



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

DECANATO DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN SILVICULTURA CON MENCIÓN EN MANEJO Y
CONSERVACIÓN DE RECURSOS FORESTALES**

**PROYECTO DE TITULACIÓN CON COMPONENTES DE INVESTIGACIÓN
Y/O DESARROLLO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE: MAGISTER
EN SILVICULTURA**

TÍTULO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO PREGERMINATIVO, EN REMOJO CON AGUA
CALIENTE Y ULTRASONIDO, SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA**
Vismia baccifera (L.) TRIANA & PLANCH

AUTORA:

MARITZA INÉS YUNDA TANGUILA

DIRECTOR:

DR. YUDEL GARCIA QUINTANA

PUYO – ECUADOR

2022-2023

FORMATO DP-UT-013A: DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **MARITZA INÉS YUNDA TANGUILA** con cédula de identidad **1600285892**, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto con componentes de Investigación y/o Desarrollo titulado: **“EFECTO DEL TRATAMIENTO PREGERMINATIVO, EN REMOJO CON AGUA CALIENTE Y ULTRASONIDO, SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA *Vismia baccifera* (L.) TRIANA & PLANCH”**, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Titulación con componentes de Investigación y/o Desarrollo son de exclusiva responsabilidad de la autora; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.

MARITZA INÉS YUNDA TANGUILA
C.I. 1600285892
AUTOR

FORMATO DP-UT-013B: CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE TITULACIÓN

EL TRIBUNAL DE EVALUACIÓN DEL PROYECTO TITULACIÓN CON COMPONENTES DE INVESTIGACIÓN APLICADA Y/O DESARROLLO

CERTIFICA QUE:

El presente trabajo “EFECTO DEL TRATAMIENTO PREGERMINATIVO, EN REMOJO CON AGUA CALIENTE Y ULTRASONIDO, SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA *Vismia baccifera* (L.) TRIANA & PLANCH”, bajo la responsabilidad de la egresada MARITZA INÉS YUNDA TANGUILA, ha sido meticulosamente revisado, autorizando su presentación:

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Dr. Reinaldo Demesio Alemán Pérez, PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Yoel Rodríguez Guerra, PhD
MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL

Dr. Segundo Benedicto Valle Ramírez, PhD
MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL

AVAL DEL DIRECTOR

FORMATO DP-UT-011: AVAL DEL DIRECTOR DE TRABAJO TITULACIÓN

MAESTRÍA EN SILVICULTURA	
MENCIÓN MANEJO Y CONSERVACION DE RECURSOS FORESTALES	
COHORTE: III	FECHA ELABORACIÓN: 16-11-2022
INFORME FINAL Y AVAL	
<p>Quien suscribe, Yudel García Quintana, portador de la cédula de identidad número: 1757016231, en calidad de Director del trabajo de titulación denominado: “EFECTO DEL TRATAMIENTO PREGERMINATIVO, EN REMOJO CON AGUA CALIENTE Y ULTRASONIDO, SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA <i>Vismia baccifera</i> (L.) TRIANA & PLANCH”, opción Proyecto de trabajo de titulación con componentes de investigación aplicada y/o desarrollo, a cargo del/la maestrante MARITZA INÉS YUNDA TANGUILA, portador del número de cédula de identidad: 1600285892, certifico haber acompañado y revisado el documento entregado a mi persona, considero que cumple con los objetivos planteados, los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución.</p> <p>Por lo antes expuesto se avala el trabajo de titulación para que sea presentado para la sustentación correspondiente.</p>	
ELABORADO POR:	
Dr. Yudel García Quintana CI: 1757016231 DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN	

FORMATO DP-UT-013C: CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD EN EL SISTEMA ANTIPLAGIO

CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD EN EL SISTEMA ANTIPLAGIO

Quien suscribe el presente Dr. Yudel García Quintana con CI: 1757016231, certifica que el Proyecto de titulación con componentes de investigación aplicada y/o de desarrollo titulado: **“EFECTO DEL TRATAMIENTO PREGERMINATIVO, EN REMOJO CON AGUA CALIENTE Y ULTRASONIDO, SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA *Vismia baccifera* (L.) TRIANA & PLANCH”** ha sido examinado a través del sistema Antiplagio _____ y presenta un porcentaje de similitud del ____%

En el cantón Pastaza, a los _____ días del mes de _____ del 20_____

Dr. Yudel García Quintana

DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

Agradecimiento

El agradecimiento de este proyecto va dirigido primero a Dios, a todas las personas especiales que estuvieron presentes en la realización de esta meta; mi esposo, mi hija e hijos, mi madre, mis amigos y amigas, que, con sus palabras motivadoras, hicimos posible la realización de esta meta.

Mi gratitud a mi tutor de proyecto, Dr. Yudel Garcia Quintana quien, con sus conocimientos y guía, permitió el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

Muchas gracias a todos.

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado a mi esposo, hija e hijos, quienes nunca dijeron no, para quienes fue el tiempo oportuno de apoyarme, económicamente y con lo más importante su tiempo, por quienes hoy soy protagonista de este sueño alcanzado. Nunca es tarde para seguir estudiando.

RESUMEN EJECUTIVO

En la actualidad cada vez es más importante orientar estudios sobre tratamientos pregerminativos en semillas forestales que contribuyan a acelerar el proceso de germinación. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento pregerminativo con agua caliente y ultrasonido sobre la germinación de la semilla *Vismia baccifera*. Para ello se recolectaron semillas de tres árboles en buen estado fenotípico y se realizaron mediciones de largo, ancho, grosor, peso y número de semillas por kg, así como medidas ortogonales que relacionan la morfometría de las semillas tales como relación largo-ancho, diámetro geométrico y área superficial, además de los tratamientos pregerminativos relacionados con el tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido, empleando el Desing expert para optimización de las condiciones de germinación. Se encontró que las variables morfométricas resultaron con poca variabilidad en cuanto forma y tamaño, con un valor medio de 2,42 mm para el largo, 0,64 mm para el ancho y 0,44 mm para el grosor. El efecto de los factores en la germinación de las semillas de la especie *V. baccifera* reportó la mejor respuesta en los tratamientos pregerminativos indicando que el tiempo ultrasónico no ejerció efectos significativos ($p \geq 0,05$) en la variable respuesta, mientras que la temperatura del agua, tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico mostraron efecto significativo ($p \leq 0,05$). El porcentaje de germinación osciló desde 4 hasta 76%, y las condiciones óptimas para lograr porcentajes de germinación superiores al 75%, indicaron que se puede lograr con temperaturas de 45 °C, tiempos de inmersión entre 20-24 horas y 10 min de tiempo ultrasónico. El testigo presentó solo 4% de semillas germinadas, lo que demuestra el alto efecto que ejercen las ondas ultrasónicas, temperatura del agua en el momento de la sonicación y el remojo en agua posterior a la sonicación sobre la germinación de semillas de *V. baccifera*. Estos resultados aportan información valiosa para el manejo de estas semillas como contribución a la silvicultura especial de este importante recurso forestal.

Palabras clave: morfología de semillas, tratamientos pregerminativos, porcentaje de germinación, modelo de optimización

ABSTRACT

Currently, it is increasingly important to guide studies on pre-germination treatments in forest seeds that contribute to accelerating the germination process. The objective of the work was to evaluate the effect of the pre-germination treatment with hot water and ultrasound on the germination of the *Vismia baccifera* seed. For this, seeds were collected from three trees in good phenotypic condition and measurements of length, width, thickness, weight and number of seeds per kg were made, as well as orthogonal measurements that relate the morphometry of the seeds such as length-width ratio, diameter geometry and surface area, in addition to the pre-germination treatments related to ultrasound time, water immersion time, water temperature and ultrasound power, using the Desing expert to optimize germination conditions. It was found that the morphometric variables had little variability in terms of shape and size, with a mean value of 2,42 mm for length, 0,64 mm for width, and 0,44 mm for thickness. The effect of the factors on the germination of the seeds of the species *V. baccifera* reported the best response in the pre-germination treatments, indicating that the ultrasonic time did not exert significant effects ($p \geq 0,05$) on the response variable, while the temperature of water, immersion time in water and ultrasonic power showed a significant effect ($p \leq 0,05$). The germination percentage ranged from 4 to 76%, and the optimal conditions to achieve germination percentages higher than 75%, indicated that it can be achieved with temperatures of 45 °C, immersion times between 20-24 hours and 10 min ultrasonic time. The control presented only 4% of germinated seeds, which demonstrates the high effect exerted by ultrasonic waves, water temperature at the time of sonication and soaking in water after sonication on the germination of *V. baccifera* seeds. These results provide valuable information for the management of these seeds as a contribution to the special silviculture of this important forest resource.

Keywords: Seed morphology, pre-germination treatments, germination percentage, optimization model

CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 PROBLEMA CIENTÍFICO	2
1.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.3 OBJETIVOS	4
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	4
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Generalidades sobre la especie <i>Vismia baccifera</i>	5
2.2 Situación de la deforestación en Ecuador y respuesta de los gobiernos.....	7
2.3 Situación sobre suministro de semillas forestales en Ecuador	9
2.4 Indicadores de calidad de semillas forestales	10
2.5 Tratamientos pre-germinativos.....	12
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	13
3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN	13
3.3 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	14
3.4 TRATAMIENTO DE DATOS	14
3.4.1 Recolección de semillas y condiciones experimentales	14
3.4.2 Procedimiento empleado para la caracterización morfométricas de las semillas de <i>V. baccifera</i>	15

3.4.3	Procedimiento empleado para análisis de la influencia de los factores tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido sobre la germinación de la semilla <i>Vismia baccifera</i>	17
3.4.4	Procedimiento empleado para determinar las condiciones óptimas para el proceso de germinación de las semillas de <i>V. baccifera</i>	19
3.5	RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES	19
3.5.1	Recursos Humanos	19
3.5.2	Materiales de Laboratorio.....	19
3.5.3	Material de oficina.....	20
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		21
4.1	Características morfométricas de las semillas de <i>V. baccifera</i>	21
4.2	Análisis de la influencia de los factores tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido sobre la germinación de la semilla <i>Vismia baccifera</i>	23
4.3	Determinación del modelo para optimización de las condiciones del proceso de germinación de las semillas de <i>Vismia baccifera</i>	29
4	CONCLUSIONES.....	34
5	RECOMENDACIONES	35
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

Índice de tablas

Tabla 1. Diseño de experimento de los factores temperatura, tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión y poder ultrasónico.....	17
Tabla 2. Parámetros morfométricos de las semillas de la especie <i>V. baccifera</i>	22
Tabla 3. Porcentaje de germinación de las semillas de la especie <i>V. baccifera</i> en función de los factores tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido.	24
Tabla 4. ANOVA que muestra el efecto de los factores temperatura del agua en el ultrasonido, tiempo de ultrasonido (sonicación), tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico en el porcentaje de germinación de semillas de <i>V. baccifera</i>	26

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura de la semilla.	6
Figura 2. Ubicación geográfica del sitio donde se localizan los árboles donde se recolectó semilla de la especie <i>V. baccifera</i>	13
Figura 3. Frutos de la especie <i>Vismia baccifera</i>	15
Figura 4. Distribución morfométrica de las medidas de largo, ancho y grosor de las semillas de la especie <i>V. baccifera</i> (a) Distribución normal, (b) diagrama de cajas.	22
Figura 5. Valores experimentales del porcentaje de germinación versus predichos por Optimal (Custom) desing.	25
Figura 6. Análisis gráfico de los factores temperatura del agua en el ultrasonido, tiempo de ultrasonido (sonicación), tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico en el porcentaje de germinación de semillas de <i>V. baccifera</i>	29
Figura 7. Modelo de optimización del proceso de germinación de las semillas de <i>V. baccifera</i>	31

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales órganos de reproducción de la mayoría de especies de plantas terrestres y acuáticas son las semillas (Niembro, 1988). Estas pueden variar en su tamaño, forma, estructura del embrión y presencia de tejidos de almacenamiento (Hartmann y Kester, 1982). Siendo el tamaño de la semilla un factor importante en la ecología de las especies (Leishman et al., 2000); y puede influir sobre la velocidad de germinación (Bockus y Shroyer, 1996). Se considera que especies con las semillas más grandes pueden producir plántulas más vigorosas en el sotobosque, mientras que especies con semillas pequeñas y rápida germinación, pueden colonizar nuevos espacios (Snow, 1971).

Las semillas son una forma de propagación y contribuyen en la regeneración natural, también albergan una gran riqueza genética, resultante de la mezcla de los materiales genéticos parentales. Esta variación genética, potencia su adaptación ecológica en diferentes hábitats (Schmidt, 2000). Existen muchas especies de plantas que poseen un determinado grado de latencia, por lo que exigen de manera esencial alguna forma de tratamiento previo a la semilla, a fin de acelerar y obtener un porcentaje de germinación óptimo.

Los tratamientos pregerminativos mejoran la germinación, optimizan la calidad y cantidad de plantas (Amirnia & Ghiyasi, 2011). Existen diferentes tipos de tratamientos físicos, químicos y biológicos. Es por ello que, buscar un tratamiento pregerminativo de bajo costo, rápido y altamente eficiente para romper la latencia de las semillas (Venâncio, 2019) mejorará la producción de plántulas y un aumento sustancial en su calidad (Jiménez et al., 2017).

