



Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Ingeniería Agronómica

Germinación de semillas de Joyapa (*Macleania rupestris*) luego de su almacenamiento por 2, 4 y 6 semanas a diferentes temperaturas y estados de madurez

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera
Agrónoma

Autores:

Camila Vanessa Enriquez Fernandez

Katherine Jazmín Tenecela Quinde

Director:

Denisse Fabiola Peña Tapia

ORCID:  0000-0002-7285-2646

Cuenca, Ecuador

2023-07-25

Resumen

Macleania rupestris, es un arbusto frutal no domesticado de la familia Ericaceae, habita en los ecosistemas de páramos y sub páramos andinos, es considerado importante para alimentar a personas y animales. Su semilla pequeña complica su propagación y no existe suficiente información acerca del almacenamiento de su germoplasma ex situ. El objetivo del trabajo fue evaluar la germinación de semillas de *M. rupestris* luego de su almacenamiento por 2, 4 y 6 semanas a diferentes temperaturas (Temperatura ambiente (TA), -18°C, 4°C) en 3 estados de madurez del fruto (tierno, semi maduro, maduro). Se desarrollaron 3 experimentos por separado, uno por cada estado de madurez. Los mayores porcentajes de germinación previo al almacenamiento se registraron en el estado semi maduro, mientras que las semillas obtenidas de frutos en estado tierno presentaron mayor germinación luego de la conservación. Las semillas obtenidas de frutos tiernos, independientemente de la temperatura de almacenamiento presentaron mayor germinación luego de ser conservadas por 4 semanas. Las semillas de frutos semi maduros almacenadas por 4 semanas, tuvo diferencias estadísticamente significativas a -18 °C (64,67%), y a 4 °C (63,82%) por 6 semanas. Las semillas de frutos maduros almacenadas por 6 semanas a -18 °C, presentaron mayor germinación (66,03%), no obstante, este no fue significativamente diferente del porcentaje alcanzado a 4 °C. Las semillas de *M. rupestris* podrían ser conservadas teniendo en cuenta que conforme pasa el tiempo la viabilidad puede verse reducida.

Palabras clave: plantas, germinación, madurez, temperatura, tiempo



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

Macleania rupestris is an undomesticated fruit shrub from the Ericaceae family. It inhabits the Andean paramo and subparamo ecosystems and is considered important for feeding both humans and animals. Its small seed complicates its propagation, and there is insufficient information regarding the ex situ storage of its germplasm. The objective of the study was to evaluate the germination of *M. rupestris* seeds after storage for 2, 4, and 6 weeks at different temperatures (room temperature, -18°C, 4°C) in three maturity stages (immature, semi-mature, mature). Three separate experiments were conducted, one for each maturity stage. Additionally, it is important to consider the fruit's maturity stage and storage time to select the appropriate conservation method. The highest germination percentages were obtained from semi-mature seeds prior to storage, while after storage, higher germination rates were observed in the immature stage. For the immature stage, regardless of the storage temperature, seeds stored for 4 weeks showed higher germination rates as there were no statistically significant differences. The semi-mature seeds stored for 4 weeks had statistically significant differences at -18°C (64.67%) and 4°C (63.82%) for 6 weeks. The seeds from mature fruits stored for 6 weeks at -18°C exhibited higher germination (66.03%), although this was not significantly different from the percentage achieved at 4°C. The seeds of *M. rupestris* could be conserved considering that viability may decrease over time.

Keyword: plants, germination, maturity, temperature, time



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

Resumen	2
Abstract.....	3
Índice de contenido.....	4
Índice de figuras	6
Índice de tablas	7
Agradecimientos	8
1. Justificación	9
2. Objetivos	11
2.1 Objetivo General	11
2.1.1 Objetivo específico	11
3. Revisión de literatura	11
3.1 Importancia de la conservación de germoplasma	11
3.2 Descripción de la familia Ericaceae.....	11
3.3 Descripción de <i>Macleania Rupestris</i>	12
3.4 Métodos de conservación de semillas.....	12
3.4.1 Método <i>in situ</i>	13
3.4.2 Métodos <i>ex situ</i>	13
3.5 Métodos de conservación en semillas de Ericaceae.....	13
3.6 Efecto del estado de madurez de la semilla en la germinación.	14
3.7 Efecto del tiempo en la conservación de semillas	15
3.8 Efecto de temperatura en la conservación de semillas	15
3.9 Importancia de las Giberelinas en semillas.....	15
4. Materiales y métodos.....	16
4.1 Área de estudio.	16
4.2 Recolección de semillas.....	16
4.3 División de lotes	17
4.4 Desinfección de semillas.....	17
4.5 Ensayo de germinación.....	17
4.6 Monitoreo de germinación y mantenimiento de los ensayos	18
4.7 Análisis estadístico	18

