellos que se encuentran en la vertiente amazónica se encuentran a partir de los 4000-4500 msnm, son mucho más húmedos que los de la vertiente del Pacífico, presentándose una cobertura vegetal más densa, exhibiendo una gran variedad de hierbas, plantas en roseta basal, arbustos, almohadillas y algunos árboles del género *Polylepis* (Giné y Sánchez, 2015).

Para la sociedad, el aporte más significativo que los páramos brindan es el agua de gran calidad, empleada principalmente en actividades agrícolas, industriales, así como para el uso urbano y la generación eléctrica (Llambí et al., 2012). La capacidad de almacenamiento y regulación está dada al hecho de que sus suelos constituyen verdaderas esponjas de agua, logrando superar el 200% de su propio peso seco (Camacho, 2014). Las cabeceras de la red hídrica andina son nutridas fundamentalmente de aguas provenientes del páramo, abasteciendo a ciudades como Quito con 2 millones de habitantes, así como actividades económicas como la floricultura que dependen directamente de estas aguas (Giné y Sánchez, 2015).

Pese a su gran importancia, estos ecosistemas se encuentran en constante degradación especialmente en Ecuador, Perú y Colombia, debido a su aprovechamiento intensivo y por la práctica de técnicas no sostenibles que dan como resultado un mosaico de estados sucesiones con distintos grados de disturbio (Aguirre et al., 2013; Llambí et al., 2012). Los impactos de las quemadas, utilizadas para la conversión en pasturas para ganadería y agricultura, así como actividades mineras, afectan a los mecanismos de regeneración natural de la vegetación del páramo, al reducirse la densidad de plantas y de dispensadores se ve afectada la dispersión de semillas (Vargas et al., 2014). El páramo al no haber desarrollado adaptaciones especiales para tolerar disturbios antropogénicos, sus plantas no son capaces de resistir fuegos continuos, su vegetación y suelos carecen de la capacidad de soportar pastoreo de animales, provocando daños permanentes a los componentes bióticos y abióticos (Aguirre et al., 2013). Todo esto convierte a los páramos en ecosistemas vulnerables al cambio global al poseer umbrales de resistencia y resiliencia muy bajos (Vargas, 2013). Paralelamente el cambio climático es capaz de modificar la extensión y magnitud de todos los disturbios antrópicos y naturales y de originar nuevos disturbios antes desconocidos, como la

llegada de especies invasoras (Vargas, 2013). Al no existir micrositios, en épocas de lluvias se da el lavado y arrastre de las semillas, dificultando la germinación y establecimiento de las plántulas, sumado a esto la degradación de los suelos alrededor de la planta madre ocasiona la disminución en la viabilidad de las semillas (Vargas et al., 2014).

Al no existir impedimentos o elementos tensionantes, los ecosistemas son capaces de regenerarse por sí solos. Pero cuando han perdido sus mecanismos de regeneración y se encuentran destruidos o muy degradados es indispensable ayudarlos en su recuperación (Vargas et al., 2012). La restauración ecológica está definida por la SER (2004) como el proceso de asistir a la recuperación de ecosistemas destruidos, dañados o degradados. El páramo al ser un ecosistema susceptible a una acelerada tasa de deterioro, es una prioridad implementar estrategias de restauración, mediante un modelo que permita superar los umbrales de degradación (bióticos y abióticos), que le dificulta regresar a un estado menos degradado (Hobbs y Harris , 2001; Aguirre et al., 2013). Es fundamental planificar e aplicar técnicas de restauración ecológica que permitan recuperar la estructura y composición de la comunidad vegetal superando las barreras ecológicas que afectan la dispersión y establecimiento de las plantas (Vargas et al., 2014).

En los trópicos la principal estrategia de restauración es la siembra de flora nativa (Holl, 2017). Para que la restauración sea considerada exitosa resulta primordial promover ecosistemas dominados por especies nativas con cantidades reducidas de especies exóticas, propiedad que los ecosistemas restaurados muestran (SER 2004; Abella et al., 2012). Muchos proyectos de restauración ecológica están basados en el uso de semillas de plantas nativas (Cross et al., 2020). Dentro del ciclo de vida de una planta, estas representan un estado compacto e independiente por lo que su recolección, transporte, estudio y almacenamiento se puede realizar de forma sencilla y económica (Gold et al., 2004). Sin embargo proyectos de restauración fracasan debido a la escasez de conocimientos acerca de la biología de la semilla de especies nativas (Sánchez y Furrázola, 2018). Además, estrategias de revegetación basada en la siembra directa presentan altas tasas de mortalidad característico del establecimiento temprano de la vegetación (Schmitz, 2008; Eichhorn et al., 2010; Bonilla-Moheno y Holl, 2010; Bugalho y Clark, 2013; Pereira et al., 2013; Crespo y Inga, 2020). El cultivar plantas en el vivero, para luego trasplantarlas en el campo, permite tener una mejor germinación y disminuir la competencia, reduciendo la mortalidad durante la etapa más vulnerable (Schmidt, 2008). Al evadir variaciones extremas de temperatura, la herbivoría, competencias con malezas, estrés térmico e hídrico y la falta de humedad en el suelo que afectan la

emergencia y supervivencia (Doust y Lamb, 2006; Douterlungne et al., 2010; Doust, 2011; Pereira et al., 2013; Silva et al., 2015; Meli et al., 2018; Crespo y Inga, 2020).

La información acerca de los mecanismos de regeneración de plantas nativas del Neotrópico es limitada debido a que existen muy pocos estudios sobre estas especies vegetales (Sánchez et al., 2015). En el Ecuador los estudio de vegetación de paramo están principalmente enfocados en conocer la diversidad florística, mientras que las investigaciones acerca la biología y ecología de semillas son escasas (Romero y Cueva, 2020). Es necesario comprender y considerar los rasgos de germinación y la latencia de las semillas para garantizar un manejo que promueva la germinación durante los periodos más favorables para el reclutamiento de plantas (Kildisheva et al., 2020). Al no considerar adecuadamente estos aspectos, el establecimiento de la plantas puede fracasar, y con esto, se desperdician recursos (James et al., 2011; Merritt y Dixon, 2011; Commander et al., 2013; James et al., 2013; Kildisheva et al., 2020)

La familia Asteraceae ha desarrollado estrategias particulares para la dispersión y germinación de sus semillas, poseyendo una gran capacidad reproductiva (Torres y Galetto, 2008; Fuentes et al., 2010). Con el objetivo de lograr una mayor supervivencia, producen un gran número de semillas, sin embargo, son vulnerables a patógenos, pérdida de humedad y a daños mecánicos al no poseer reservas energéticas que les permitan persistir y germinar (Cueva y Lucero, 2018). Probablemente la mayor pérdida de los individuos en alta montaña se da en la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas (Körner, 2003; Vargas et al., 2014). Es posible que debido a que un gran número de semillas no alcanzan a desarrollarse por completo (Chaparro y Becerra, 2012; Romero y Cueva, 2020). La supervivencia de las plántulas están restringido en especies leñosas, con semillas de un tamaño reducido ya que poseen reservas nutricionales limitadas, además son incapaces de tolerar niveles altos de radiación y temperaturas bajas (Cárdenas et al., 2019). Por esto, la germinación de algunas especies suele ser mayor en condiciones de laboratorio que en condiciones de campo (Guariguata y Azocar, 1988; Mancipe et al., 2018).

Si bien la germinación de cada especie depende de un conjunto de condiciones específicas que hacen posible que se desencadene este proceso (Bewley y Black, 1994; Baskin y Baskin, 1998; Wendel y Carreño, 2012), también pueden estar relacionados a grupos funcionales, estacionalidad climática o a su historia filogenética, entre otros (Sanchez y Furrázola, 2018). En Asteraceae es común el dimorfismo de semillas que se presenta cuando una sola planta produce dos tipos o más tipos de semillas con distinta morfología y comportamiento (Harper, 1977; Galíndez et al., 2009). Además de presentar diferencias en el tamaño, es posible que difieran en las

características de latencia, dispersión y requisitos de germinación (McEvoy, 1984; Venable y Levin, 1985; Maxwell et al., 1994; Zhang, 1994; Galíndez et al., 2009). Existen especies que presentan requerimientos complejos con el fin de que se dé la germinación, en respuesta a señales químicas o señales de luz u oscuridad (indicadores de perturbación vegetal) (Kildisheva et al., 2020). Aunque los factores ambientales básicos que determinan el potencial de germinación son la temperatura y disponibilidad de agua (Alvarado y Bradford, 2002; Manfreda et al., 2020). Las semillas germinarán en mayor proporción y a una mayor velocidad cuando se encuentran en su óptimo de temperatura, esta puede alternar entre el día y la noche o puede ser constante. Además poseen umbrales de temperatura máxima y mínima fuera del cual no germinan las semillas (Di Sacco et al., 2018).