Las ondas ultrasónicas son utilizadas para estimular la germinación de una amplia gama de semillas de manera eficiente (Amirnia & Ghiyasi, 2011). Este procedimiento depende de varios parámetros tales como: frecuencia de exposición, intensidad, potencia, tiempo y especie (Rinaldelli, 2000). El efecto que causa los campos electromagnéticos rompen la latencia de las semillas, por lo que se estima que su efecto repercute primordialmente en la pared celular (Sharififar et al., 2015).

El remojo en agua caliente, consiste en colocar las semillas durante un período de tiempo considerado dentro del agua caliente, a una cierta temperatura, afín de que se suavice la cobertura dura de la semilla (Camacho et al., 2018) y con ello ayude a la ruptura de la latencia (Abanto-Rodriguez et al., 2016).

La especie *Vismia baccifera* (L.) Planch. & Triana, de la familia Hypericaceae es un árbol que se encuentra en los bosques secundarios de la región Amazónica de Ecuador, por regeneración natural, su altura oscila entre 10 a 20 m y su diámetro es de aproximadamente 20 cm (Lozano, 2015). El uso de la especie como medicinal ha sido documentado por varios investigadores que han demostrado su actividad cicatrizante y antibacteriana (Hernández et al., 2019), analgésica (Salas et al., 2007), citotóxica (Rojas et al., 2017). También es conocido su uso como maderable para leña, carbón vegetal, postes, herramientas y construcciones. En la provincia de Pastaza, esta especie se emplea en la cadena de producción de pallet, sin considerar un plan de manejo o aprovechamiento forestal y a pesar de no tener permisos legales del Ministerio de Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) es aprovechada sin ningún criterio como recurso forestal.

En este contexto, es cada vez más importante realizar estudios que permitan garantizar un material vegetal de alta calidad para satisfacer las necesidades cada vez más crecientes de la sociedad. Por lo que el proyecto contempla el uso de tratamientos pregerminativos de bajo costo que promuevan y aceleren la germinación y de esta manera la obtención de plantas de calidad superior como contribución al genofondo de este importante recurso forestal.

1.1 PROBLEMA CIENTÍFICO

Las grandes amenazas para la conservación de la diversidad genética forestal (semillas) proceden principalmente de la deforestación de los recursos forestales, la escasa atención que recibe el tema, el cambio climático y los sistemas inadecuados de cosecha (Herminio et al., 2001). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2011) en América del Sur, Ecuador ha mantenido la tasa de deforestación más alta durante los últimos 20 años (tasas de 1,5% y 1,8%) para los períodos 1990-2000 y 2001-2010, respectivamente. En esta situación que se presenta de alta deforestación se hace cada vez más necesario el fomento de plantaciones a partir de semillas de buena calidad.

En la Amazonía Ecuatoriana, a diferencia de las otras regiones del país el tema de semillas es menos desarrollado, recientemente a partir del año 2005 el Proyecto Bosques ejecutado por Solidaridad Internacional inicia algunas acciones de identificación de árboles semilleros nativos e impulsa la producción de plántulas en vivero. Pese a estos esfuerzos el debate del tema de semillas de calidad es limitado a nivel de la región amazónica e incluso del país (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

La escasa disponibilidad de información sobre el manejo de semillas y viveros forestales de muchas especies tanto arbóreas como arbustivas, ha obstaculizado su incorporación al desarrollo forestal nacional (Rojas & Torres, 2011).

La especie *V. baccifera*, posee un alto potencial para ser incorporada a la reforestación bajo la modalidad de árboles de uso múltiple (AUM), sin embargo, no se conocen estudios previos sobre semillas y su producción en viveros forestales y pudiera encontrarse en cierto riesgo de extinción (Rojas & Torres, 2011).

En la actualidad son escasos los estudios relacionados con la capacidad de germinación de esta especie, se ha revisado varias bibliografías sin tener resultados favorables, pero se ha podido documentar a través de criterios con productores de la zona que la misma es ampliamente utilizada con fines maderables sin criterios silvícolas y si no se garantizan condiciones apropiadas en el medio natural sus semillas no germinan, por lo que son pocas las que pueden germinar y completar su ciclo de vida, siendo necesario la aplicación de tratamientos pregerminativos. Esta investigación resulta una de las pioneras en este sentido y la búsqueda de un tratamiento pre-germinativo efectivo para la especie *V. baccifera* contribuirá a aumentar la producción de plántulas, mejorar la calidad del material vegetal y de esta forma garantizar germoplasma suficiente para promover la reforestación con esta especie. De ahí que surge la necesidad de realizar el estudio con tratamientos pregerminativos de bajo costo, rapidez y eficiencia que permitan aumentar la capacidad de germinación de la especie y promover su uso en los planes de reforestación.

Por este motivo, es interés de la comunidad científica forestal impulsar trabajos orientados al estudio de tratamientos pregerminativos como estrategia que permita garantizar material genético superior como respuesta a los programas de reforestación y restauración de ecosistemas degradados en condiciones amazónicas.

Estos elementos permitieron formular la siguiente pregunta científica: ¿Cómo inciden los tratamientos pre-germinativos relacionados con el tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido sobre la germinación de las semillas de la especie *V. baccifera*?

1.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

La especie *V. baccifera* responde favorablemente al tratamiento pre-germinativo con agua caliente y ultrasonido a diferentes condiciones de tiempo y temperatura, lo que permitirá mejorar la capacidad germinativa de este importante recurso forestal.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del tratamiento pre-germinativo con agua caliente y ultrasonido sobre la germinación de la semilla *V. baccifera* como contribución al manejo de semillas forestales en la región Amazónica ecuatoriana.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar los parámetros morfométricos de la semilla de la especie *V. baccifera*.
- Analizar la influencia de los factores tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua, tiempo de ultrasonido y poder ultrasónico sobre la germinación de la semilla *V. baccifera*.
- Determinar mediante la metodología superficie respuesta las condiciones óptimas para el proceso de germinación de las semillas de *V. baccifera*.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades sobre la especie *Vismia baccifera*.

Vismia baccifera, es conocido comúnmente por achiotillo o sangre de gallina, debido a que posee una savia espesa de color rojizo que se parece al achote comestible, es un árbol que puede medir de entre 2 a 15 m de altura, con un tronco erguido, su corteza es estriada, envejecida, su frutos son ovalados como una baya, de color verde, en su interior contiene las semillas numerosas cilíndricas, sus hojas son de distinto tamaño y pueden alcanzar hasta 20cm de largo, son pecioladas, el haz de color verde claro, el envés pardo-rojizo, blanquecino, con puntos de exudado amarillento. La misma pertenece al reino Plantae, al orden Malpighiales, de la familia Hypericaceae, género *Vismia* de la especie *V. baccifera*. El nombre *Vismia* es en honor al comerciante inglés Gerard de Visme, y *baccifera* tiene su origen en los términos latinos “bacca” “baya” y “fero” llevar o traer en relación a su fruto (Zamora & Hidalgo, 2005).

V. baccifera se puede apreciar con frecuencia en los potreros, lotes baldíos u orillas de caminos y bosques secundarios despejados con presencia de luz y en lugares húmedos o muy húmedos, a una altura desde el nivel del mar hasta los 2000 m.s.n.m. Soporta inundaciones cortas y en situaciones adecuadas puede desarrollar bosques pequeños denominados rodales, con una gran cantidad de individuos de su misma especie. Esta especie es nativa y la podemos encontrar desde el sur de México, hasta el norte de América del sur hacia Ecuador y Perú, su zona de vida es; Bosque Húmedo Montano Bajo (bh-MB); Bosque Húmedo Premontano (bh-PM); Bosque Húmedo Tropical (bh-T); Bosque muy Húmedo Montano Bajo (bmh-MB); Bosque muy Húmedo Premontano (bmh-PM); Bosque muy Húmedo Tropical (bmh-T) (Quijano, 2017).

La semilla, es el ovulo fecundado y maduro de la planta que causa el origen de otra al ser expuesta a condiciones adecuadas (Correa, 2000), es de gran importancia el uso de semillas de buena calidad, afín de que esta pueda ser utilizadas en el manejo agrícola y silvícola, para garantizar las poblaciones de plantas, son mayormente utilizada en la reforestación, la conservación del germoplasma vegetal y permite la recuperación de especies con gran valor. Estas se pueden almacenar vivas por largos periodos de tiempo, garantizando la preservación de especies y variedades de plantas de gran valor (López et al., 2021).

La anatomía de la semilla, establece que esta consta esencialmente de un embrión, que esta abastecida con reservas nutritivas que se almacena en un tejido especializado para ello (albumen o endospermo) o en el embrión y tiene una cubierta que le recubre y le protege (Figura 1) (Pérez, 2022).

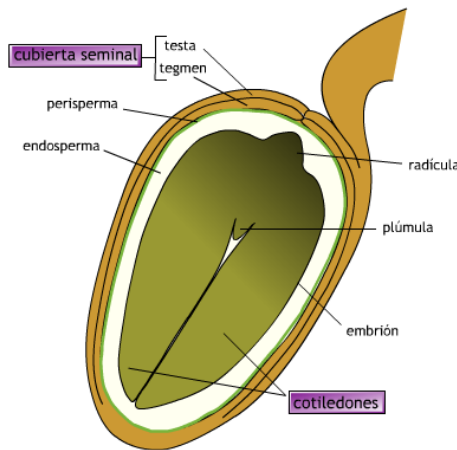


Figura 1. Estructura de la semilla.

La germinación inicia cuando el agua ingresa a la semilla desde su exterior, es decir la imbibición y finaliza en el comienzo de la elongación de la radícula, hasta llegar al estado de planta y esta pueda vivir de manera independiente. El proceso de germinación es influenciado por dos factores; extrínsecos (agua, gases, temperatura y luz) e intrínsecos (embriones fisiológicamente inmaduros, inhibidores, presencia de tegumentos duros; viabilidad de las semillas, tipo de semilla y su fisiología vegetal) (Jiménez et al., 2017).

La evaluación del proceso germinativo, permite analizar la capacidad de germinación de las semillas, debido a que su irregularidad de germinación puede influenciar en las características físicas de la planta como es el tamaño de la misma (Arriaga et al., 1994). Para poder evaluar el proceso de germinación se consideran los siguientes aspectos:

- Capacidad de germinación: es la cantidad de las semillas que germinan bajo condiciones definidas o tratamiento específico. Se expresa en porcentaje (%) o en números absolutos.
- Velocidad de germinación: valora la rapidez o tasa con que ocurre la germinación bajo un tratamiento determinado.
- Homogeneidad de germinación: permite verificar qué tan sincrónica es la germinación entre plantas, en un tiempo determinado.

Estos resultados permiten evaluar la viabilidad y eficacia germinación del lote de semillas, así como la efectividad del tratamiento. Esta evaluación se realiza en condiciones controladas de laboratorio (Arriaga et al., 1994).

El término latencia proviene del latín “latensis” y significa oculto, escondido o inactivo, se refiere a la fase en la cual la semilla no puede germinar o posee una incapacidad de germinación incluso si esta se encuentra en condiciones favorables, o no favorables, debido a varios factores que pueden afectar su germinación entre ellos se encuentran: la luz, el agua, los gases, la temperatura, el revestimiento de la semilla, las limitaciones mecánicas y las estructuras hormonales (Valera & Arana, 2021).

La temperatura es uno de los principales elementos que interviene en la germinación de la semilla, existe diversos rangos de temperatura la máxima y la mínima, dentro de uno de estos rangos se puede lograr un porcentaje elevado de germinación de semillas por lo que se considera como la temperatura óptima para la germinación (Valera & Arana, 2021).

2.2 Situación de la deforestación en Ecuador y respuesta de los gobiernos.

En Ecuador, la tendencia de la deforestación y su tasa, a partir de 1990, posee el siguiente comportamiento. Según Ministerio del Ambiente de Ecuador (MAE, 2014), para el período 1990-2000, la deforestación promedio fue de 89.944 ha/año para una tasa de deforestación de -0,71%, mientras que para el período 2000-2008 fue de 77,647 ha/año para una tasa de -0,66%. Por otro lado, durante el período 2008-2012 la deforestación fue de 65,880 ha/año para una tasa de -0,54%. Los resultados obtenidos demuestran que los valores de deforestación bruta del Ecuador continental del período 2014-2016 son más bajos que en las etapas históricas, manteniendo la tendencia a la baja de la deforestación bruta, con una deforestación bruta anual promedio de 94,353 ha/año y una tasa anual de deforestación bruta de -0,74% (MAE, 2017; MAE, 2018).

La respuesta de los gobiernos, organizaciones no gubernamentales, asociaciones, comunidades y otros actores interesados en ralentizar esta situación, es planificar y ejecutar planes de forestación, reforestación, restauración y enriquecimiento. Para tales fines se necesita de grandes producciones de plántulas de especies forestales en los viveros, lo cual demanda de semillas de calidad (García et al., 2018).