5. Resultados y Discusión	19
5.1 Efecto del ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de <i>M. rupestris</i> previo a su almacenamiento en 3 estados de madurez	19
5.2 Germinación de semillas en frutos tiernos	20
5.3 Porcentaje de germinación en el estado de madurez Semi maduro	21
5.4 Porcentaje de germinación en semillas de frutos maduros.....	23
Conclusiones	30
Recomendaciones	32
Referencias.....	33
Anexos.....	38

Índice de figuras

Figura 1. Estados de madurez de frutos de <i>Macleania rupestris</i>	17
Figura 2. Germinación de semillas de <i>M. rupestris</i> obtenidas de frutos tiernos, semi maduros y maduros tratados con y sin AG3 (10 ppm) antes de su almacenamiento (Control).	19
Figura 3. Germinación de semillas de frutos tiernos en conservadas a -18°C, 4°C y temperatura ambiente por 2,4,6 semanas.	20
Figura 4. Germinación de semillas de frutos semi maduros luego de su conservación a -18°C, 4°C y temperatura ambiente por 2,4 y 6 semanas.....	22
Figura 5. Germinación de semillas de frutos maduros conservados a -18°C, 4°C y Temperatura ambiente por 2,4,6 semanas.....	23
Figura 6. Coloración de semillas de frutos semi maduros	29
Figura 7. Coloración de semillas de frutos maduros	29

Índice de tablas

Tabla 1. Porcentajes de germinación en los 3 estados de madurez (Tierno, Semi Maduro y Maduro) después del almacenamiento a diferentes temperaturas (TA, -18°C, 4°C) y tiempos.	25
Tabla 2. Porcentajes de germinación de semillas blancas y oscuras a los 3 estados de madurez (Tierno, Semi Maduro y Maduro) después del almacenamiento a diferentes temperaturas (TA, -18°C, 4°C).....	27
Tabla 3. Prueba de Anova para el estado de madurez semi maduro.....	42
Tabla 4. Prueba de Anova para el estado de madurez maduro.....	43

Agradecimientos

Quiero agradecer a Dios por haber sido mi fortaleza y guía durante todo mi camino estudiantil. También quiero agradecer a mis padres y hermanos por darme valores y por apoyarme en cada paso importante que he dado durante mi carrera. La ayuda y el conocimiento incondicional que me brindó mi directora de tesis, Blga. Denisse Peña, fueron fundamentales para el desarrollo del proyecto. De igual manera, quiero agradecer a los docentes de la Universidad de Cuenca por dedicar su tiempo y esfuerzo en transmitir sus valores y conocimientos. Por último, agradezco a mis amigos y compañeros confidentes con quienes compartí momentos de triunfo y derrota durante mi vida universitaria.

Camila Enriquez

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mis padres por su cariño incondicional, comprensión y apoyo emocional durante todo este proceso. También quiero agradecer a mi directora de tesis, Blga. Denisse Peña, quien con sus conocimientos y paciencia nos supo guiar. Así mismo, un agradecimiento especial a los docentes de la Universidad de Cuenca por sus valiosos consejos y sugerencias. Agradezco a mis amigos, por su apoyo y motivación constante. Finalmente, quiero agradecer a todas las personas que han participado en esta investigación, por su tiempo y colaboración.

Katherine Tenecela

1. Justificación

La conservación de recursos fitogenéticos es primordial para la alimentación y la agricultura, incluyendo la conservación de especies tradicionales y silvestres nativas. En Ecuador la conservación de recursos fitogenéticos se ha enfocado principalmente en especies cultivadas y sus parientes silvestres, como una estrategia de apoyo a la seguridad alimentaria nacional, mediante estrategias como la conservación ex situ de semillas en bancos de germoplasma (Rao, 2004).

Los bancos de germoplasma nos permiten mantener el material biológico (semillas, explantes, estacas) en condiciones *ex situ*, para conservar la biodiversidad a largo plazo (Alvear, 2021). En el Banco de germoplasma del Ecuador se almacena aproximadamente 28.000 accesiones de especies cultivadas y silvestres para asegurar su conservación (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2021). Respecto a la temperatura de conservación de semillas, las normas para bancos de germoplasma (FAO & IPGRI, 1994), sugieren conservar las semillas ortodoxas en cámaras a -18 °C para almacenamiento a largo plazo.