Para que una especie sea apropiada para realizar procesos de restauración debe ser capaz de cumplir con algunas características, entre ellas, promover el establecimiento de poblaciones nativas de flora y fauna, así como contar con usos adicionales a la restauración como para la producción de leña, carbón, néctar o alimento (CONABIO, 2010; Leal y Vicent, 2021). *Chuquiraga jussieui* es de uso medicinal, y por sus propiedades ha sido utilizada para tratar varias dolencias, ya sea problemas estomacales, reducir la fiebre, facilitar la cicatrización, además se ha confirmado posee efectos diuréticos y su capacidad de estimular el sistema inmunológico (Palma, 2019). La especie de colibrí *Oreotrochilus chimborazo* se encuentra presente en localidades donde hay Chuquiraga, su fuente principal de néctar, la cual está disponible durante todo el año (Rodríguez y Olmedo, 2019), sin embargo poco a poco se ha ido perdiendo ocasionada por la disminución de esta especie de arbusto característica de los Andes (Molina, 2018). Así como la especie *Oreotrochilus cyanolemus*, recientemente descubierta los Andes del suroeste de Ecuador, de distribución muy restringida y catalogada como críticamente amenazada, tiene como principal fuente de alimentación a *C. jussieui* (Sornoza et al., 2018).

Pese a su importancia ecológica y sus propiedades medicinales, no existen estudios enfocados en su ecología, así como en las características morfológicas y fisiológicas de las semillas de esta especie leñosa de paramo. En este estudio se evaluó el rendimiento germinativo de *Chuquiraga jussieui* en condiciones de laboratorio (cajas Petri). El primer objetivo fue determinar la presencia o ausencia de dormancia en la semilla. El segundo objetivo fue evaluar y describir al cinética de imbibición y germinación en 2 condiciones de temperatura (dentro de la cámara de germinación y dentro del cuarto de crecimiento). Finalmente se discutió los resultados en relación al uso de esta especie en actividades de restauración ecológica.

CAPÍTULO II: MATERIALES Y METODOS

Sitios de recolección de semillas

La recolección de semillas se realizó alrededor de la Reserva Ecológica Antisana, área protegida que presenta páramos y bosques andinos (MAE, 2014). Estos hábitats son de considerable diversidad de especies de flora y fauna. Se encuentra ubicada en la vertiente oriental de la cordillera de los Andes (Chicaiza y Sangucho, 2014), con una temperatura media que varía entre los 4 °C y 8 °C precipitaciones entre los 800 y 2000mm (MAE, 2014).

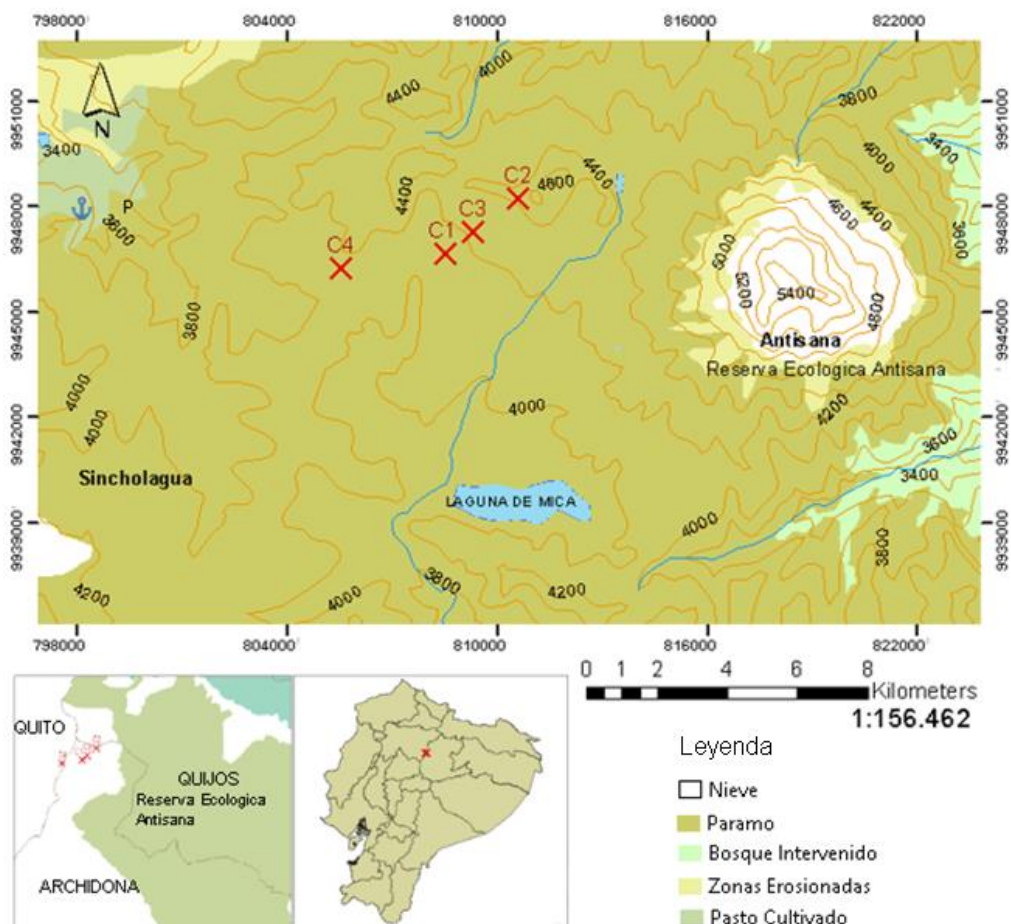


Figura 1 Mapa con la ubicación de los 4 puntos de recolección de semillas. Elaborado por: Christian Andrés Toro.

De los 4 puntos en los que se realizó la colección, 3 se encuentran en el cantón Archidona de la provincia de Napo, mientras que 1 punto se encuentra en el cantón Quito de la provincia de Pichincha, situándose sobre los 4400 msnm. Estos sitios se encuentran caracterizados por la presencia de vegetación herbácea y arbustiva tolerante a cambios drásticos de temperatura y viento gracias a hojas pubescentes y

gruesas. Entre extensos pajonales destacan las almohadillas, así como musgos, orquídeas, remanentes de bosque de papel, chuquiraguas (*Chuquiraga jussieui*), *Gynoxys*, *Monticalia* y pumamaqui (*Oreopanax sp.*) (Rivera et al., 2007).

Especie en estudio

El género *Chuquiraga* se encuentra compuesto de 23 especies endémicas de América del sur, distribuidas desde Colombia hasta Chile y Argentina (Molina, 2018). *Chuquiraga jussieui* (J. F. Gmel), conocida como “chuquiragua”, es una especie de arbusto perennifolio de hasta de 1,5m de alto, perteneciente al orden Asterales y a la familia Asteraceae (Freire, 2016). Se trata de una especie amenazada siendo catalogada como “especie vulnerable” ya que presenta un alto riesgo de extinción en estado silvestre (Aucancela, 2018).

Esta especie se encuentra distribuida en los Andes desde el sur de Colombia hasta Bolivia, mientras que en el Ecuador se encuentra presente entre los 2500-5000 msnm, habitando varios ambientes de paramos y subparamos andinos (Minga, 2016). Posee hojas alternas que pueden medir 1,2cm de largo y son caracterizadas por ser duras y punzantes, se encuentran conformando matas hemisféricas de alrededor 15 a 30 cm de altura, constituyendo un arbusto densamente ramoso (Pazmiño, 2017). Sus flores de color amarillo o anaranjado se encuentran dispuestas en llamativas inflorescencias con cabezuelas de 5cm de largo encerradas entre brácteas punzantes de color anaranjado (Minga, 2016). La polinización de esta especie esta facilitada por varios agentes (mariposas y colibríes), mientras que la dispersión de sus semillas es anemocoria, gracias a la presencia del vilano (Freire, 2016).



Figura 2: Muestra tomada de la y semillas

El fruto de *C. jussieui* es una cipsela que se encuentra formado por un aquenio turbinado, y una estructura apical de cerdas plumosas en forma de corona llamado vilano (Palma, 2019). Para la población muestreada en este estudio, las semillas tuvieron un tamaño promedio de 4,29mm (largo) x 1,71mm de ancho (el promedio viene dado por la medición individual de 100 semillas, son de color amarillo pálido según el libro “Munsell soil color book” (1975). El embrión posee un tamaño de 1,86 mm de largo y 0,27mm de ancho.