Garantizar la calidad de las semillas a emplear en los programas y planes de forestación y reforestación en Ecuador, es un encargo social de diferentes instituciones públicas y

privadas. La Autoridad Agraria Nacional y el Consejo Consultivo de Agrobiodiversidad y Semillas Asamblea Nacional del Ecuador (2017), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Ministerio del Ambiente (MAE), Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), universidades y empresas forestales, entre otras, conforman el sistema de entidades con finalidades comunes en relación con el logro de la calidad de las semillas forestales y su certificación (García et al., 2018).

Los requerimientos de semillas forestales están esencialmente determinados por los planes de forestación y reforestación, en tanto las prácticas de restauración y enriquecimiento se encuentran a niveles mínimos en el país. El programa de incentivos para la reforestación con fines comerciales, adscrito al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP, 2016), define 19 especies incentivadas. Este programa requiere de semillas con calidad y cantidad para el logro de sus objetivos, pero si bien en cantidad se acerca a su cumplimiento, dista de su satisfacción en calidad. Sirve, además, de base para el proyecto de establecimiento de 120 000 ha que, de acuerdo a la ficha técnica de seguimiento del mismo (MAG, 2017), el acumulado ingresado desde el año 2013 al 2017 es de 67 664,67 hectáreas, que representa un 54% del total a lograr.

El inicio de un programa de mejoramiento genético forestal se basa fundamentalmente en la selección e identificación de árboles de alto rendimiento (Vallejos et al., 2010). Esto involucra a la generación de información del sitio donde se puede recolectar semilla, a razón de poder establecer las fuentes semilleras forestales, pues son la base para implementar programas de mejoramiento genético forestal ya tienen definidas e identificadas las procedencias y fuentes de semillas, sitios seleccionados con altos porcentajes de árboles sanos y buen fenotipo (Valladolid et al., 2017).

A nivel de Gobiernos Autónomos Descentralizados (GAD) se desarrollan algunas iniciativas que buscan enfrentar la problemática de obtener semillas de calidad, es el caso de la Provincia de Orellana ubicada en la Amazonía donde se aprovechan 140 especies forestales, siendo las de mayor demanda *Cordia alliodora* Ruiz & Pav. (laurel), *Cedrelinga cateniformis* Duke (chuncho), *Ceiba pentandra* L. (ceibo), *Otoba* spp. (sangre de gallina), *Sterculia* spp. (sapote) y *Virola* spp. (coco). De algunas de esas especies se desconoce la biología reproductiva, la fenología, los mecanismos de producción de plantas en vivero, lo que dificulta desarrollar acciones de fomento forestal, planificación y manejo (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

2.3 Situación sobre suministro de semillas forestales en Ecuador

Según Nyoka et al., (2015) los sistemas de suministro de germoplasma no satisfacen de manera eficiente las demandas de los agricultores y las expectativas ambientales en términos de productividad, especies y diversidad genética, en los países de África, Asia y América Latina. Afirman también que, en algunos países, el germoplasma utilizado proviene principalmente de fuentes no documentadas y, a menudo, no se ha probado. Todo lo cual hace que la apreciación del valor del germoplasma de árboles de alta calidad genética, sea baja.

Similares criterios exponen Atkinson (2018) al analizar la situación del sistema de suministro de semillas para fines específicos de implementación de restauración en México, Guatemala, Costa Rica, Colombia, Perú, Chile y Argentina. Afirman que dichos países tienen al menos algunos aspectos del sistema de semillas para fines específicos, pero existen dos vacíos fundamentales comunes a todos: está disponible una baja diversidad de especies nativas y se usa en proyectos de restauración y hay poca consideración del origen genético y diversidad de semillas utilizadas.

Una experiencia con éxito en el ámbito de la producción y certificación de semillas forestales en América Latina, lo constituye el Banco de Semillas Forestales (BSF) del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en Costa Rica. Muestran una experiencia de unos 50 años de diferentes iniciativas encaminadas a la restauración y al mejoramiento genético forestal. Según Mesén (2017), el "BSF es una unidad autosuficiente comercializadora de semillas de alta calidad, que distribuye anualmente cerca de 10 toneladas de semillas a unos 20 países". En Ecuador, la empresa privada Profafor S. A. es distribuidor exclusivo en el país del CATIE.

En Ecuador, el accionar en la temática de semillas forestales tuvo sus inicios en el 2004 con la aprobación de la Normativa de Semillas Forestales, en la cual se define los indicadores; para la selección y registro de fuentes semilleras, como también la producción y comercialización de semillas forestales (Cañadas et al., 2013). De manera aislada, y bajo actividades de tipo académico, se han realizado ensayos para obtener parámetros de calidad física y fisiológica de semillas forestales de especies de interés, mayormente exóticas como pino y eucalipto; esto no ha permitido que viveristas, técnicos y además actores dedicados a la recolección de semillas forestales cuenten con una metodología práctica para la identificación de fuentes semilleras y el manejo posterior de semillas (Samaniego et al., 2005).

Según Samaniego et al., (2005) manifiestan que el accionar del Programa Andino de Fomento de Semillas Forestales (FOSEFOR), a través de proyectos ejecutados por varias instituciones a nivel de Bolivia, Ecuador y Perú hicieron esfuerzos para unificar criterios, generar metodologías, elaborar normas de semillas, tecnificar la producción, procesamiento, almacenamiento, estudios de mercado, promoción y difusión del material genético que ofertan los actores pero aún no se alcanzan los niveles deseables. En la región austral del Ecuador, la Fundación Ecológica Arcoiris (FAI) en Loja y la Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar (AAIC) en Cañar, desde el año 200, ejecutan los proyectos Centro de manejo y propagación de especies forestales andinas del Cañar (CEMAPREF) y Producción y comercialización de semillas forestales de especies nativas en el cantón Loja, respectivamente.

Según Fundación Española de Solidaridad Internacional (2011), en la Amazonía, a diferencia de las otras regiones del país el tema de semillas forestales es menos desarrollado, recientemente a partir del año 2005 el Proyecto Bosques ejecutado por Solidaridad Internacional, inicia algunas acciones de identificación de árboles semilleros nativos e impulsa la producción de plántulas en vivero. A partir del año 2010 el tema de semillas forestales se profundiza en Orellana por parte de los proyectos ejecutados por el Apoyo de AECID y la Xunta de Galicia (SIGEFO– Fomento al uso de semillas) con la identificación y selección de 34 fuentes semilleras de 20 especies forestales nativas más demandadas por los actores. Se crea una cadena de producción y comercialización de semillas con la participación de varios actores: propietarios de las fuentes semilleras y bosques, asociación de productores forestales – APROFORES, el laboratorio LABSU del Vicariato de Orellana, el MAE como organismo de regulación y control; todo esto con la asesoría y apoyo técnico de Solidaridad Internacional.

2.4 Indicadores de calidad de semillas forestales

Según Fundación Española Solidaridad Internacional (2011), la calidad de las semillas es el conjunto de cualidades deseables que posee la misma y a su vez permite una excelente producción de plántulas y el establecimiento de las plantaciones con plantas, sanas, vigorosas y representativas de la variedad en referencia. Una semilla de calidad es un organismo vivo que:

- Favorece un rápido y uniforme establecimiento en el campo (Vigor).
- Permite una población adecuada de plantas (Germinación).
- Está libre de organismos patógenos (Sanidad).

- No tiene contaminantes varietales (Pureza varietal).
- Está exenta de semillas de malezas (Pureza física).
- Permite la expresión del potencial genético propio de la variedad.

Según Arango (2001), los componentes de la calidad de las semillas son genéticos, fisiológicos, físicos y sanitarios. Estas son cualidades que se deben reunir en conjunto y no en forma aislada; es esencial para conseguir un buen establecimiento de plantas y es el primer paso para lograr un cultivo óptimo.

La calidad fisiológica implica la integridad de las estructuras y procesos fisiológicos que permiten a la semilla mantener altos niveles de viabilidad. Los principales indicadores de la calidad fisiológica son la germinación y el vigor, que dependen del genotipo y de los cuidados realizados durante la producción de la semilla y su manejo postcosecha (Perry, 1972; Moreno et al., 1988). La calidad física se la asocia con el color, brillo, daños mecánicos (fracturas, cuarteos), la presencia o ausencia de cualquier contaminante distinto de la semilla deseable. Estos contaminantes pueden ser: materiales inertes, semillas de malezas comunes y nocivas, formas reproductivas de plagas y enfermedades. Una semilla de calidad física es la que presenta un alto porcentaje de semilla pura, y el mínimo contenido de semilla de malezas, de otros cultivos y materia inerte. Otros atributos físicos en las semillas son el contenido de humedad, tamaño, uniformidad y densidad (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

El peso de la semilla constituye un indicador físico que expresa la calidad de las semillas forestales. El mismo se determina normalmente como el peso de 100 semillas puras por gramo o kilogramo si se trata de semillas de tamaño grande o el peso de 1000 semillas puras si se trata de semillas de tamaño pequeño (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

La germinación es el proceso mediante el cual una semilla se desarrolla hasta transformarse en una nueva planta, dicho proceso se produce cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe. Los elementos básicos que toda nueva planta requiere para lograr su desarrollo son; luz, agua, oxígeno y sales minerales. La germinación es un proceso fisiológico que finaliza con la emergencia y desarrollo del embrión, manifestando la capacidad de dar origen a una nueva plántula, bajo condiciones ambientales favorables. Para que una semilla germine debe ocurrir un proceso de absorción de agua que es conocido como imbibición (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

El vigor es la capacidad de que una semilla germine y se desarrolle en condiciones adversas en el campo. En cualquier lote de semillas, la pérdida de vigor está relacionada con la disminución en la capacidad de las mismas para llevar a cabo todas las funciones fisiológicas que les permiten germinar y progresar (Fundación Española Solidaridad Internacional, 2011).

2.5 Tratamientos pre-germinativos

Los tratamientos pre-germinativos, permite el desarrollo de los procesos fisiológicos de la semilla y con ello su germinación, estos pueden ocurrir por medios físicos, químicos y biológicos, sin embargo, a continuación, se detalla los tratamientos acordes a la investigación:

- Tratamiento de agua caliente: para este tratamiento se sumerge las semillas en agua con una temperatura variable de hasta 80 °C y dejarlas hasta que estas se enfríen y después hay que dejarlas en remojo a temperatura ambiente un tiempo determinado, y el agua debe se cambia diariamente (Ríos-Geovo et al., 2020).
- Tratamiento ultrasónico: es un tratamiento que se aplica para evitar la dormancia de las semillas, y acelera el proceso de germinación, optimizando el traspaso y absorción de la solución aplicada en la semilla. El procedimiento consiste en que las ondas que generan el equipo crean microburbujas con alto contenido energético, las cuales estallan y aumentan la temperatura del medio, produciendo cambios físicos, químicos o bioquímicos en la semilla (Robles & Ochoa, 2012).

Se considera que la influencia imbibicional del ultrasonido causa la germinación de las semillas, debido que absorben una gran cantidad de agua al estar expuestas a radiaciones ultrasónicas, en cuanto el agua tiene contacto con las células básicas, su metabolismo se acelera, a diferencia de las semillas que no están sujetas a este tratamiento (Gordon, 1963).

El tratamiento ultrasónico tiene instalado un control de temperatura en el sistema, debido a que las ondas ultrasónicas calientan el agua y varían las condiciones térmicas de la prueba; y debido a que se puede controlar la temperatura es decir la termorregulación y con ello se puede ir verificando los efectos del ultrasonido a diferentes temperaturas (Rinaldelli, 2000).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Esta investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Química del campus central de la Universidad Estatal Amazónica, parroquia Puyo, cantón y provincia de Pastaza, ciudad de Puyo, Vía Napo Km 2 ½, Paso Lateral S/N, ubicado a una Longitud de 77° 00' 00'' Oeste y 01° 24' 40'' de Latitud Sur. Para el desarrollo de la investigación se recolectaron semillas de árboles de la especie *V. baccifera*, ubicados en la parroquia Fátima y Teniente Hugo Ortiz, cantón y provincia de Pastaza (Figura 2).

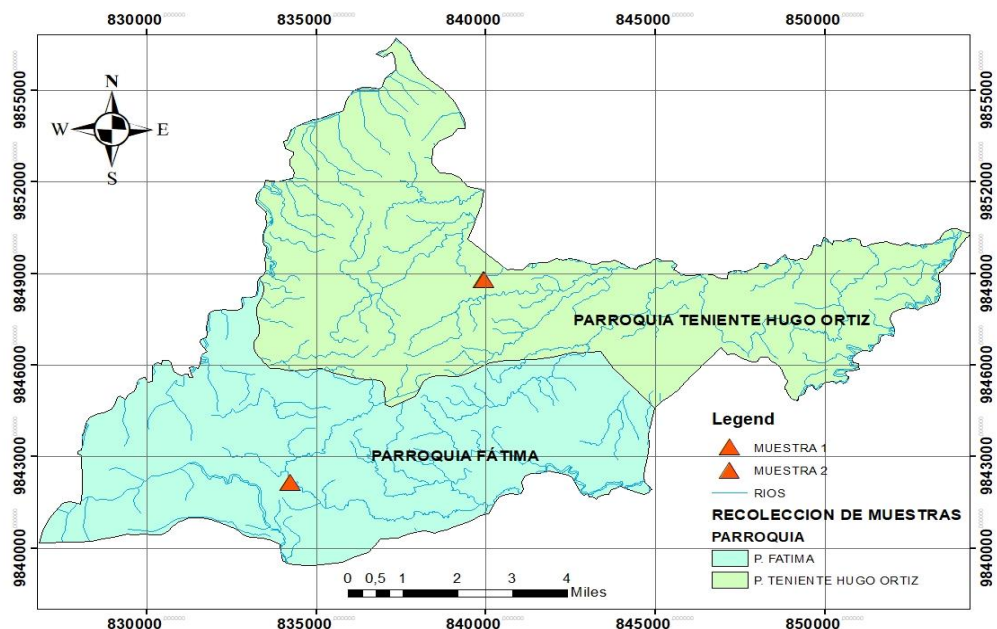


Figura 2. Ubicación geográfica del sitio donde se localizan los árboles donde se recolectó semilla de la especie *V. baccifera*.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

En el presente estudio se realizó una investigación de tipo descriptivo y experimental.