Por otra parte, dentro del marco legal e institucional ecuatoriano, establecen leyes que fomentan la conservación de material fitogenético, como la “Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable” (2017), cuyo objeto es proteger, revitalizar y multiplicar los recursos fitogenéticos; asegurar la producción, acceso libre y permanente a semillas de calidad y variedad, mediante el fomento de la investigación científica y gira entorno al fortalecimientos y conservación de semillas (Ley orgánica de Agrobiodiversidad, semillas, y Fomento de la Agricultura Sustentable, 2017, art 1).

Macleania rupestris, conocida localmente como joyapa, es una especie promisorio de los páramos y subpáramos andinos del Ecuador perteneciente a la familia Ericaceae. Tradicionalmente, sus frutos frescos se comercializan durante las épocas de cosecha, los que son apetecidos por su contenido de azúcares, minerales y capacidad antioxidante (De Valencia & De Carrillo, 1991).

Pese a que este frutal andino no domesticado es un recurso fitogenético nativo con potencial para el aprovechamiento sustentable por parte de comunidades locales y

además un recurso ecológicamente importante, es una especie de la que se conoce muy poco en nuestro país. Calvo, 2012, reporta que el estado de madurez en qué se encuentra el fruto recolectado influye en la calidad fisiológica de la semilla, y en su capacidad germinativa. Buitrago et al. (2015) mencionan que frutos de *Vaccinium meridionale* Swartz, recolectados en estado semi maduro y maduros presentan mayor porcentaje de semillas viables, contrario a lo encontrado en semillas tiernas o verdes. No obstante, es necesario generar más información que permita el desarrollo de estrategias de manejo y conservación (Lagos et al., 2010). Como un aporte para establecer estrategias apropiadas de conservación ex situ de semillas de joyapa en bancos de germoplasma, este proyecto plantea evaluar la germinación de semillas de *M. rupestris* luego de su almacenamiento por 2, 4 y 6 semanas a diferentes temperaturas y en tres diferentes estados de madurez (tierno, semi maduro y maduro)

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar la germinación de semillas de Joyapa (*Macleania rupestris*) luego de su almacenamiento en diferentes tiempos, temperaturas y estados de madurez.

2.1.1 Objetivo específico

Evaluar el efecto del estado de madurez de frutos de Joyapa (tiernas, semi maduras, maduras) y en la capacidad germinativa de su semilla.

Evaluar el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento en la capacidad germinativa de semillas de Joyapa por cada estado de madurez.

3. Revisión de literatura

3.1 Importancia de la conservación de germoplasma

Los recursos fitogenéticos son primordiales para la alimentación y la agricultura ya que sostienen la seguridad alimentaria del presente y consecuentemente de las futuras generaciones. La preocupación por la pérdida de variedades de plantas silvestres y cultivadas, debido a la introducción de cultivos mejorados en la agricultura moderna, condujo a la creación de una estrategia global de conservación. Esta estrategia busca proteger y preservar la diversidad genética de las plantas para garantizar su supervivencia a largo plazo (Lobo & Medina, 2009).

Rao (2004) explica que la conservación de material vegetal es de vital importancia, la humanidad depende para su alimentación de cultivos agrícolas y hortícolas, así como del desarrollo de nuevas medicinas y otros productos derivados, además, su papel es fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas naturales. Magos et al. (2008) indican que las variantes silvestres interactúan con los cultivos, por lo tanto, también deben ser conservadas, debido a que representan un conjunto importante de recursos genéticos con potencial aprovechable.

3.2 Descripción de la familia Ericaceae

Esta familia está constituida por aproximadamente 125 géneros y 4.500 especies identificadas, distribuidos en todos los continentes excepto en Antártica (Salinas et al., 2005). La familia Ericaceae en el Ecuador está compuesta por 22 géneros y 221 especies, siendo 98 especies endémicas del país, lo que la hace una de las familias con mayor endemismo en el Ecuador (León et al., 2012). Los Andes tropicales tienen la mayor cantidad de especies endémicas del mundo, y la conservación allí es de suma importancia, ya que la región también tiene los niveles más altos de amenaza (Lutelyn &

Pedraza, 2014); algunos géneros de plantas como *Vaccinium*, *Macleania* y *Cavendishia* yacen en regiones montañosas y producen frutos comestibles (Veloza et al., 2014).