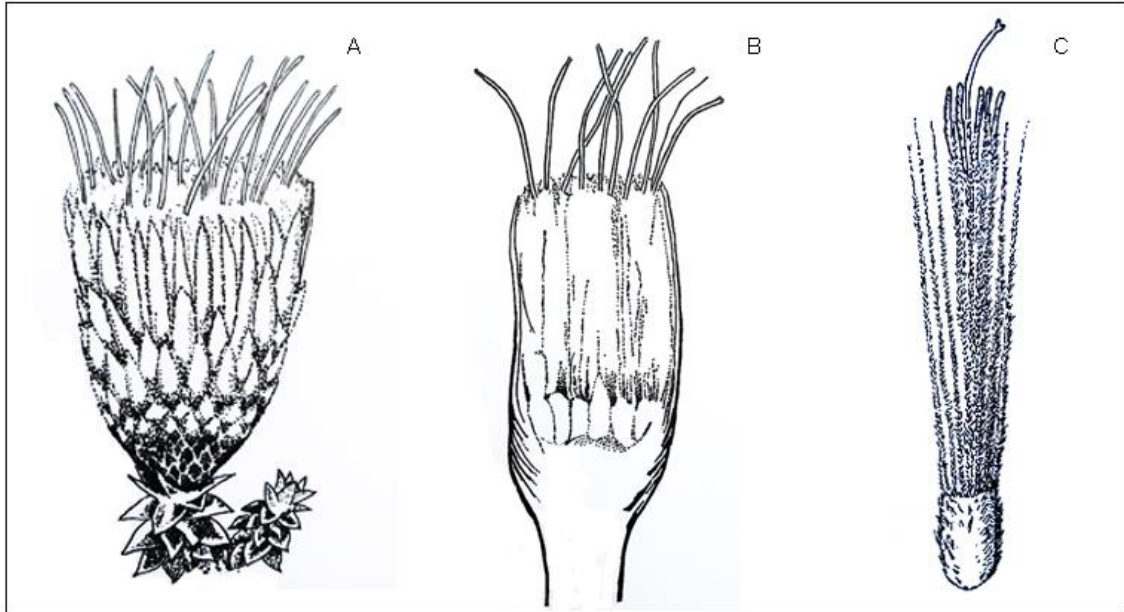


Figura 1 Ilustración Morfología floral. A) Capitulo *C. jussieui*. B) Corte transversal de la inflorescencia. C) Flor. Elaboración propia.

Recolección de semillas

La colección de las semillas se realizó entre los meses de marzo y abril del 2021. En los 4 sitios de colección se tomaron las flores de Chuquiragua de 15 arbustos distintos separados por una distancia mínima de 50 metros para garantizar la variedad genética (Di Sacco et al., 2018); cada individuo fue georreferenciado. Se colectaron flores abiertas con estambres de color café oscuro (como indicador de madurez). Las semillas fueron depositadas en bolsas de papel, lo más aconsejable para especies de la familia Asteraceae con semillas que presentan vilano, ya que puede ser complicado desprenderlas de bolsas de tela (Di Sacco et al., 2018). Posteriormente fueron llevadas a la Universidad de Cuenca para su procesamiento.



Figura 3 Tamaño de la semilla. a) Ancho. b) Largo. Foto tomadas Laboratorio de Agroforesteria y Manejo del Paisaje” de la Universidad de Cuenca, utilizando un estereoscopio.

Experimentos de laboratorio:

Fueron realizados en el Laboratorio de Agroforesteria y Manejo del Paisaje de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Cuenca. Previo a la ejecución de los experimentos se realizó el procesamiento las semillas, primero se removieron las cipselas (frutos) de la flor, y luego se desprendió con cuidado la semilla del fruto. Finalmente se removieron los residuos adheridos a la semilla. Este procedimiento se realizó dentro de un periodo de tiempo de 48 horas posterior a la colecta para evitar los efectos del almacenamiento en la germinación de las semillas (Vásconez y Hofstede, 2006).

Imbibición

Esta prueba sirvió para determinar la capacidad de hidratación de la semilla con un método gravimétrico. Se realizaron 10 réplicas de 25 semillas, las cuales fueron pesadas cada una en una balanza analítica. A continuación, fueron sumergidas en agua destilada dentro de 10 cajas Petri, las cuales fueron etiquetadas. Después de 1 hora del pesaje inicial las semillas de cada replica fueron extraídas, pesadas y devueltas a su caja Petri. Este proceso se repitió cada hora hasta las 8 horas, y luego a las 12, 48 y 72 horas. Antes de cada pesaje, se secó la superficie de las semillas para evitar que el agua adherida modifique los valores de respuesta.

Calidad de semillas

La evaluación de la calidad de las semillas se realiza para predecir su comportamiento en el campo y precisar su valor para la siembra, analizando los parámetros físicos y las propiedades fisiológicas de un lote de semillas (FAO y AfricaSeeds, 2019). En este estudio se realizaron las pruebas de contenido de humedad; peso y viabilidad.

Contenido de humedad

Esta prueba consiste en la disminución del peso de la semilla cuando se seca, se realiza para determinar su capacidad de mantener su viabilidad y preservar la calidad de las semillas en almacenamiento (FAO y AfricaSeeds, 2019). Se aplicó el siguiente protocolo:

- 1) Se procesó las semillas procurando retirar todo residuo del lote de semillas.
- 2) Se realizó 2 réplicas de 100 semillas cada una.
- 3) En una balanza analítica se pesó las cajas Petri ya etiquetadas.
- 4) Se tomó el peso de las cajas Petri con las semillas en su interior.
- 5) Dentro de una estufa de secado, se sometió a las semillas a 103 °C por 17 horas.
- 6) Una vez enfriadas las muestras, se volvieron a pesar.
- 7) Se calculó el contenido de humedad de las semillas (valores expresados en porcentajes) utilizando la siguiente formula:

$$(M2-M3) \times \frac{100}{(M2-M1)}$$

M1=Peso de la caja Petri
 M2=Peso inicial (caja Petri + semillas)
 M3=Peso seco (caja Petri + semillas)

Peso

El peso de las semillas se determinó mediante el pesaje de 4 réplicas de 100 semilla, mediante estos resultados se calculó el peso de 1000 semillas, así como se determinó el número de semillas de *C. jussieui* contenidas en un gramo. Para los cálculos de peso de las semillas se tomaron los primeros 3 decimales de los valores medidos por la balanza analítica.

Pruebas de viabilidad

Para determinar la viabilidad de las semillas y su capacidad de germinar, se aplicó la prueba de tetrazolio. “La viabilidad de las semillas se determina en función del patrón de tinción del embrión y la intensidad de la tinción.” (Ruiz, 2009; Mancipe et al., 2018, p.2). Tejidos metabólicamente activos son teñidos de rojo al producirse una reacción entre la solución de tetrazolio con los iones de hidrogeno provenientes de los procesos de respiración celular (Di Sacco et al., 2018).

Para la realización de esta prueba se emplearon 125 semillas en 5 lotes de 25 semillas cada una. Con el objetivo de facilitar la observación de los tejidos del embrión y del endospermo, se realizó la incisión de las semillas, partiéndolas a la mitad utilizando un

bisturí. Posteriormente se colocaron las semillas en cajas Petri, embebidas en la solución de tetrazolio, fueron puestas dentro de una estufa en donde permanecieron por 24 horas. Para la evaluación, se colocó las semillas en agua destilada para evitar que se deshidraten o se decoloren, la tinción se observó empleando un estéreomicroscopio para clasificar a las semillas en viables, inviables, infestadas y vacías. Se aplicó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de semillas viables:

$$\text{Semillas viables(\%)} = \frac{\text{Número de semillas viables}}{\text{Número de semillas puestas en el test de viabilidad}} \times 100$$



Figura 5 Prueba de Tetrazolio: a) Semilla sin teñir (No viable). b) Semilla parcialmente teñida (No viable). c) Semilla completamente teñida (Viable).

Germinación

Se utilizó un lote de 300 semillas, las cuales fueron empleadas para comparar la respuesta germinativa de *C. jussieui* a dos condiciones diferentes (como se ilustra en la Figura 6)

1) Bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación, dentro de la cámara de germinación. A 9 y 11 °C con 12 horas de oscuridad (Noche) y 12 horas de luz (Día) respectivamente, tratando de simular las condiciones climáticas del páramo.