El carácter descriptivo del proyecto está dado a que se observó y describió el comportamiento de un sujeto sin influir sobre él de ninguna manera (Hernández-Sampieri et al., 2018). En este sentido, los resultados obtenidos fueron analizados minuciosamente a fin de extraer generalizaciones que contribuyan al conocimiento sobre biología reproductiva de la especie. Además se describió las variables morfométricas de las semillas (largo, ancho y grosor).

Además, esta investigación fue de tipo experimental debido que se realizó un diseño experimental que incluye variables de control, manipulación y observación (Hernández-Sampieri et al., 2018). En la investigación experimental se tomaron datos de tiempo y temperatura de inmersión en agua caliente y baño ultrasónico de las semillas de la especie en estudio. Se determinó como variable independiente las condiciones de ultrasonido y agua caliente y como variable dependiente la germinación de las semillas. El diseño del experimento bajo las condiciones de tiempo y temperatura en agua caliente y ultrasonido permitió analizar la influencia de los factores (tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasónico) sobre la germinación de la semilla y las condiciones óptimas para el proceso de germinación de las semillas de *V. baccifera*.

3.3 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

El método de investigación que se empleó en este proyecto fue el experimental, debido a implicó la observación, manipulación y registro de las variables que afectan un objeto (sujeto) de estudio. En la investigación de enfoque experimental el investigador manipula una o más variables de estudio, para controlar el aumento o disminución de esas variables y su efecto en las conductas observadas (Hernández-Sampieri et al., 2018). En este caso se recolectaron las muestras de semillas de la especie *V. baccifera* y se colocaron en condiciones experimentales de ultrasonido y agua caliente con el propósito de determinar el efecto del tratamiento pre-germinativo en la germinación de esta especie.

El diseño experimental se desarrolló a través de la metodología superficie respuesta (RSM), lo cual se ha utilizado en varios ámbitos de investigación debido a las ventajas que ofrece, ya que reduce considerablemente los recorridos experimentales. Además, permite encontrar un modelo predictivo de las variables independientes a partir de los factores de estudio (Kiran et al., 2016).

3.4 TRATAMIENTO DE DATOS

3.4.1 Recolección de semillas y condiciones experimentales

Se realizó la recolección de semillas de tres árboles de la especie *V. baccifera* para lo cual se procedió a tomar las coordenadas UTM mediante el uso del GPS Test. La recolección se realizó a partir de la selección de árboles con buenas características fenotípicas en cuanto a altura, DAP, fuste recto, ramas plagiotrópicas con crecimiento en sentido horizontal, sin bifurcaciones, sin defectos y en buen estado sanitario (Salán, 2011; Yépez, 2006).

Se realizó el reconocimiento e identificación botánica de la especie con la ayuda de un nativo de la zona (Kichwa), el cual posee conocimiento y experiencia en flora local, además se procedió con la verificación taxonómica de cada especie según información plasmada en el Libro de Árboles de Ecuador (Palacios, 2016) y recursos virtuales (The Plant List, 2019).

Las semillas recolectadas de cada árbol se fusionaron en una sola muestra para su posterior análisis y se observó su madurez fisiológica (Figura 3).

Las semillas de *V. baccifera* fueron sumergidas en dos vasos precipitados de 250 mL, con el fin separar físicamente las semillas de buena calidad por efecto de decantación y flotación del material infértil (Jiménez et al., 2017).



Figura 3. Frutos de la especie *Vismia baccifera*.

3.4.2 Procedimiento empleado para la caracterización morfológicas de las semillas de *V. baccifera*

Del lote de semillas recolectadas se seleccionó un total de 150 semillas al azar y se realizó mediciones morfológicas de las semillas de *V. baccifera* a partir de las dimensiones de largo (L), ancho (W) y espesor (T), utilizando un calibrador o pie de rey digital marca Stanley con una precisión de $\pm 0,02$ mm. Se determinaron los parámetros morfológicos de las semillas propuestos por Mohsenin (1986), relacionados con el diámetro medio geométrico (Dg), relación largo-ancho (RLA) y área superficial (S), empleando las ecuaciones 1, 2 y 3:

$$Dg = (L \cdot W \cdot T)^{1/3}$$

Ecuación 1

Donde:

Dg = diámetro medio geométrico

L = longitud

W = ancho

T = espesor

$$RLA=L/W$$

Ecuación 2

Donde:

RLA = relación larga/ancho

L = longitud

W = ancho

$$S = L * \pi * (\text{Diámetro} / 2)$$

Ecuación 3

Donde:

S= área superficial

L= ancho (mm)

Con los datos de las medidas morfométricas se realizó un análisis descriptivo (media, varianza, error y desviación estándar), así como pruebas de normalidad para conocer las variaciones en los datos, lo cual se realizó con el software Origin 2021.

A demás se determinó el peso de las semillas, con el uso de una balanza analítica digital, como expresión de la determinación física de las semillas, seleccionando una muestra de 1000 semillas al azar, sugerida esta muestra por Fundación Española Solidaridad Internacional (2011), al tratarse de semillas de tamaño pequeño. Con esto se determinó el número de semillas por kilogramo, expresado como el peso de 1000 semillas puras, lo cual se obtuvo por la siguiente ecuación:

$$\text{Número de semillas por gramo} = \frac{1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}} \times 100$$

Ecuación 4

3.4.3 Procedimiento empleado para análisis de la influencia de los factores tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido sobre la germinación de la semilla *Vismia baccifera*.

Para analizar la influencia de los factores temperatura, tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico se realizó el diseño del experimento con el software Design Expert versión 12,0 (serial number 9847-9696-7992-6750, Stat-Ease Inc., 1300 Godward Stret North, Suite 6400 Minneanopolis, USA) (Tabla 1). Se realizaron dos diseños sobre la metodología de superficie respuesta (mínimo, medio, máximo) de las variables independientes tales como: temperatura (30-60 °C), tiempo de ultrasonido (1-10 hrs), tiempo de inmersión (8-24 hrs) y poder ultrasónico como factor categórico (alto y bajo), con un total de 40 tratamientos, más un testigo (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño de experimento de los factores temperatura, tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión y poder ultrasónico.

Std	Run	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
		A:Temperatura	B:Tiempo ultra	C:Tiempo de inmersión	D:Poder ultra
10	1	60	5,5	16	Alto
36	2	45	5,5	16	Bajo
8	3	60	10	24	Alto
16	4	45	5,5	16	Alto
23	5	30	10	8	Bajo
11	6	45	1	16	Alto
15	7	45	5,5	16	Alto
32	8	45	10	16	Bajo
7	9	30	10	24	Alto
26	10	60	1	24	Bajo
33	11	45	5,5	8	Bajo
19	12	45	5,5	16	Alto
1	13	30	1	8	Alto
12	14	45	10	16	Alto
14	15	45	5,5	24	Alto
5	16	30	1	24	Alto
17	17	45	5,5	16	Alto
24	18	60	10	8	Bajo
30	19	60	5,5	16	Bajo
21	20	30	1	8	Bajo
37	21	45	5,5	16	Bajo
22	22	60	1	8	Bajo
35	23	45	5,5	16	Bajo
39	24	45	5,5	16	Bajo

20	25	45	5,5	16	Alto
2	26	60	1	8	Alto
29	27	30	5,5	16	Bajo
27	28	30	10	24	Bajo
28	29	60	10	24	Bajo
38	30	45	5,5	16	Bajo
40	31	45	5,5	16	Bajo
6	32	60	1	24	Alto
34	33	45	5,5	24	Bajo
25	34	30	1	24	Bajo
3	35	30	10	8	Alto
9	36	30	5,5	16	Alto
31	37	45	1	16	Bajo
13	38	45	5,5	8	Alto
18	39	45	5,5	16	Alto
4	40	60	10	8	Alto

Los tratamientos pre-germinativos de remojo en agua caliente se llevaron a cabo de acuerdo al diseño experimental. Se empleó una plancha de calentamiento con control de temperatura (agitador de laboratorio magnético C-MAG HS 7). La temperatura se controló con la ayuda de un termómetro. Luego se colocó en frascos donde se depositaron las semillas seleccionadas, para que permanezcan en remojo de acuerdo al tiempo establecido.

Se utilizó agua destilada para llenar el tanque y una malla para ingresar las semillas seleccionadas. Se analizó la sonicación de cada tratamiento de acuerdo a las condiciones establecidas en el diseño.

Posteriormente, las semillas sometidas a los tratamientos pre-germinativos (ultrasonido y agua caliente) fueron sembradas en cajas Petri sobre algodón estéril humedecido con agua destilada y luego colocadas a temperatura ambiente donde se controló la germinación, regando en el intervalo de tres días.

Con los datos de germinación se calculó la capacidad de germinación, a través de las ecuaciones 5, según lo propuesto por (Sotolongo et al., 2010).

$$CG = (ni/N) * 100 \qquad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

CG = Capacidad germinativa

ni = Número de semillas germinadas

N = Número total de semillas de la muestra

3.4.4 Procedimiento empleado para determinar las condiciones óptimas para el proceso de germinación de las semillas de *V. baccifera*.

Para determinar las condiciones óptimas para el proceso de germinación de las semillas de la especie *V. baccifera* se analizaron las variables significativas del modelo con el fin de elegir los niveles óptimos de las variables independientes. Los datos experimentales se ajustaron utilizando la siguiente ecuación polinomial de segundo orden.

Ecuación 6

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i x_i + \sum_{i=1}^n \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} x_i x_j$$

donde Y representa la respuesta predicha y β_0 , β_{ii} y β_{ij} son los coeficientes de regresión para términos medios, lineales, de interacción y cuadráticos, calculado en función de los resultados experimentales por mínimos cuadrados y x_i y x_j (Arteaga-Crespo et al., 2020).

Asimismo, se aplicó el análisis ANOVA para evaluar la influencia e interacciones de las variables independientes ($p < 0,05$) de los dos diseños.

3.5 RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

3.5.1 Recursos Humanos

- Investigador
- Analista de laboratorio
- Director de Proyecto de Titulación

3.5.2 Materiales de Laboratorio

- Muestras de semillas
- Baño ultrasonido
- Cajas Petri
- Papel filtro
- Pinzas
- Frascos ambar

- Papel de cocina

3.5.3 Material de oficina

- Computadora
- Esferos
- Impresora
- Libros, documentos digitales
- Cámara
- Registros
- USB
- Libreta de apuntes

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

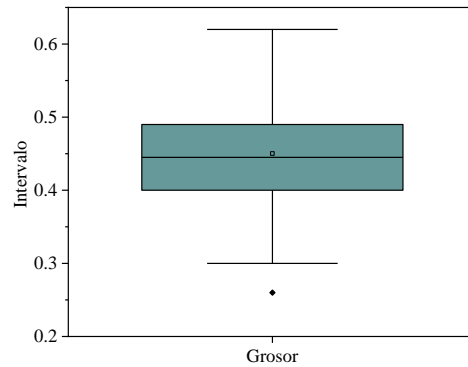
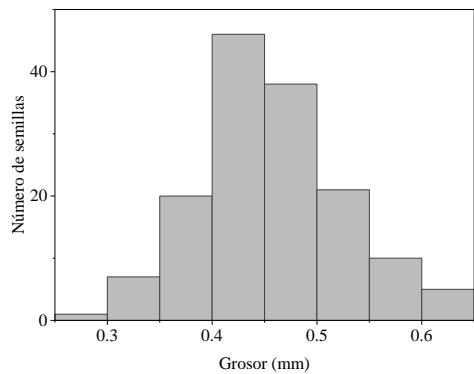
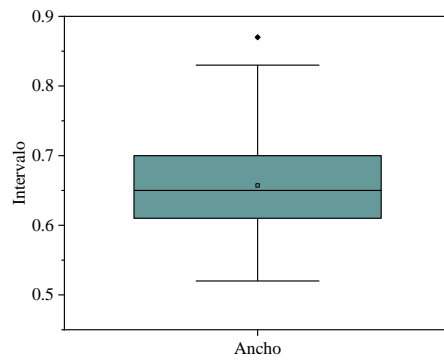
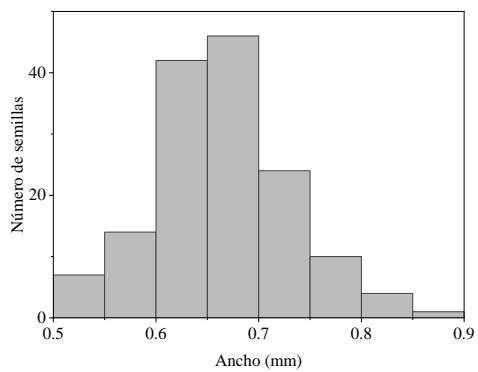
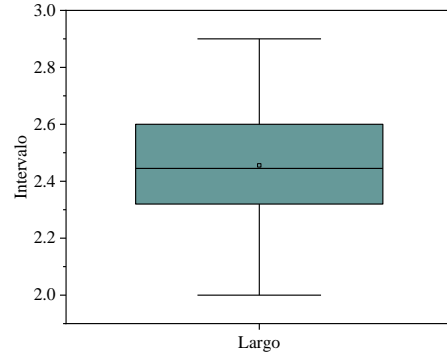
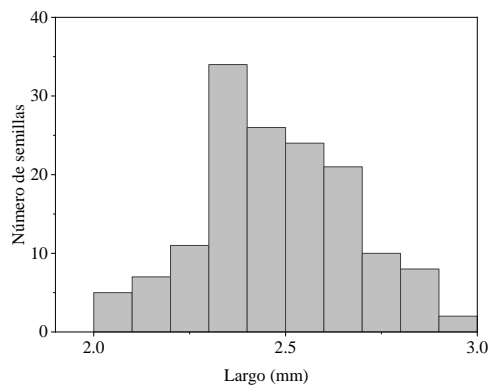
4.1 Características morfométricas de las semillas de *V. baccifera*