2) Dentro de un cuarto de crecimiento a “temperatura ambiente”, con iluminación controlada con 12 horas de luz y con 12 horas de oscuridad.

Se establecieron 15 repeticiones para cada tratamiento. La siembra se realizó en cajas Petri, se colocó en cada un papel filtro humedecido con agua destilada y 10 semillas. El monitoreo y control del proceso de germinación consistió en el registro diario no acumulativo durante 60 días desde la siembra. Se contó como semillas germinadas a aquellas en las que se encuentre presente una radícula de al menos 1mm de largo.

Con el objetivo de reducir la contaminación durante las pruebas de germinación se realizó la esterilización de los materiales utilizados. Se colocó cajas Petri de vidrio, pinzas y el papel filtro dentro de una estufa a 80°C por 24 horas. Se desinfecto con cloro el área de trabajo. El protocolo de desinfección se realizó lavando las semillas con agua destilada y 5ml de jabón líquido. Se agito delicadamente hasta cubrir por completo con espuma, después se enjuago con agua destilada retirando el exceso de jabón.







Cámara de germinación		Cuarto de crecimiento	
Temperatura: 9°C 12°C		Temperatura: Variable	
Fotoperiodo 12h Luz 12h Oscuridad		Fotoperiodo 24h Luz	
			

Figura 4 Siembra de semillas en condiciones de cámara de germinación y cuarto de crecimiento.

Germinación en oscuridad

Se evaluó la respuesta germinativa de las semillas de *Chuquiragua jussieui* en condiciones de oscuridad. Después de un tratamiento de desinfección, las semillas fueron colocadas en cajas Petri de vidrio, sobre papel filtro humedecido con agua destilada. Se realizaron 10 réplicas con 25 semillas para cada condición: Cuarto de crecimiento y cámara de germinación. Para evitar el paso de la luz, las cajas Petri fueron introducidas en un recipiente opaco, que permanecía cerrado y solo era abierto para realizar los controles y el riego periódico de las cajas Petri. El control y registro se realizó a diario, se contó como semillas germinadas a aquellas que es evidente la emergencia de la radícula de al menos 1mm de largo.

Análisis de datos

El análisis de los datos obtenidos de los diferentes tratamientos realizados en el laboratorio se realizó utilizando el programa SigmaPlot (v. 12.0, Systa software, Inc.). Para el análisis de la tasa de imbibición (datos continuos), primero se utilizó el test de Shapiro Wilk ($P < 0.05$) para comprobar la normalidad de los datos. Para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en el incremento de peso de las semillas se realizó el análisis de varianza ANOVA.

Los datos de germinación obtenidos de las 2 condiciones a las que se sometió las semillas (cámara de germinación y cuarto de crecimiento), fueron analizados utilizando el Análisis de Supervivencia con el método Kaplan-Meier. McNair (2012) considera que este método estadístico de los más apropiados para el análisis de datos de germinación, sin embargo, no se aplican con frecuencia y están poco documentados en la literatura biológica. Consiste en estimar la probabilidad de que un evento de interés no suceda en un periodo de tiempo definido, en función con el o los factores de diseño (McNair et al., 2012; Crespo y Inga, 2020). En este caso, se estimaron las probabilidades de que las semillas no germinasen hasta el día 60 (duración del experimento).

CAPÍTULO III: RESULTADOS

Calidad de las semillas

Viabilidad

Al observar los patrones de coloración e intensidad del embrión (Prueba de Tetrazolio) de 5 réplicas de 25 semillas, se determinó que el lote de semillas de *C. jussieui* posee un porcentaje alto de viabilidad. La media de los valores obtenidos es del 84%.

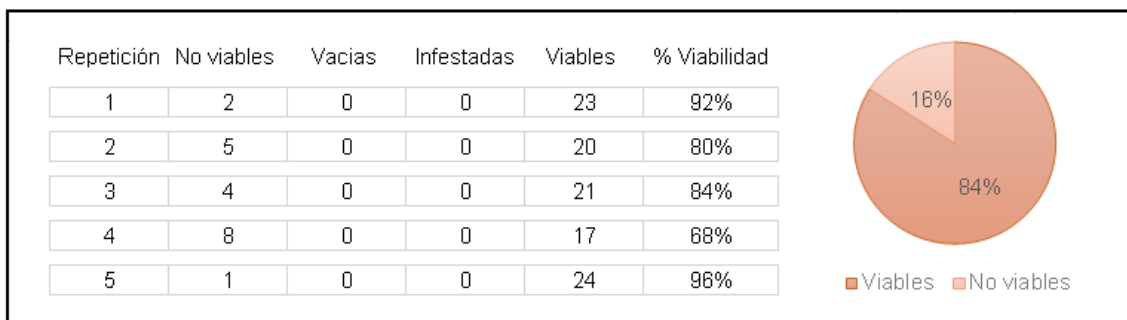


Figura 1 Semillas de *Chuquiraga jussieui* viables, no viables , infestadas y vacías.

Peso

Con respecto al peso de las semillas se determinó que el peso de las 1000 semillas es de 1,62725 gramos, mientras que el número de semillas contenidas en 1 gramo es de 153,63. El peso de las réplicas tomadas varía considerablemente por el hecho del tamaño variable de las semillas.

Contenido de humedad

Los análisis de contenido de humedad realizados con 2 lotes de 400 semillas evidencian el alto contenido de humedad en las semillas de *C. jussieui*, representando un poco más de la mitad del peso fresco de la semilla (56, 87%). Este valor se obtuvo al promediar los porcentajes obtenidos de ambos lotes (53,31% y 60,44%).

Imbibición

En los resultados obtenidos se determinó el aumento de masa de las semillas de *C. jussieui* en imbibición es del 96,01 % hasta la hora 48. Al desprenderse el tegumento de las semillas, se evidencio una pérdida de masa a la hora 72 con un porcentaje del 71,81 % con respecto a la masa inicial.

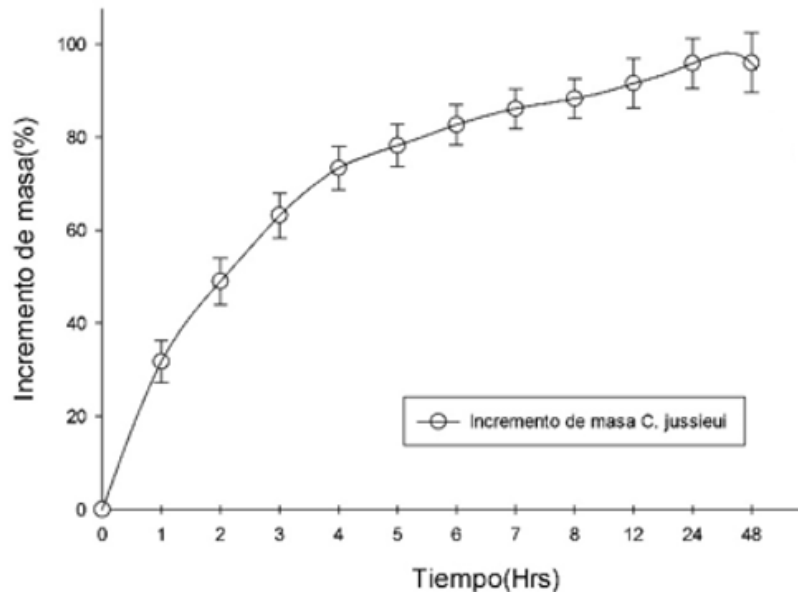


Figura 8 Prueba de imbibición. Evolución temporal de la masa de semillas de *Chuquiraga jussieui* separadas de la cipsela (fruto). Las barras denotan la desviación estándar.

Germinación

Las semillas de *C. jussieui* sometidas a las condiciones de la cámara de germinación comenzaron a germinar después del día 16 y terminaron de germinar al día 58. Al finalizar los 60 días del experimento se registró un 48,66% de semillas germinadas (73 germinadas de un lote de 150 semillas). Se registraron picos de germinación a los días 28, 21 y 22.

En condiciones del cuarto de crecimiento la germinación inició al día 15 y terminó al día 57 del experimento. Del lote de 150 semillas se obtuvo un registro total de 36 semillas germinantes que representa el 24% del total de semillas. Durante los 2 meses del experimento se registraron 2 picos de germinación, el primero al día 22(8 registros) y el segundo al día 28 (5 registros).