En la Figura 4 (a) y (b) se muestra el comportamiento de la distribución de las medidas del largo, ancho y grosor de la muestra al azar de 150 semillas de la especie *V. baccifera* observando que existe un patrón poco variable en la morfometría de las semillas de esta especie, caracterizadas por ser semillas de tamaño muy pequeño, siendo esto un rasgo morfológico que distingue a las semillas botánicas de este grupo taxonómico. La media del largo de las semillas fue de 2,42 mm, el valor mínimo de 2,02 mm y el máximo de 2,9 mm. La media del ancho de las semillas fue de 0,64 mm oscilando los valores del ancho de 0,53 mm a 0,87 mm. En relación al grosor de las semillas el valor medio fue de 0,44 mm, el mínimo de 0,2 mm y el máximo de 0,6 mm

Las variables morfométricas (largo, ancho y grosor de las semillas) representadas en el gráfico de distribución indicaron una distribución normal (gaussiana), lo que demostró que el material seminal utilizado pertenecía a una misma muestra. Estos resultados reflejaron el comportamiento simétrico de las semillas de esta especie.

Los diagramas de caja ayudaron a observar las medidas del centro de cada variable y la extensión de los datos (valores mínimos y máximos). También se pudo utilizar como herramienta visual para comprobar normalidad o identificar puntos que podrían ser valores atípicos.

Como se sabe la variación morfológica de una especie vegetal se encuentra íntimamente ligada a las condiciones medioambientales que prevalecen en el ciclo de vida de la misma, de modo que la estrecha relación planta-medio ambiente marca la importante propiedad para la especie vegetal de poseer la suficiente flexibilidad de desarrollo o normas de reacción amplias para existir en las condiciones donde se ubican (Iglesias et al., 2006).



(a)

(b)

Figura 4. Distribución morfométrica de las medidas de largo, ancho y grosor de las semillas de la especie *V. baccifera* (a) Distribución normal, (b) diagrama de cajas.

Los datos morfométricos de las semillas de la especie *V. baccifera* facilitaron obtener las medidas ortogonales del tamaño y forma de las semillas. La relación largo-ancho (RLA) fue de 3,75, la superficie de las semillas fue de 3,37 y el diámetro geográfico (Dg) de 0,89 (Tabla

2). Los resultados obtenidos permitirán orientar esfuerzos a fin de establecer una estrategia efectiva que no solo contribuya al manejo y conservación de este valioso recurso genético forestal, proporcionando con ello a un mejor control de la erosión genética y a los trabajos de reforestación para promover plantaciones con esta especie.

Tabla 2. Parámetros morfométricos de las semillas de la especie *V. baccifera*.

	Parámetros morfométricos		
	Relación largo-ancho (RLA)	Superficie (S)	Diámetro geométrico (Dg)
Valores	3,75	3,37	0,89

El peso de la muestra de 1000 semillas fue de 0,4 g y el número de semillas por kg resultó de 250, 000 s/kg. Esto denota el bajo peso de las semillas de la especie en estudio, lo cual es proporcional al tamaño de las semillas.

Los datos morfométricos en semillas son de interés forestal, sobre todo al analizar la propagación de la especie, y pueden ser complementados con estudios de germinación, vitalidad y viabilidad. Algunas investigaciones han demostrado una correlación entre el tamaño, el número de semillas y la calidad de estas (García-Ruiz et al., 2018; Hernández-Verdugo et al., 2010). Cabe en particular destacar que es muy probable que las especies con semillas de mayor peso y tamaño tengan mayor oportunidad de sobrevivir las primeras fases de su ciclo de vida. Esto se confirma con la correlación detectada por diversos autores (Davidson et al., 1996) entre peso de la semilla y capacidad de germinación lo cual puede tener implicaciones en la producción de vivero.

4.2 Análisis de la influencia de los factores tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido sobre la germinación de la semilla *Vismia baccifera*.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de germinación de las semillas de la especie *V. baccifera* en función de los factores tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido donde se obtuvo una

capacidad germinativa superior al 75% de germinación, resultando valores bastante alentadores para la propagación de esta especie.

Tabla 3. Porcentaje de germinación de las semillas de la especie *V. baccifera* en función de los factores tiempo de ultrasonido, tiempo de inmersión en agua, temperatura del agua y poder ultrasonido.

Ex p.	A:Temperatura (°C)	B:Tiempo ultrasonido (min)	C:Tiempo de inmersión en agua (min)	D:Poder ultrasonido	Germinación experimental (%)	Germinación calculada (%)
1	60	5,5	16	Alto	56,00	52,29
2	45	5,5	16	Bajo	4,00	5,82
3	60	10	24	Alto	60,00	63,93
4	45	5,5	16	Alto	72,00	70,07
5	30	10	8	Bajo	16,00	15,38
6	45	1	16	Alto	64,00	67,49
7	45	5,5	16	Alto	72,00	70,07
8	45	10	16	Bajo	12,00	11,27
9	30	10	24	Alto	52,00	51,13
10	60	1	24	Bajo	8,00	8,98
11	45	5,5	8	Bajo	4,00	5,67
12	45	5,5	16	Alto	76,00	70,07
13	30	1	8	Alto	32,00	23,13
14	45	10	16	Alto	64,00	64,29
15	45	5,5	24	Alto	76,00	79,49
16	30	1	24	Alto	48,00	48,33
17	45	5,5	16	Alto	72,00	70,07
18	60	10	8	Bajo	20,00	19,78
19	60	5,5	16	Bajo	16,00	10,47
20	30	1	8	Bajo	12,00	9,38
21	45	5,5	16	Bajo	4,00	5,82
22	60	1	8	Bajo	4,00	5,78
23	45	5,5	16	Bajo	8,00	5,82
24	45	5,5	16	Bajo	4,00	5,82
25	45	5,5	16	Alto	72,00	70,07
26	60	1	8	Alto	16,00	19,93
27	30	5,5	16	Bajo	4,00	8,07
28	30	10	24	Bajo	4,00	2,58
29	60	10	24	Bajo	8,00	10,98
30	45	5,5	16	Bajo	8,00	5,82
31	45	5,5	16	Bajo	4,00	5,82
32	60	1	24	Alto	60,00	57,13
33	45	5,5	24	Bajo	4	0,8727
34	30	1	24	Bajo	8,00	8,58
35	30	10	8	Alto	8,00	9,93
36	30	5,5	16	Alto	40,00	47,49
37	45	1	16	Bajo	8,00	7,27
38	45	5,5	8	Alto	40,00	40,29
39	45	5,5	16	Alto	64,00	70,07
40	60	10	8	Alto	12,00	10,73

La distribución de puntos corroboró la capacidad del modelo para cubrir todo el intervalo experimental (Figura 5). Los valores de $R^2=0,9872$ y $Adj. R^2= 0,9750$ de las líneas de regresión se aproximan a uno lo que indicó una muy buena correspondencia entre los valores experimentales y predichos del modelo en los datos experimentales. De acuerdo a las condiciones experimentales se obtuvieron porcentajes de germinación desde el 4% hasta el 76%.

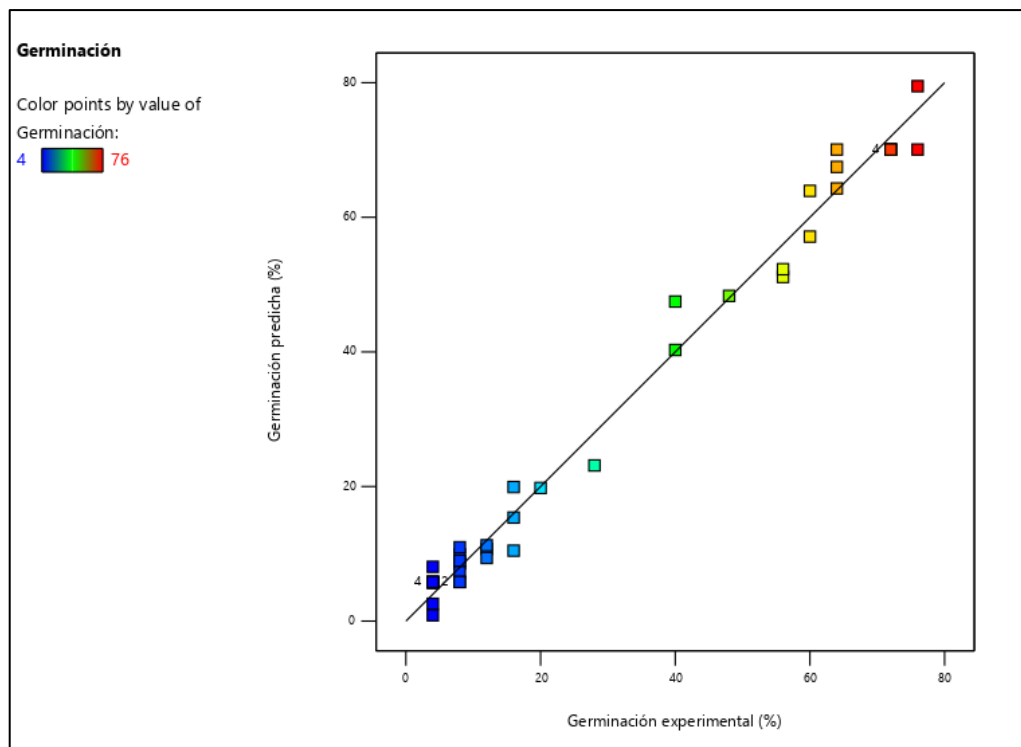


Figura 5. Valores experimentales del porcentaje de germinación versus predichos por Optimal (Custom) desing.

El efecto de los factores temperatura del agua en el ultrasonido, tiempo de ultrasonido (sonicación), tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico en el porcentaje de germinación de semillas de *V. baccifera*, analizados mediante el ANOVA (análisis de varianza) indicaron que el tiempo ultrasónico no ejerció efectos significativos ($p \geq 0,05$) en la variable respuesta. En relación a las variables la temperatura del agua, tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico mostraron efecto significativo ($p \leq 0,05$) (Tabla 4).

Tabla 4. ANOVA que muestra el efecto de los factores temperatura del agua en el ultrasonido, tiempo de ultrasonido (sonicación), tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico en el porcentaje de germinación de semillas *de V. baccifera*.

Source	Sum Squares	of df	Mean Square	F-value	p-value	
Modelo	29182,11	19	1535,90	80,95	< 0,0001	significante
A-Temperatura	64,80	1	64,80	4,42	0,0494	
B-Tiempo ultrasonido	0,8000	1	0,8000	0,0422	0,8394	
C-Tiempo de inmersión	1479,20	1	1479,20	77,96	< 0,0001	
D-Poder ultrasonido	17467,35	1	17467,35	920,57	< 0,0001	
AB	36,00	1	36,00	1,90	0,1836	
AC	64,00	1	64,00	3,37	0,0812	
AD	7,20	1	7,20	0,3795	0,5448	
BC	4,00	1	4,00	0,2108	0,6511	
BD	64,80	1	64,80	3,42	0,0794	
CD	2420,00	1	2420,00	127,54	< 0,0001	
A\hat{A}²	384,73	1	384,73	20,28	0,0002	

BĀ²	0,7273	1	0,7273	0,0383	0,8468	
CĀ²	222,73	1	222,73	11,74	0,0027	
ABD	4,00	1	4,00	0,2108	0,6511	
ACD	16,00	1	16,00	0,8432	0,3694	
BCD	196,00	1	196,00	10,33	0,0044	
AĀ²D	768,18	1	768,18	40,48	< 0,0001	
BĀ²D	80,18	1	80,18	4,23	0,0531	
CĀ²D	80,18	1	80,18	4,23	0,0531	
Residual	379,49	20	18,97			
Lack of Fit	280,82	10	28,08	2,85	0,0571	No significante
Pure Error	98,67	10	9,87			
Cor Total	29561,60	39				

En el análisis gráfico de estos factores (Figura 6) se encontró que para temperaturas desde los 30 °C hasta inferiores a los 45 °C se encontró un incremento en el porcentaje de semillas germinadas, el cual decrece a partir de los 45 °C y se acentúa a los 60 °C. Los valores superiores en la germinación se encontraron a los 45 °C.