Se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas curvas de supervivencia ($p=17,849$; $gl=1$; $P<0,001$), indicando que existe una relación entre el tipo de tratamiento aplicado y los patrones de germinación presentados en la figura 10.



Figura 9 Germinación de *Chuquiraga jussieui*

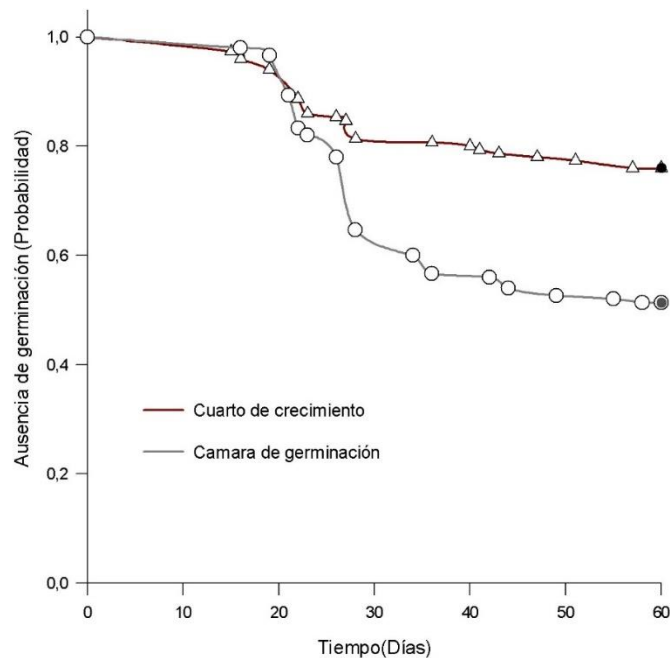


Figura10 Método Kaplan Meier. Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de *Chuquiraga jussieui* sometidas a dos condiciones (Cuarto de crecimiento y cámara de germinación) durante 60 días.

Germinación en oscuridad

El porcentaje de germinación al día 60 dentro del cuarto de crecimiento fue del 36,8%, el primer registro se realizó al día 9, mientras que el último se realizó al día 32. La gran mayoría de los registros de germinantes (97,82%) se efectuaron durante los primeros 30 días, teniéndose picos de germinación al día 9 (13 registros) y al día 16 (9 registros), mientras que en los últimos 30 días solo se tuvo un registro y 28 días no se observaron semillas germinantes.

En la cámara de germinación el primer registro se efectuó al día 16, mientras que el último registro se realizó al día 53 concluyendo la prueba con un porcentaje de germinación del 37,6%. Los picos de germinación se registraron al día 18(12 registros), al día 24 (10 registros) y al día 25 (7 registros). De los 47 registros realizados el 76,59% se llevaron a cabo durante los primeros 30 días.

El porcentaje de germinación de ambos tratamientos es muy similar, las curvas de germinación indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,640$; $P=0,424$).

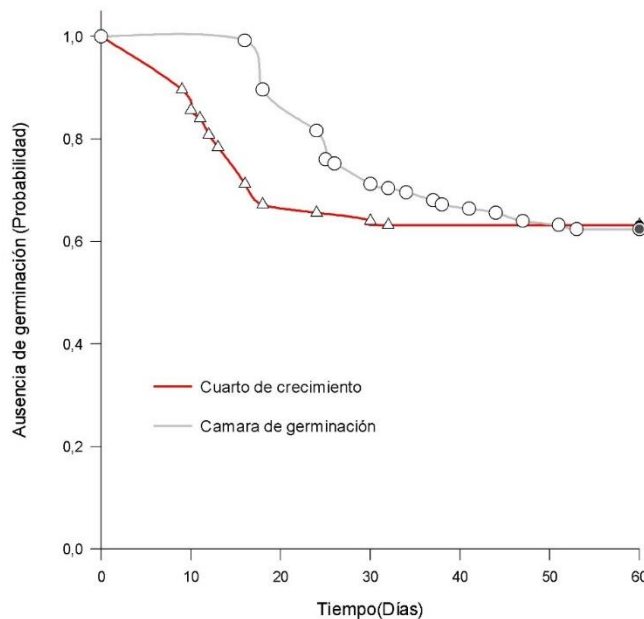


Figura 11 Método Kaplan Meier . Ausencia de germinación (Probabilidad) en semillas de *C. jussieui*, en condiciones de oscuridad (Dentro del cuarto de crecimiento y de la cámara de germinación) durante 60 días.

CAPITULO IV: DISCUSIONES

Según Baskin y Baskin (2004) una especie posee semillas con dormancia fisiológica cuando poseen un embrión desarrollado, son permeables al agua, sin embargo, germinan después de los 28 días. Se evidencio de que no posee dormancia fisiológica, durante las pruebas de germinación se obtuvieron registros después del día 16, mientras que el último registro se tomó en el día 58. Igualmente se determinó que las semillas no poseen dormancia morfológica. Una semilla posee este tipo de dormancia cuando sus embriones se encuentran subdesarrollados, y necesitan tiempo para que complete su desarrollo (alrededor de 30 días). La semilla de Chuquiragua posee embriones

claramente diferenciados, esto se corrobora al realizar la su medición, además su germinación es casi inmediata, teniendo registros antes de 30 días de experimento.

Para identificar tipos de dormancia a nivel de especie, se puede utilizar información correspondiente a niveles taxonómicos superiores. Al no existir información correspondiente a una especie, se recurre al género, al no disponer información del género con mayor frecuencia se recurre a la familia botánica (Baskin y Baskin, 2003; 2014; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Kos et al., 2012; Willis et al., 2014; Sanchez et al., 2019). En otras especies de Asteracea se ha observado ausencia de mecanismos de latencia y altos porcentajes de germinación. Aunque también las semillas de algunas especies posean latencia, rasgo que les permite formar bancos de semillas (Fenner y Thompson, 2005; Jiménez et al., 2021). Se sabe que algunas especies que poseen frutos en cipsela el crecimiento de embrión es restringido por el pericarpio, esta estructura actúa como una restricción mecánica o también como una inhibición química ocasionando un retraso en la germinación de las semillas (Venable y Levin, 1985; Aguado et al., 2011; Souza y Takaki, 2019). Está cubierta impone latencia, incluso en condiciones ambientales adecuadas para la germinación, limitando el suministro de oxígeno, suministra inhibidores al embrión, a su vez impide las salida de inhibidores del embrión (Villiers, 1975; Bewley y Black, 1994; Qaderi et al., 2003). Al procesar las inflorescencias de *Chuquiraga jussieui* se desprendió las estructuras de la cipsela (fruto). Las semillas sometidas a las pruebas de imbibición durante 48 horas incrementaron su masa de una manera constante, mientras que en las pruebas de germinación se obtuvieron registros durante los primeros días de ensayo. Se podría afirmar que la especie no posee dormancia física, ya que se obtuvieron resultados que concuerdan con la afirmación, sin embargo, es posible que estos resultados sean dados porque se eliminó las estructuras del aquenio antes de realizar las pruebas. Es posible que esta especie en condiciones de campo, después de darse la dispersión, las estructuras del fruto (cipsela) actúen como una barrera que impide la germinación de la especie (Dormancia física) hasta que estas estructuras empiezan a descomponerse, se da el ingreso de agua a la semilla y consecuentemente la germinación.

Con respecto a lo observado el tamaño y peso de las semillas es muy variable incluso entre semilla provenientes de un mismo capítulo, esta característica es común dentro de algunas especies (Criollo y Upegui, 2005). Es posible que en las inflorescencias de *Chuquiraga jussieui* se presente el fenómeno llamado heterocarpia. (heteromorfismo). Ocurre en 18 familias de angiospermas, sin embargo, es más frecuente en Asteraceae y Chenopodiaceae (Sun et al., 2009). Estas diferencias podrían estar estrechamente relacionadas con la respuesta germinativa de las semillas. Aquellas que provienen de

aquenos centrales germinan en un rango más amplio de temperatura, así como se obtienen porcentajes más altos de germinación en comparación con las semillas periféricas (McEvoy, 1984; Rocha, 1996; Imbert et al., 1999; Imbert, 2002; Brändel, 2004, 2007; Sun et al., 2009). Las variaciones entre semillas de una misma especie puede deberse a que las plantas poseen una capacidad limitada de producir semillas con la misma masa de manera uniforme, para producir semillas de mayor tamaño la asignación de recursos sería superior (Leal y Vicent, 2021).

En un estudio realizado paralelamente con especies leñosas de paramo, dentro del proyecto CEPRA-CEDIA, se evaluó la respuesta germinativa de *Chuquiraga jussieui*. Empleando la misma metodología, con semillas colectadas en Loma larga, localidad ubicada en los páramos del sur del país entre los 3500 a 3900 m.s.n.m. con temperaturas que varían entre los 2,2 y los 17,1 °C (Morán, 2017). Se obtuvieron porcentajes inferiores al 26% en las pruebas de germinación, en promedio el tamaño de las semillas es de 3,32 x 1,363mm. Al comparar con los resultados de germinación de las semillas colectadas en el Antisana (48,66%) y poseen un tamaño de 4,29 x 1,71mm. Es evidente que las semillas de estas dos localidades presentan diferencias, tanto en el tamaño de las semillas, así como en los porcentajes de germinación. Estas diferencias entre poblaciones pueden ser dadas por la calidad ambiental, el nivel de nutrientes del suelo a los que estuvo expuesta la planta madre ocasionan efectos sobre la calidad de las semillas en especial en su contenido de energía y en la concentración de minerales (Aarssen y Burton, 1990). El porcentaje y tiempo de germinación, así como el vigor de la plántula son características directamente relacionadas con el tamaño de las semillas, semillas de un tamaño reducido generalmente germinan más rápido, en cambio semillas más grandes, aunque tardan más tiempo en germinar, frecuentemente tienen un mayor porcentaje de germinación que las semillas pequeñas (Souza y Fagundes, 2014).

En lo que respecta a viabilidad, las semillas colectadas en el Antisana presentan un porcentaje alto de viabilidad (84%), mientras que al analizar la viabilidad de semillas colectadas en otra localidad (Loma Larga) tan solo se obtuvo el 34,8%. La producción de semillas viables está limitada por diversos factores intrínsecos de la planta, así como factores bióticos extrínsecos. En concreto estos factores están relacionados a la biología floral (compatibilidad, expresión del sexo), patrones de provisión de recursos para la reproducción, así como el lugar de crecimiento (recursos disponibles y luz) y factores externos como la acción de herbívoros y patógenos, depredadores de semillas y la limitación de la polinización (Aarssen y Burton, 1990). Atribuir esta diferencia a un solo factor puede ser un error, sin embargo, podría deberse a un conjunto de varios factores, sumado a esto distintos niveles de disturbio entre de ambas localidades.

En un estudio realizado con 17 especies de plantas nativas de paramo pertenecientes a varias familias entre ellas Asteraceae, la especie *Pentacalia ledifolia* demostró valores de viabilidad superiores al 86,6%, mientras que en las pruebas de germinación obtuvieron un valor del 40% mostrando una diferencia significativa entre ambas pruebas (Mancipe et al., 2018). Estos valores son muy similares a los de Chuquiragua en los que se obtienen en las pruebas de Tetrazolio valores altos, mientras que en las pruebas de germinación se obtuvieron valores inferiores al 50%. En contraste Pazmiño (2021) trabajo con especies de Asteracea provenientes de la Reserva Cayambe Coca, encontró porcentajes de alrededor del 10% para especies del genero *Monticalia*, para la especie *Gynoxis parviflora* un 3% de semillas viables, mientras que los porcentajes más altos los obtuvo con el género *Diplostephium* (29%). Estos porcentajes bajos de viabilidad en estas especies puede estar relacionado al gran número de semillas vacías (43%-79%), mientras que al analizar las semillas de *C. jussieui* no se encontraron semillas vacías ni infestadas se obtuvieron porcentajes altos en las pruebas de Tetrazolio.

Al comparar los resultados de germinación entre el cuarto de crecimiento y la cámara de germinación y es evidente que las semillas de *C. jussieui* reaccionan de manera positiva a condiciones de temperatura y de luz alternantes, obteniéndose un porcentaje de germinación superiores dentro de la cámara de germinación (48,66%), superando por más del doble a los obtenidos en el cuarto de crecimiento (24%). En especies de semillas pequeñas, la respuesta a temperaturas alternas representa una adaptación que permite que la germinación ocurra solo cerca de la superficie del suelo (Pobert, 1992; Mattana, 2009). Sin embargo, los porcentajes de germinación en las pruebas de germinación en oscuridad entre ambas condiciones son muy similares (alrededor del 37%), es probable que al no contar con temperaturas adecuadas para germinar (cuarto de crecimiento), las semillas requieran de completamente de oscuridad para germinar.

La especie estudiada es viable para ser empleada en proyectos de restauración, adecuada por varias características que esta posee. En esta investigación se evidencio que es una especie con altos porcentajes de viabilidad, si bien las semillas de esta especie no requieren de pretratamientos germinativos al no poseer ningún tipo de dormancia, sin embargo, es necesario retirar la semilla de la cipsela, es posible que esta estructura retrase la germinación. Al propagar esta especie en condiciones de laboratorio es recomendable someterlas a condiciones variables de temperatura y de luz para obtener un porcentaje de germinación cercano al 50%, esto es posible realizarlo dentro de una cámara de germinación. La masa inicial de las semillas, así como su contenido energético y reservas de alimentos puede incidir el tamaño de las plántulas (Kolodziejek, 2017), así como una mayor tolerancia a la sombra, daño físico y a la sequía

(Leishman et al., 2000; Galíndez et al., 2009). Por lo que al utilizar esta especie en proyectos de restauración si se tiene como objetivo tener plántulas más grandes y resistentes, sería recomendable seleccionar las semillas de mayor tamaño. Un factor a considerar, es la contaminación, durante los 60 días de monitoreo del experimento se observó con frecuencia semillas contaminadas. Para las semillas esta especie se debe aplicar un protocolo de desinfección que elimine los hongos establecidos en la cubierta de las semillas, así como en los tejidos más profundos (Vanangamudi et al., 2010).

RECOMENDACIONES

- Utilizar las semillas grandes, las semillas muy pequeñas con respecto al lote tienden a no germinar, por lo general se descomponen o si germinan producen plántulas endebles y pequeñas. Al contrario, las semillas grandes producen plántulas vigorosas y resistentes, que pueden ser trasplantadas desde las cajas Petri a sustratos como turba, adaptándose muy bien casi sin presentar mortalidad de las plántulas.
- Es posible que la cipsela actué como un inhibidor de la germinación (restricción mecánica y/o inhibidor químico) en las semillas de *C. jussieui*. Por lo que se recomienda: 1) Retirar por completo esta estructura al propagar por semillas esta especie. 2) Realizar un estudio en relación a este tema que permitan comprender con más claridad estos mecanismos de inhibición en *C. jussieui*.
- Determinar la viabilidad del uso de esta especie mediante siembra directa como técnica de revegetación para su reintroducción en el páramo.
- Si bien este estudio no se enfocó en determinar la influencia del tamaño de las semillas en la germinación de esta especie, se presume que este factor es de gran importancia en la dinámica de germinación de la Chuquiragua. Para futuras investigaciones se podría evaluar a) Las variaciones morfológicas entre aquenios provenientes de un mismo capítulo (heteromorfismo) y sus relaciones con la respuesta germinativa de las semillas. b) La variación de las diferencias fenotípicas de *C. jussieui* de diferentes poblaciones.
- Realizar estudios que evalúen el crecimiento y supervivencia de las plántulas de *C. jussieui* al ser reintroducidas en el páramo.