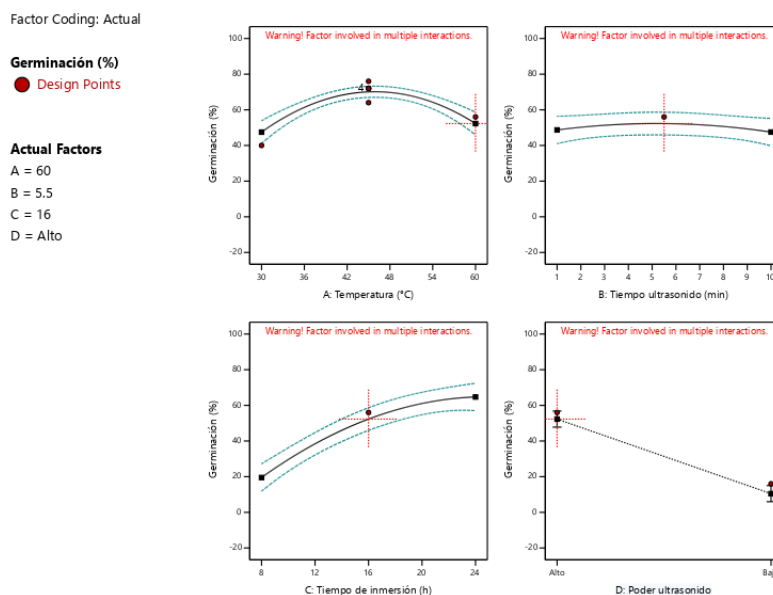
El tiempo de sonicación estudiado de 1 a 10 minutos no tuvo efecto en el porcentaje germinativo, por lo que se recomienda usar el tiempo mínimo para minimizar los costos de operación. El tiempo de inmersión de las semillas en agua, posterior al tratamiento ultrasónico resultó altamente significativo ($p \leq 0,01$) entre las 8h de inmersión y las 24 h a

las que se mantuvo la semilla en remojo. Este resultado sugiere el estudio de solo el factor tiempo de inmersión en agua sobre el efecto en la germinación de la especie. También se evidenció que aplicar alto poder ultrasónico el efecto fue altamente significativo sobre la germinación.

Pese a que la sonicación se ha tratado a una amplia gama de semillas en su mayoría han sido especies de interés alimenticio (Amirnia & Ghiyasi, 2011). Existe un importante vacío en la investigación sobre la estimulación de la germinación y la interrupción de la latencia de semillas en especies forestales, siendo nulos los reportes en literatura científica sobre la aplicación de ondas ultrasónicas para estimular la germinación.

Miano et al., (2019) afirman que la utilización del ultrasonido disminuye el tiempo de la fase de latencia de las semillas, debido a que acelera la entrada de agua por el hilo y la hidratación de la cubierta seminal, provocando un cambio inmediato en la permeabilidad de la testa de las semillas.

El ultrasonido es una tecnología prometedora en el campo de la ciencia de las semillas (Miano et al., 2015) por su eficiencia en la germinación y por ser un tratamiento limpio que no genera desechos tóxicos en el medio ambiente y no pone en peligro la salud humana (Venâncio & Martins, 2019). Las ondas ultrasónicas, dependen de parámetros en su uso como: frecuencia de exposición, intensidad, potencia, tiempo y especie (Rinaldelli, 2000). El impacto de las ondas ultrasónicas rompe la latencia de las semillas, se considera que su efecto repercute primordialmente en la pared celular (Sharififar et al., 2015). Es decir, el ultrasonido es capaz de estimular la biosíntesis del metabolismo primario de las células animales y vegetales (Chen et al., 2013).



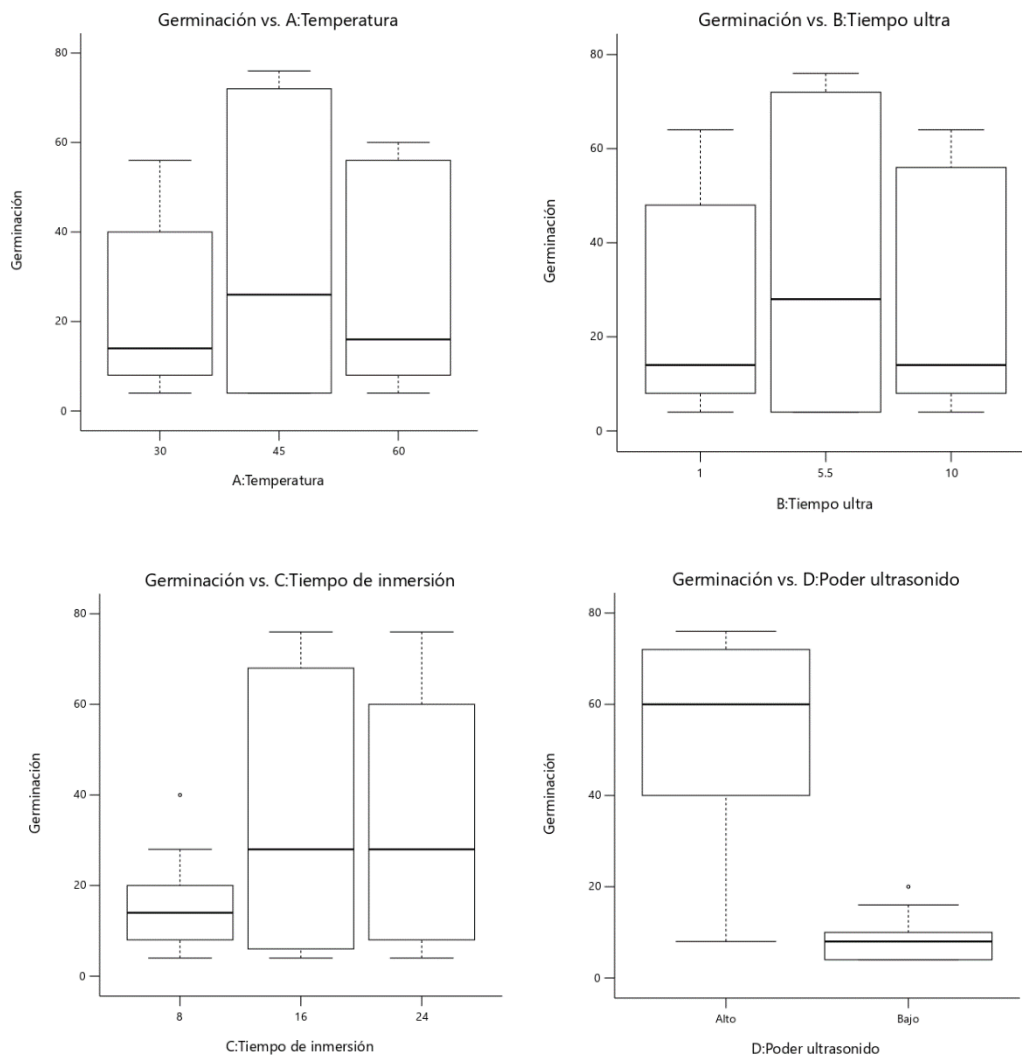


Figura 6. Análisis gráfico de los factores temperatura del agua en el ultrasonido, tiempo de ultrasonido (sonicación), tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico en el porcentaje de germinación de semillas de *V. baccifera*.

4.3 Determinación del modelo para optimización de las condiciones del proceso de germinación de las semillas de *Vismia baccifera*.

En la figura 7, se pueden observar las condiciones óptimas para lograr porcentajes de germinación superiores al 75%. Este resultado se puede logra con temperaturas de 45 °C, tiempos de inmersión entre 20-24 horas y con un poder ultrasónico alto. Es de destacar que el porcentaje de semillas germinadas en el testigo fue tan solo del 4%, lo que demuestra el alto efecto que ejercen las ondas ultrasónicas, temperatura del agua en el momento de la

sonicación y el remojo en agua posterior a la sonicación sobre la germinación de semillas de *V. baccifera*.

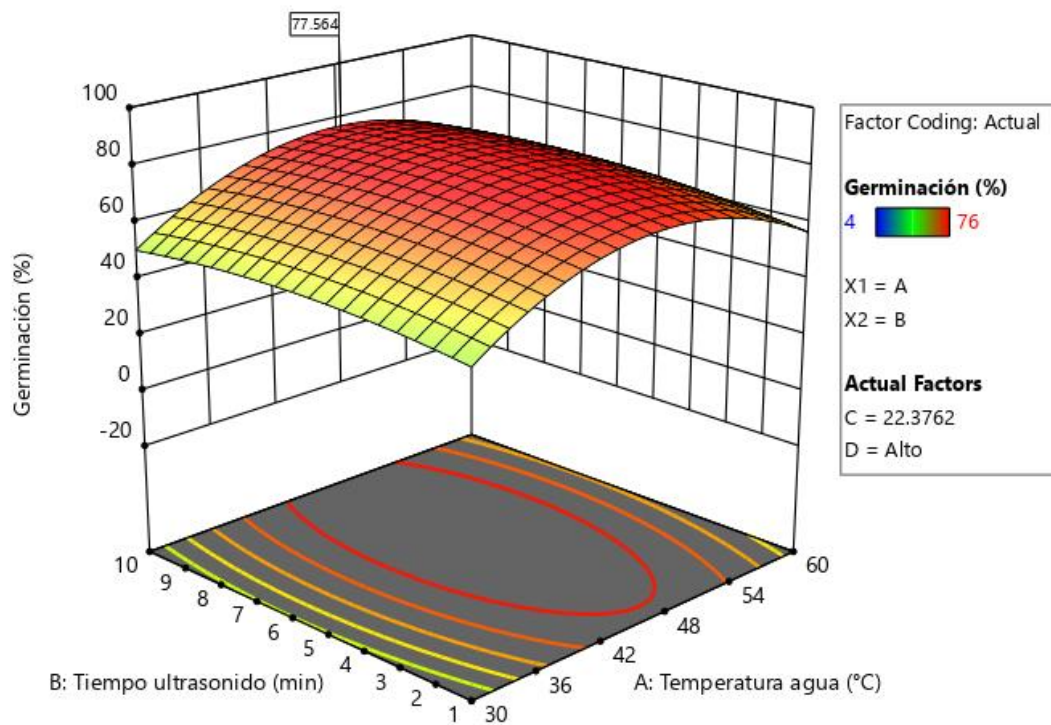
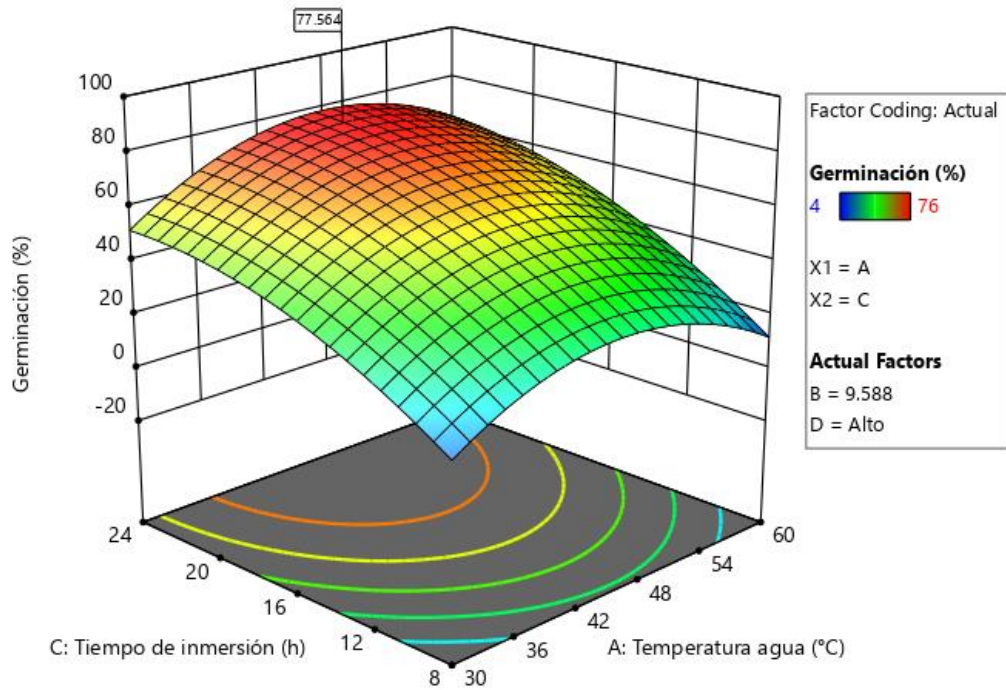


Figura 7. Modelo de optimización del proceso de germinación de las semillas de *V. baccifera*.

La aplicación de ultrasonido en semillas forestales no se encuentra reportados en la literatura, sin embargo, hay diversos estudios en semillas de interés alimenticio (Sharififar et al., 2015) que resaltan el efecto de ondas ultrasónicas en la germinación de semillas de *Atriplex lentiformis*, *Cuminum cyminum* y *Zygophyllum eurypterum*, el porcentaje de germinación reveló un efecto significativo ante las exposiciones de 1, 3, 5, 7 y 9 minutos. Esto se debe a que las ondas ultrasónicas rompen la latencia de las semillas, ocasionando un impacto positivo sobre la germinación.

Por otro lado, estudios realizados en semillas de *Medicago sativa* demostraron que, para conseguir un porcentaje significativo de germinación, se deben utilizar ondas ultrasónicas, bajo condiciones como: frecuencia (20 KHz), potencia (150 W) y tiempo de exposición (0 control, 3, 6, 9 y 12 minutos) obteniendo un porcentaje de (97,25%) a 6 min y (98%) a 9 min (Tajbakhsh et al., 2011). Así también Yang et al., (2015) afirmaron que el tratamiento con ultrasonido aumenta la tasa de germinación, longitud de los brotes y número de brotes de *Glycine max*.

El ultrasonido aumenta la porosidad a través de la cavitación acústica, mejora la transferencia de masa; el agua absorbida adicional reacciona libre y fácilmente con el embrión celular (lo que libera ácido giberélico y conduce a procesos metabólicos en las células de aleurona) y ayuda a movilizar nutrientes del endospermo a través de ruptura de la membrana celular (Miano et al., 2015), estas funciones contribuyen a la rápida producción de plántulas con alto vigor que pueden ser utilizadas en corto tiempo en la revegetación de áreas degradadas, como es el caso de la especie *Senna multijuga*, que después de la exposición a 250 W, 350 W y 450 W de ondas ultrasónicas durante 5 minutos, puede obtener un porcentaje de germinación del 94%, 100% y 97% respectivamente (Venâncio & Martins, 2019).

El ultrasonido también puede utilizarse como tratamiento de control microbiano, como lo demuestran Chiu & Sung (2014), quienes emplearon un baño ultrasónico a una potencia de 40 kHz por 1 min a 25 °C en tres variedades de *Pisum sativum* (arveja), mismo que aumentó la germinación, disminuyó la carga microbiana y mejoró el crecimiento de los brotes de *Pisum sativum*, en un 97% (Chiu & Sung, 2014).

Las semillas de *Medicago scutellat* fueron sometidas a la frecuencia de ondas ultrasónicas de 42 kHz en diferentes periodos de tiempo, 0 min (control), 1, 3, 5, 7 y 9 minutos, a

temperatura ambiente (25 °C). El que influyó de forma positiva fue el tratamiento a exposición de 7 minutos y el de 9 minutos tuvo un impacto negativo en el porcentaje de germinación (Nazari et al., 2015).

El ultrasonido a más de aumentar el porcentaje de germinación y crecimiento de brotes de alfalfa, frijol mungo, guisantes y rábanos, puede usarse como tratamiento de desinfección, no obstante, la eficacia de la ultrasonicación en la desinfección de semillas dependerá de la especie (Chiu, 2015)

Así también, el ultrasonido ha mejorado sustancialmente el porcentaje de brotación de *Phaseolus vulgaris* (frijol común), ya que a partir de una intensidad de 360W y 60 min, alcanza el 100% (Oforiwaa-cJosephine & Michael, 2020). Por otro lado, Miano et al. (2019) aplicaron dos tecnologías: radiación ionizante (a dosis de 2,3 y 3,8 kg y utilizando rayos γ) y el ultrasonido (91 W/L y 25 kHz a 25 °C) individual y en combinación para evaluar el proceso de hidratación y germinación de *P. vulgaris*, revelando que la irradiación no influye significativamente en la tasa de hidratación y el tiempo latencia, pero, sí afecta el ultrasonido, porque redujo en un 50% el tiempo de procesamiento. El efecto de la interacción de la tecnología de radiación y ultrasonido disminuye la humedad de equilibrio. “El proceso de germinación reduce la capacidad de germinación al 0% por ambas variables estudiadas, es decir, el uso del ultrasonido mejora el proceso de hidratación de las semillas sin ningún tratamiento previo” (Miano et al., 2019).

En la literatura se ha comprobado que existen mayores resultados con efectos de ondas ultrasónicas para especies agrícolas (alimentos o gramíneas), por ejemplo: Miano et al., (2015) determinaron el efecto de ultrasonido en la germinación y el vigor de cuatro lotes de semillas de *Hordeum vulgare* (cebada), resultando el lote 1 con la tasa de germinación más alta (89%) y el lote 4 (43%) con la más baja, a partir de las condiciones: frecuencia (20 kHz), potencia volumétrica ($0,028 \text{ W m}^{-3}$) y tiempo (4h), demostrando que la tecnología de ultrasonido puede mejorar el proceso de hidratación e inducir a cambios fisiológicos que aumente el vigor de las semillas. Otro estudio con similar con esta especie logró un porcentaje de germinación del 99,4%, a 30 °C, frecuencia de 20 KHz , potencia constante de 460W a una intensidad del 100% por 15 min (Yaldagard et al., 2008). Sin embargo, en el mismo período de tiempo (15 min) y temperatura 30 °C, pero a una mayor frecuencia (42kHz), Pour et al., (2016) obtuvo una tasa de germinación del 100%, evidenciando así que la potencia no fue significativa para la germinación de *H. vulgare*.

Según Oforiwaa-Josephine & Michael (2020), las semillas de *Oryza sativa* sometidas al ultrasonido incrementan su porcentaje de germinación dado que las ondas ultrasónicas trasladan energía a las células citoplasmáticas. Así también, lo confirman, Xia et al., (2020) quienes examinaron la estimulación de ondas ultrasónicas (28 kHz, 17,83 W) sobre las semillas de *O. sativa* encontrando un efecto significativo en el proceso de la germinación dentro de los 5 a 30 minutos de exposición.

Los tratamientos ultrasónicos tuvieron efectos positivos sobre el porcentaje de germinación de semillas envejecidas de *Festuca arundinacea* y *Psathyrostaehys juncea Nevski* en un 79% y 89,3% respectivamente, a un tiempo de sonicación de 15 min, una temperatura de sonicación de 45 °C y una potencia de salida de 350W (Liu et al., 2016).

4 CONCLUSIONES

Las variables morfométricas de las semillas de la especie *V. baccifera* resultaron con poca variabilidad en cuanto forma y tamaño, con un valor medio de 2,42 mm para el largo, 0,64 mm para el ancho y 0,44 mm para el grosor, lo que denota el tamaño pequeño de las semillas.

El porcentaje de germinación de las semillas de *V. baccifera* se encontró desde 4 hasta 76%, resultando el testigo con tan solo el 4%, lo que demuestra el efecto que ejercen las ondas ultrasónicas, temperatura del agua en el momento de la sonicación y el remojo en agua posterior a la sonicación sobre la germinación de semillas.

El efecto de los factores en la germinación de las semillas de *V. baccifera* indicó que el tiempo ultrasónico no ejerció efectos significativos ($p \geq 0,05$) en la variable respuesta, mientras que la temperatura del agua, tiempo de inmersión en agua y poder ultrasónico mostraron efecto significativo ($p \leq 0,05$).

Se comprobó que las condiciones óptimas para alcanzar altos porcentajes de germinación en la especie *V. baccifera* son temperaturas de 45 °C, tiempos de inmersión entre 20-24 horas y poder ultrasónico alto. Estos resultados aportan información valiosa para el manejo de estas semillas como contribución a la silvicultura especial de este importante recurso forestal.

5 RECOMENDACIONES

Socializar los resultados de esta investigación con las instituciones correspondientes (MAATE y MAG) a fin de que se prioricen acciones para la propagación de este importante recurso forestal.

Realizar otros análisis que ayuden a conocer la calidad física, genética y fisiológica de semillas de la especie *V. baccifera*.

Recolectar semillas de otras poblaciones de *V. baccifera* y realizar tratamientos pregerminativos conforme los resultados obtenidos de esta investigación.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alladolid, J., León, A. y Paredes, D. (2017). Selección de Árboles Semilleros en Plantaciones Forestales de la Península de Santa Elena. Ecuador. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*. [en línea], 4 (2), pp. 105-110. DOI 10.26423/rctu.v4i2.261. [Consulta: 28/04/2019]. Disponible en: Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318212446_Seleccion_de_Arboles_Semilleros_en_Plantaciones_Forestales_de_la_Peninsula_de_Santa_Elena_Ecuador. [Links]
- Amirnia, R., & Ghiyasi, M. (2011). Use of ultrasonic treatments for germination stimulation of alfalfa Crop Physiology and Breeding Program View project Karyological Study on Urmia Ecotype of Moldavian Balm (*Dracocephalum moldavica* L.) View project. <https://www.researchgate.net/publication/315823841>
- Arango, M. R. (2001). Calidad de semillas de soja. INTA Oliveros, Santa Fé. Argentina.
- Arriaga, V., Vargas-Mena, A., & Cervantes, V. (1994). *Manual de reforestación con especies nativas*.
- Amirnia, M. G. M. T. R. (2011). Effect of osmopriming on harvested seed vigor of maize (*Zea Mays* L.). *Advances in Environmental Biology*, 5(11), 3540-3542.
- Arango, M. R. (2001). Calidad de semillas de soja. INTA Oliveros, Santa Fé. Argentina.
- Arteaga-Crespo, Y., Radice, M., Bravo-Sanchez, L. R., García-Quintana, Y., & Scalvenzi, L. (2020). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Ilex guayusa* Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, 6(1), e03043. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2019.E03043>.
- Atkinson, R. E. (2018). Fit for purpose seed supply systems for the implementation of landscape restoration under Initiative 20x20: An analysis of national seed systems in Mexico, Guatemala, Costa Rica, Colombia, Peru, Chile and Argentina. [en línea]. Report. World Resources Institute; Bioversity International; ICRAF. [Consulta: 28/03/2019]. Disponible en: Disponible en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/93037> . [Links]
- Asamblea Nacional del Ecuador (2017). Registro Oficial Suplemento 983 al Código Orgánico del Ambiente. Quito, Ecuador: Ecuador Forestal. [Links]

- Bockus, W. W., & Shroyer, J. P. (1996). Effect of seed size on seedling vigor and forage production of winter wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 76(1), 101-105.
- Camacho, R., Odelanti, M., Garcia, D., Merino, P., & Loor, W. (2018). Aceleración de la germinación de semillas de balsa (*Ochroma pyramidale*) por medio de métodos físicos y biológicos Acceleration. *UTCiencias*, 5(3), 207–213.
- Cañadas, A., Rade, D., Zambrano, C., Molina, C., y Arce, L. (2013). Evaluación y manejo de fuentes semilleras de Teca (*Tectona grandis* Linn. f.) en la Estación Experimental Tropical Pichilinue, Ecuador.
- Chen, Y. P., Liu, Q., Yue, X. Z., Meng, Z. W., & Liang, J. (2013). Ultrasonic vibration seeds showed improved resistance to cadmium and lead in wheat seedling. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4807–4816. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1411-1>
- Chiu, K. Y., & Sung, J. M. (2014). Use of ultrasonication to enhance pea seed germination and microbial quality of pea sprouts. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(7), 1699–1706. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12476>
- Correa, C. M. (2000). *Intellectual property rights, the WTO and developing countries: the TRIPS agreement and policy options*. Zed books.
- Cué García, J. L., Añazco, M. J., & Orlando Paredes, H. (2019). Producción y conservación de semillas forestales: situación actual y perspectivas en Ecuador. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 7(3), 365-376.
- Davidson, R. H, d, G, W. Edwards, Y., A. Szikal, Y. (1996). Genetic variation in germination parameters among populations of Pacific Silver Fir. *Sivae Genética* 45 (2-3): 167-171
- FAO. (2011). Seguridad alimentaria. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fundación Española Solidaridad Internacional (2011). Manual de Procedimientos Técnicos para el Centro de Semillas Forestales Amazónicas de Orellana. Orellana, Ecuador, SI, 63 p.
- García-Ruiz, R., Castañeda-Garzón, S., & Valdéz-Hernández, E. (2018). Quality of rocoto pepper (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.) seeds in relation to extraction timing. *Acta Agronómica*, 67(2), 246-251. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v67n2.59057>.