REFERENCIAS

- Abella, S.R., Craig, D.J., Smith, S.D., y Newton, A.C. (2012), Identifying Native Vegetation for Reducing Exotic Species during the Restoration of Desert Ecosystems. *Restoration Ecology*, 20: 781-787. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2011.00848.x>
- Aarssen, L. W., y Burton, S. M. (1990). Maternal Effects At Four Levels in *Senecio Vulgaris* (Asteraceae) Grown on a Soil Nutrient Gradient. *American Journal of Botany*, 77(9), 1231–1240. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1990.tb13622.x>
- Aguirre, N., Torres, J., y Velasco-Linares, P. (2013). GUIA PARA LA RESTAURACION ECOLOGICA EN LOS PARAMOS DEL ANTISANA. FONAG, 3–37.
- Aucancela, A. (2018). OPORTUNIDADES DE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DEL PÁRAMO “SAN CARLOS” EN LA PARROQUIA VALPARAÍSO, CANTÓN GUANO, PROVINCIA DE CHIMBORAZO. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/10306>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2004). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego, California: Academic Press. Billings, W. D., & Mooney, H. A. (1968). The ecology of arctic and alpine plants. *Biological Reviews*, 43(4), 481–529
- Camacho, M. (2014). Los páramos ecuatorianos: caracterización y consideraciones para su conservación y aprovechamiento sostenible. *Revista Anales*, 1(372), 77–92. <https://doi.org/10.29166/anales.v1i372.1241>
- Cárdenas, C., Araque, J., Bohorquez, M., Hernández, Y., y Pacheco, J. (2019). Propagación in vitro de *Bucquetia glutinosa*, especie endémica de los Paramos colombianos. *Rodriguésia*, 70, 1–11. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201970057>
- Chaparro, M., y Becerra, N. (2012). Anatomía del fruto de *vaccinium floribundum* (ericaceae). *Acta Biológica Colombiana; Vol. 4, Núm. 1 (1999); 47-60 Acta Biológica Colombiana; Vol. 4, Núm. 1 (1999); 47-60 1900-1649 0120-548X, 4.*
- Chicaiza, E., y Sangucho, T. (2014). ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL, PLAN DE MANEJO AMBIENTAL Y EVALUACIÓN ECONÓMICA, DE LA ACTIVIDAD TURÍSTICA EN LA ZONA ALTA “LA MICA” DE LA RESERVA ECOLÓGICA ANTISANA. *Universidad Politécnica Sede Quito*, 1–118. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Crespo, A., & Inga, D. (2020). Superando barreras para la revegetación a gran escala. In T. (FLACSO E. Bustamente & E. Zalles, Jorje (FLACSO (Eds.), *De la parcela al paisaje* (pp. 37–67). Quito, Ecuador: FLACSO Ecuador.
- Criollo, H., y Upegui, P. (2005). 2. Caracterización De Las Semillas 15. *REVISTA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, VOLUMEN XX*, 15–38.
- Cross, A., Pedrini, S., y Dixon, K. (2020). Foreword: International Standards for Native Seeds in Ecological Restoration. *Restoration Ecology*, 28(S3), S225–S227. <https://doi.org/10.1111/rec.13173>
- Cueva, J. S., y Lucero, H. P. (2018). Evaluación de los reguladores de crecimiento (Kinetina y Ácido giberélico) para acelerar la germinación de *Gynoxys verrucosa*. *Bionatura*, 3(4), 4. <https://doi.org/10.21931/rb/2018.03.04.8>
- Di Sacco, A., Way, M., León-Lobos, P., y Suarez-Ballesteros, C. I. (2018). Manual de recolección , procesamiento y almacenamiento de semillas de plantas silvestres. V1.2. *Royal Botanic Gardens Kew*, 1.2(January), 1–66. <http://brahmsonline.kew.org/msbp/Training/Resources>

- FAO, y AfricaSeeds. (2019). Materiales para capacitación en semillas-Modulo 3:Control de calidad y certificación de semillas. In *Organizacion Naciones Unidas para la Alimentacion y la Agricultura y AfricaSeeds*. <http://www.fao.org/3/ca1492es/CA1492ES.pdf>
- Freire, A. (2016). *Botánica Sistemática Ecuatoriana*.
- Fuentes, E., Carreras, M. E., Loyola, M. J., Martinat, J. E., y Jewsbury, G. (2010). Asteraceae en el banco de semillas del suelo de ambientes afectados por incendios en las Sierras Chicas de Córdoba, Argentina. *Arnaldoa*, 17(2), 173–192.
- Galíndez, G., Ortega-Baes, P., Daws, M. I., Sühling, S., Scopel, A. L., y Pritchard, H. W. (2009). Seed mass and germination in Asteraceae species of Argentina. *Seed Science and Technology*, 37(3), 786–790. <https://doi.org/10.15258/sst.2009.37.3.27>
- Giné, D. S., y Sánchez, R. G. (2015). El páramo andino: Características territoriales y estado ambiental. Aportes interdisciplinarios para su conocimiento1. *Estudios Geográficos*, 76(278), 369–393. <https://doi.org/10.3989/estgeogr.201513>
- Gold, K., León-Lobos, P., y Way, M. (2004). Plantas Silvestres Para Conservación a Largo Plazo Y Restauración Ecológica Boletín Inia N°110N°110. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110, 62 P*, 4–66.
- Hobstede, R., Calles, J., Lopez, V., Polanco, R., Torres, F., Ulloa, J., Vasquez, A., y Cerra, M. (2014). *Los Paramos Andinos¿ Qué Sabemos ?*
- Holl, K. (2017). Restoring tropical forests from the bottom up. *Science*, 355(6324), 455-456. <https://science.sciencemag.org/content/355/6324/455>
- Jiménez, A., Flores, A., Morales, A., Perea, I., Gutiérrez, M. D. C., Arellano, J. D. J., y Valencia, S. (2021). Seed longevity, viability and germination of four weed-ruderal asteraceae species of ethnobotanic value. *Botanical Sciences*, 99(2), 279–290. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2743>
- Kildisheva, O. A., Dixon, K. W., Silveira, F. A. O., Chapman, T., Di Sacco, A., Mondoni, A., Turner, S. R., y Cross, A. T. (2020). Dormancy and germination: making every seed count in restoration. *Restoration Ecology*, 28(S3), S256–S265. <https://doi.org/10.1111/rec.13140>
- Kołodziejek, J. (2017). Effect of seed position and soil nutrients on seed mass, germination and seedling growth in *Peucedanum oreoselinum* (Apiaceae). *Scientific reports*, 7(1), 1959. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02035-1>
- Leal, A., y Vicent, A. (2021). EFECTOS DEL TAMAÑO DE LA SEMILLA Y TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS EN LA GERMINACIÓN DE LA ESPECIE *Guarea kunthiana* A. Juss. 6.
- Llambí, L. D., Soto-w, A., Borja, P., Soto-w, A., y Calle, T. (2012). *Páramos Andinos Ecología , hidrología y suelos de páram os*.
- Llambí, L., Soto-w, A., Borja, P., Soto-w, A., y Calle, T. (2012). *Páramos Andinos Ecología , hidrología y suelos de páram os*.
- MAE. (2014). Reserva Ecológica Antisana. *Sistema de Áreas Protegidas Del Ecuador - GUÍA DE PARQUES*, 142–147. http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/sites/default/files/GUIA_PARQUES_28-2014.pdf
- Mancipe, C., Calderón, M., y Pérez, L. (2018). Assessment of seed viability of 17 high

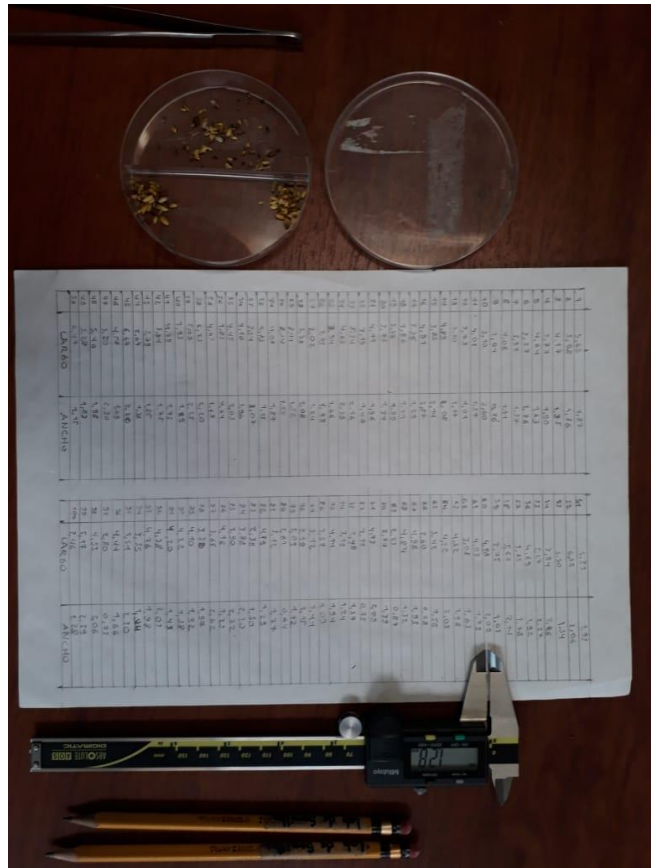
- andean tropical species by germination and tetrazolium tests. *Caldasia*, 40(2), 366–382. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n2.68251>
- Manfreda, V., Alcaraz, M., y Scaramuzzino, R. (2020). Germinación de *Baccharis dracunculifolia* subsp. *tandilensis*: caracterización basada en la temperatura, la luz y la salinidad. *Rodriguesia*, 71, 2.
- Mattana, E., Daws, M. I., y Bacchetta, G. (2009). *Seed dormancy and germination ecology of Lamyropsis microcephala: a mountain endemic species of Sardinia (Italy)*. *Seed Science and Technology*, 37(2), 491–497. doi:10.15258/sst.2009.37.2.24
- McNair, J., Sunkara, A., y Frobish, D. (2012). “How to analyze seed germination data using statistical time-to-event analysis: Non-parametric and semi-parametric methods”. *Seed Science Research* 22 (2): 77-95. doi:10.1017/S0960258511000547
- Minga, D., Ansaloni R., Verdugo A., Ulloa C. (2016). Flora del páramo del Cajas, Ecuador. Universidad del Azuay. Imprenta Don Bosco Centro Gráfico Salesiano.
- Molina, A. (2018). Determinación de la actividad antioxidante de las especies vegetales *Chuquiragua jussieui* y *Bidens andicola* tomando como estándar de referencia al ácido ascórbico. *Universidad Central Del Ecuador*, 1–26.
- Morán, D. (2017). Análisis de Continuidad de Extensión de la Mineralización Alrededor del Sistema de Alta Sulfuración Loma Larga. *Tesis, UCE*, 129.
- Munsell. (1975). Standard soil color charts.
- Palma, M. (2019). CARACTERIZACION DE LA CHUQUIRAGUA (*Chuquiraga jussieui*) CON PERSPECTIVAS AGROINDUSTRIALES. *Udla*.
- Pazmiño, A. (2017). Evaluación de poliaminas naturales de extractos de Chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*) para el control de heladas en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). *UNIVERSIDAD DE LAS FUERAS ARMADAS*, 68.
- Pazmiño, G. (2021). Germinación in vitro de seis especies de la familia Asteraceae obtenidas en el Parque Nacional Caymbe Coca. *UNIVERSIDAD DE LAS FUERAS ARMADAS*. Pg 6.
- Qaderi, M., Cavers, P., y Bernards, M. (2003). Isolation and structural characterization of a water-soluble germination inhibitor from Scotch thistle (*Onopordum acanthium*) cypselas. *Journal of Chemical Ecology*, 29(11), 2425–2438. <https://doi.org/10.1023/A:1026397532000>
- Rivera, J., Coloma, A., y Rivadeneira, C. (2007). Guía del patrimonio de áreas naturales protegidas del Ecuador. Región Amazónica. *Ecolap & Mae*, 209–212.
- Rodríguez, C., y Olmedo, I. (2019). *Oreotrochilus chimborazo* En: Freile, J. F., Poveda, C. 2019. Aves del Ecuador. Version 2019.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://bioweb.bio/faunaweb/avesweb/FichaEspecie/Oreotrochilus%20chimborazo>
- Romero, J. M., y Cueva, D. N. (2020). Tamaño de semillas y germinación de *Pernettya prostrata* (Ericaceae): una especie de páramo andino. *Caldasia*, 42(2), 326–329. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v42n2.77247>
- Sánchez, J. A., Montejó, L., y Pernús, M. (2015). Germinación de nuestras semillas: factor de éxito en la restauración ecológica. *Instituto de Ecología y Sistemática Agencia de Medio Ambiente, CITMA, January 2015*, 131–145.

- Sánchez, J., Pernús, M., Torres, Y., Barrios, Y. (2019). Dormancia y germinación en semillas de árboles y arbustos de Cuba: implicaciones para la restauración ecológica. 1 Instituto de Ecología y Sistemática, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Carretera de Varona 11835 e/ Oriente y Lindero, Boyeros, La Habana 19, C.P. 11900, Cuba.
- Sanchez, J., y Furrázola, E. (2018). *Ecotecnologías Para La Restauración Ecológica :Los tratamientos de las semillas y las micorrizas*. Editorial Academia.
- Schmidt, L. (2008). A review of direct sowing versus planting in tropical afforestation and land rehabilitation. In *Development and Environment 10-2008* (Issue January). <https://www.researchgate.net/publication/44420235>
- SER (2004). Principios sobre SER International sobre la restauración ecológica. Grupo de Trabajo sobre Ciencia y Política. 3 p.
- Sornoza, F., Freile, J. F., Nilsson, J., Krabbe, N., & Bonaccorso, E. (2018). A striking, critically endangered, new species of hillstar (Trochilidae: Oreotrochilus) from the southwestern Andes of Ecuador. *Auk*, 135(4), 1146–1171.
- Souza, M., Fagundes, M. (2014) Seed Size as Key Factor in Germination and Seedling Development of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 5, 2566-2573. doi: [10.4236/ajps.2014.517270](https://doi.org/10.4236/ajps.2014.517270)
- Souza, P., y Takaki, M. (2019). Germination constraints of dicarpic cypselae of *Bidens pilosa* L. *Brazilian Journal of Biology*, 79(3), 383–394. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.178222>
- Sun, H. Z., Lu, J., Tan, D. Y., Baskin, J. M., y Baskin, C. (2009). Dormancy and germination characteristics of the trimorphic achenes of *Garhadiolus papposus* (Asteraceae), an annual ephemeral from the Junggar Desert, China. *South African Journal of Botany*, 75(3), 537–545. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.05.001>
- Vanangamudi, K., Kalaivani, S., Vanangamudi, M., Sasthri, G., Selvakumari, A., & Srimathi, P. (2010). *Seed Quality Enhancement: Principles and Practices*. Inida: Scientific Publishers.
- Vargas, O. (2013). Disturbios en los páramos andinos. *Visión Socioecosistémica de Los Páramos y La Alta Montaña Colombiana, January 2013*, 39–57.
- Vargas, O., Julian, D., Reyes, S., y Gomez, P. (2012). Guías técnicas para la restauración ecológica de los ecosistemas en Colombia. *Universidad Nacional de Colombia*, 68–70.
- Vargas, O., Perez, L., y Rodriguez, A. (2014). *Semillas de plantas de páramo: ecología y métodos de germinación aplicados a la restauración ecológica*. Grupo de Restauración Ecológica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. (Vol. 4, Issue 1).
- Vásconez, P., y Hofstede, R. (2006). Los páramos ecuatorianos. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 91–109. [http://www.beisa.dk/Publications/BEISA Book pdfer/Capitulo 06.pdf](http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2006.pdf)
- Wendel, H., y Carreño, S. (2012). *INFLUENCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONSERVACIÓN EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE PALMA ARECA (Dypsis lutescens, H. Wendel)*.

ANEXOS



Anexo 1 Procesamiento de semillas y eliminación de residuos.



Anexo 2 Medición del tamaño de las semillas de *C. jussieui*, con la ayuda de un calibrador electrónico(Datos tomados en cm).



Anexo 4 Semillas utilizadas en la prueba de Tetrazolio.

No de semillas	Peso inicial	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h12	h24	h48	h72
25	0,2146	0,2416	0,2777	0,3117	0,3317	0,3405	0,3493	0,3597	0,3599	0,343	0,348	0,3334	0,2659
25	0,1806	0,2174	0,2399	0,27	0,2885	0,2999	0,3042	0,3109	0,3163	0,3194	0,3338	0,3344	0,2782
25	0,1934	0,228	0,2569	0,2853	0,3083	0,3174	0,3336	0,343	0,3471	0,3536	0,3548	0,341	0,2995
25	0,175	0,2531	0,2828	0,2973	0,3139	0,327	0,3304	0,3381	0,345	0,3479	0,3599	0,3602	0,2961
25	0,1861	0,2616	0,2925	0,31112	0,3239	0,3368	0,3427	0,3498	0,3581	0,3652	0,3762	0,3724	0,3656
25	0,1641	0,2261	0,2628	0,2921	0,307	0,3167	0,3279	0,3303	0,3355	0,3461	0,3478	0,3546	0,3248
25	0,1531	0,1813	0,2078	0,2272	0,243	0,2545	0,2649	0,2692	0,2749	0,2841	0,2904	0,2938	0,2892
25	0,2103	0,2762	0,3131	0,3469	0,3891	0,3803	0,3901	0,3883	0,3887	0,3988	0,413	0,43	0,3751
25	0,1645	0,2412	0,2713	0,2925	0,3055	0,3134	0,3187	0,3281	0,329	0,3395	0,3481	0,3434	0,3116
25	0,1631	0,2405	0,2722	0,2994	0,3101	0,3184	0,3234	0,3294	0,3302	0,3407	0,3442	0,3526	0,2693

Anexo 3 Base de datos pruebas de Imbibición.



Anexo 5 Plántulas de *C. jussieui* trasplantadas a turba.