- Gordon, A. G. (1963). The use of ultrasound in agriculture. *Ultrasonics*, 1(2), 70-77.
- Hartmann-Hudson, T., & Kester Dale, E. (1982). Propagación de plantas principios y prácticas.
- Hernández-Verdugo, S., López-España, R., Porras, F., Parra-Terraza, S., Villareal-Romero, M., & Osuna-Enciso, T. (2010). Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia*, 44(6), 667-677. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/829/829>
- Hernández-Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2018). *Metodología de la investigación* (Vol. 4, pp. 310-386). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández-Pasteur, G., Silva-Bermúdez, P. S., Reyes-Chilpa, R., Vibrans, H., & Soto-Hernández, M. (2019). Evaluación *in vitro* de la actividad cicatrizante y antibacteriana de extractos de *Buddleja cordata* KUNTH y *Vismia baccifera* (L.) Triana & Planch. *Revista fitotecnica mexicana*, 42(2), 93-99.
- Herminio, I. S., Pinedo-Panduro, M., Delgado-Vásquez, C., Linares-Bensimón, C., & Mejía-Carhuanca, K. M. (2001). Fenología reproductiva de *Myrciaria dubia* McVaugh (HBK) camu camu. *Folia amazónica*, 12(1-2), 99-106.
- Iglesias, L., Mora, I., & Casas, J. L. (2006). Morfometría, viabilidad y variabilidad de las semillas de la población de *Pinus hartwegii* del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Cuadernos de biodiversidad*, 19, 14-18.
- Jiménez, E., Garcías, L., Carranza, M., Carranza, H., Morante, J., Martínez, M., & Cuásquer, J. (2017). Germination and growth of *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. in Ecuador. *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 243–250. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.07>.
- Kiran, B., Pathak, K., Kumar, R., & Deshmukh, D. (2016). Statistical optimization using Central Composite Design for biomass and lipid productivity of microalga: A step towards enhanced biodiesel production. *Ecological Engineering*, 92, 73-81. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.03.026>.
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, 2, 31-57.

- Lozano Bermúdez, D. J., & Pineda Lancheros, Y. M. (2015). Descripción anatómica y no anatómica de la madera de cuatro especies procedentes del Bajo Calima, Buenaventura.
- López Velásquez, K. L., & Miguez Guerrero, J. C. (2021). Colección de semillas de árboles y arbustos de la Universidad UPTC en el Jardín Botánico de Boyacá.
- Liu, J., Wang, Q., Dura, K., Liu, X., Cui, J., Gui, J., Gu, M., & Gao, W. (2016). Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep22403>
- MAE. (2014). Plan Nacional de Restauración Forestal 2014-2017. [en línea]. Quito, Ecuador: MAE. Disponible en: <http://sociobosque.ambiente.gob.ec/files/images/articulos/archivos/amrPlanRF.pdf>. [Links]
- MAE. (2017). Deforestación del Ecuador continental periodo 2014-2016. MAE, Quito, Ecuador. [Links]
- MAE. (2018). Estado de los bosques en el Ecuador. MAE. Quito, Ecuador. [Links]
- MAG. (2017). Proyecto Establecimiento de 120.000 hectáreas de plantaciones forestales con fines comerciales a nivel nacional. [en línea]. Quito, Ecuador. [Consulta: 23/03/2019]. Disponible en: <http://servicios.agricultura.gob.ec/transparencia/2017/Septiembre2017/k/PROYECTO%20ESTABLECIMIENTO%20DE%20120000%20HECTAREAS%20DE%20PLANTACIONES%20FORESTALES%20CON%20FINES%20COMERCIALES%20A%20NIVEL%20NACIONAL> . [Links]
- MAGAP. (2012). Normativa para el registro de Importadores y Exportadores de Semillas. [en línea]. Quito, Ecuador. [Consulta: 29/03/2019]. Disponible en: http://balcon.magap.gob.ec/mag01/pdfs/aministerial/2012/2012_0494.pdf . [Links]
- MAGAP. (2016). Programa de Incentivos para la Reforestación con Fines Comerciales. [en línea]. Quito, Ecuador. [Consulta: 29/03/2019]. Disponible en: <http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/WEB%20FORESTAL/GuiaForestal002.pdf> . [Links]
- Mesén, F. (2017). Banco de Semillas Forestales del CATIE, un tesoro de Costa Rica para el mundo. [en línea]. Quito, Ecuador: CATIE. [Consulta: 23/03/2019].

Disponibile en: Disponible en: <http://www.catie.ac.cr/catie-noticias/3222-banco-de-semillas-forestales-del-catie-untesorero-de-costa-rica-para-el-mundo.html>. [Links]

- Miano, A.C, Forti, V. ., Abud, H. ., Gomes-Junior, F. ., Cicero, S. ., & Augusto, P. E. D. (2015). Effect of ultrasound technology on barley seed germination and vigour. *Seed Sci. & Technol*, 2, 297–302.
- Miano, A C, Sabadoti, V. D., & Duarte Augusto, E. P. (2019). Combining Ionizing Irradiation and Ultrasound Technologies: Effect on Beans Hydration and Germination. *Food Science*, 0, 1–7. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14819>
- Moreno M E, M E Vázquez, A Rivera, R Navarrete, F Esquivel (1988) Effect of seed shape and size on germination of corn (*Zea mays L.*) stored under adverse conditions. *Seed Sci. Technol.* 26:439-448.
- Nazari, M., Sharififar, A., & Asghari, H. R. (2015). Medicago Scutellata Seed Dormancy Breaking by Ultrasonic Waves. *Plant Breeding and Seed Science*, 69(1), 15–24. <https://doi.org/10.1515/plass-2015-0002>
- Niembro, A. (1988). Semillas de árboles y arbustos. Ontogenia y estructura. Editorial Limusa, México. 212 p.
- Nyoka, B.I., Roshetko, J., Jamnadass, R., Muriuki, J., Kalinganire, A., LILLESO, J.-P.B., Beedy, T. y Cornelius, J. (2015). Tree Seed and Seedling Supply Systems: A Review of the Asia, Africa and Latin America Models. *Small-scale Forestry* [en línea], vol. 14, no. 2, pp. 171-191. [Consulta: 01/04/2019]. ISSN 1873-7854. DOI 10.1007/s11842-014-9280-8. Disponible en: Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11842-014-9280-8>. [Links]
- Oforiwaa Josephine, & Michael, N. (2020). Ultrasonic assisted phenolic elicitation and antioxidant potential of common bean (*Phaseolus vulgaris*) sprouts. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64(October 2019), 104974. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.104974>
- Palacios, Walter A.; Jaramillo, Nubia. (2016). Árboles amenazados del Chocó ecuatoriano. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 8 (1).
- Pour, M. E., Mahsa, H., Had, G., & Nazari, M. (2016). DOI: 10.1515/plass - 2016 - 0017. 74. <https://doi.org/10.1515/plass>.
- Perry, D. A. (1972). Seed vigour and field establishment. *Hort. Abstr.* 42:334-342.
- Pérez, 2022. Material Vegetal de Reproducción, Manejo, Conservación y Tratamiento. La semilla. Disponible en:

https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80-402_MATERIAL_VEGETAL_DE_REPRODUCCION_MANEJO_CONSERVACION_Y_TRATAMIENTO/80-402/7_GERMINACIÓN_Y_DORMICIÓN_DE_SEMILLAS.PDF.

- Quijano, G., Arcila, J. S., & Buitrón, G. (2017). Microalgal-bacterial aggregates: applications and perspectives for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 35(6), 772-781.
- Rinaldelli, E. (2000). Effect of ultrasonic waves on seed germination of *Capparis spinosa* L. as related to exposure time, temperature, and gibberellic acid. Effect of Ultrasonic Waves on Seed Germination of *Capparis spinosa* L. as Related to Exposure Time, Temperature, and Gibberellic Acid, 14(4), 1000–1007. <https://doi.org/10.1400/14062>
- Ríos-Geovo, V., Córdoba-Tovar, L., Ramírez Mosquera, P. L., Copete Arroyo, J. H., & Andrés, P. Métodos de escarificación química y sus efectos en la germinación de semillas de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. Methods of chemical scarification and their effects on the germination of seeds.
- Robles-Ozuna, L. E., & Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 13(2), 109-122.
- Rojas, J. D. C., Buitrago, A. A., Arvelo, F. A., Sojo, F. J., & Suarez, A. I. (2017). Cytotoxic activity of different polarity fractions obtained from methanolic extracts of *Vismia baccifera* and *Vismia macrophylla* (Hypericaceae) collected in Venezuela. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 5(5), 320-326.
- Rojas-Rodríguez, F., & Torres-Córdoba, G. (2011). Árboles del Valle Central de Costa Rica: reproducción indio desnudo. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 8(20), ág-39.
- Salán, S. (2011). Inventariación y selección de árboles de cedro, con características semilleras en los sectores: el 51, el pindo y el mirador de los cantones de la provincia de Pastaza. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/778/1/33T0083.pdf>
- Salas F., J. Velasco, J. Rojas and A. Morales. (2007). Antibacterial activity of the crude extract and constituents of *Vismia baccifera* var. *dealbata* (Guttiferae) collected in Venezuela. *Natural Product Communications* 2:185-188.

- Salas, F., Ciangherotti, C., Salazar-Bookaman, M., Rojas, J., & Morales, A. (2007). Toxicidad aguda y actividad analgésica del extracto acuoso de hojas de *Vismia baccifera* L. var. *dealbata* (Guttiferae) en animales de experimentación. *Rev Fac Farm Univ de los Andes*, 5-9.
- Samaniego, C., Ordóñez, O., Prado, L., y Morocho, M. (2005). *Las fuentes semilleras y semillas forestales nativas de Loja y Cañar: participación social en el manejo*. Loja, Ecuador: Fundación Arcoiris-Fosefor-Asociación de Agrónomos Indígenas del Cañar.
- Samaniego, C., Prado, L., Ordóñez L., Díaz, M., Zambrano L., Papa R. (2011). *Árboles nativos de Orellana, Amazonía del Ecuador*. Guía técnica para la identificación, fenología, usos y características de árboles y maderas. Quito, Ecuador, SI, 152 p.
- Sharififar, A., Nazari, M., & Asghari, H. R. (2015). Effect of ultrasonic waves on seed germination of *Atriplex lentiformis*, *Cuminum cyminum*, and *Zygophyllum eurypterum*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(3), 102–104. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.05.003>.
- Schmidt, L. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. Danida Forest Seed Center. Humlebaek, Dinamarca.
- Shekari, F., Mustafavi, S. H., & Abbasi, A. (2015). Sonication of seeds increase germination performance of sesame under low temperature stress. *Acta Agriculturae Slovenica*, 105(2), 203–212. <https://doi.org/10.14720/AAS.2015.105.2.03>.
- Snow, B. K., & Snow, D. W. (1971). The feeding ecology of tanagers and honeycreepers in Trinidad. *The Auk*, 88(2), 291-322.
- Sotolongo Sospedra, Rogelio; Geadá, López, Gretel y Cobas, López Milagros. (2010). *Fomento Forestal*. Editorial Félix Varela.
- Trakselyte-rupsiene, K., Juodeikiene, G., Cernauskas, D., Bartkiene, E., Klupsaite, D., Zadeike, D., Bendoraitiene, J., Damasius, J., Ignatavicius, J., & Sikorskaite-gudziuniene, S. (2021). Integration of ultrasound into the development of plant-based protein hydrolysate and its bio-stimulatory effect for growth of wheat grain seedlings in vivo. *Plants*, 10(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10071319>
- Valadeau C., J. A. Castillo, M. Sauvain, A. F. Lores and G. Bourdy. (2010). The rainbow hurts my skin: medicinal concepts and plants uses among the Yanéscha

- (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. *Journal of Ethnopharmacology* 127:175-192, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.024>
- Vallejos, J., Badilla, y., Picado, F. y Murillo, O. (2010). Metodología para la selección e incorporación de árboles plus en programas de mejoramiento genético forestal. *Agronomía Costarricense* [en línea], vol. 34, no. 1, pp. 105-119. [Consulta: 01/04/2019]. ISSN 2215-2202. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6704>. [Links]
 - Valladolid, J., León, A. y Paredes, D. (2017). Selección de Árboles Semilleros en Plantaciones Forestales de la Península de Santa Elena. Ecuador. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*. [en línea], vol. 4, no. 2, pp. 105-110. DOI 10.26423/rctu.v4i2.261. [Consulta: 28/04/2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318212446_Seleccion_de_Arboles_Semilleros_en_Plantaciones_Forestales_de_la_Peninsula_de_Santa_Elena_Ecuador. [Links]
 - Varela, S. A., & Arana, M. V. (2011). *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*. EEA Bariloche, INTA.
 - Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 559–902. <https://doi.org/10.1016/J.RMB.2016.06.017>.
 - Venancio, G. M. (2019). La trahison des traductions: textes français dans les collections Brasiliana et Biblioteca Historica Brasileira. *Portuguese Studies Review*, 27(2), 99-123.
 - Yang, H., Gao, J., Yang, A., & Chen, H. (2015). The ultrasound-treated soybean seeds improve edibility and nutritional quality of soybean sprouts. *Food Research International*, 77, 704–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.011>.
 - Yépez, S. (2006). Determinación del Potencial de Producción y Comercialización de semillas de tara (*Caesalpinia spinosa*) en la Región Norte del Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/815/3/03%20FOR%20144%20TESIS%20.pdf>
 - Zamora, R., & Hidalgo, F. J. (2005). Coordinate contribution of lipid oxidation and Maillard reaction to the nonenzymatic food browning. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(1), 49-59.

ANEXOS

Anexo 1. Mediciones morfométricas a semillas de *V. baccifera*



Anexo 2. Proceso de germinación de la semilla de *V. baccifera*