La familia Ericaceae es parte del componente florístico de los bosques andinos amazónicos, juega un rol ecológico importante dentro de los bosques de neblina por ser alimento para especies de aves y mamíferos (Huamantupa & Cuba, 2011), así como para las comunidades andinas que han recolectado sus frutos tradicionalmente de poblaciones silvestres, de estas especies con potencial de cultivo, solo una parte han sido domesticadas (Veloza et al., 2014)

3.3 Descripción de *Macleania Rupestris*

M. rupestris es conocida comúnmente como Joyapa en Ecuador o uva camarona en Colombia (Calvo, 2012). Se distribuye desde Nicaragua hasta Perú incluyendo a Colombia, Venezuela y Ecuador, esta especie crece en estado silvestre, en un rango altitudinal de 2000 a 4267 msnm en suelos ácidos y bien drenados (De la Torre et al., 2008). Se desarrollan en los Andes ya que requieren de ambientes montañosos fríos, húmedos, en zonas rocosas, bosques, así como también cerca de las carreteras o volcanes en actividad, son resistentes a heladas y vientos fuertes (González & González, 2014).

M. rupestris es un arbusto terrestre o epífita de 0,6 a 2,5 m de altura con hojas simples, alternas, de color rojo cuando estas son jóvenes y de color verde claro cuando maduran (Abril, 2010). Su fruto presenta forma globosa y color púrpura, con un diámetro de 1 a 2 cm y gran cantidad de semillas (98-150), contiene vitamina C, taninos, niacina, riboflavina, ácido benzoico y ascórbico idóneos para el consumo (Corzo, 2014). Sus flores son de color rosa o rojo y tienen un limbo de cáliz en forma de campana típico de la familia Ericaceae y se forman en ejes secundarios y no se desarrolla flor terminal (De Lozano & De Valencia, 1992). La semilla tiene una longitud de 2.5 mm, ovoide, endospermica y testa formada por sarcotesta (De Valencia & De Carrillo, 1991)

3.4 Métodos de conservación de semillas

Uno de los objetivos de la conservación de semillas es contar con una alternativa al problema alimentario mundial, lo que demanda condiciones idóneas para mantener y preservar las semillas del ataque de plagas y enfermedades durante su almacenamiento (FAO, 1982).

Entre los principales factores que afectan en el almacenamiento de semillas están la humedad del producto almacenado o del ambiente, las impurezas o daños físicos en las semillas, la presencia de bacterias, hongos e incluso ciertos roedores, además, las

condiciones ecológicas de la región, como el clima cálido y húmedo, acelera la respiración de los granos y semillas favoreciendo el desarrollo de insectos y hongos, pero sobre todo características inapropiadas de la infraestructura influyen significativamente en su conservación (Hernández et al., 2009)

En los últimos años, surge la preocupación mundial por la pérdida de material genético y por conservar los recursos fitogenéticos, como una acción mundial se han establecido bancos de germoplasma con el rol de conservar, mantener el material genético propio de una región y asegurar su disponibilidad, esto implica capturar la máxima variabilidad genética con métodos de recolección, seguido por técnicas de conservación, y finalmente la regeneración sin causar pérdidas en el transcurso del tiempo (Rao, 2004).

3.4.1 Método *in situ*

La conservación *in situ* consiste en proteger y recuperar las especies en sus ecosistemas naturales, es decir, mantenerlas en los sitios en donde han desarrollado sus características (Baena et al., 2003). La conservación *in situ* significa conservar en el lugar, por ejemplo, en bosques, fincas o en lugares valiosos de gran interés por su flora y fauna silvestre (Gámez et al., 2014).

3.4.2 Métodos *ex situ*

La conservación *ex situ* de diversidad específica y genética tiene como objetivo conservar recursos genéticos de especies bajo condiciones favorables para prolongar su supervivencia (Niculcar et al., 2015)

Una manera para llevar a cabo esta conservación son los bancos de germoplasma, los cuales deben mantener la variabilidad de genotipos que pertenecen a las variedades locales o que el agricultor maneja en su finca, cultivares comerciales mejorados, genotipos del conjunto silvestre-maleza, variedades con potencial de desarrollo, así como especies en peligro de desaparecer (Plucknett et al., 1992).

3.5 Métodos de conservación en semillas de Ericaceae.

Hernández et al. (2009) reportan que en *Vaccinium meridionales wartz* (Mortiño) la semilla debe tener rangos de contenido de humedad de 5 a 10% para conservarlas a largo plazo.

3.6 Efecto del estado de madurez de la semilla en la germinación.

Para conservar semillas generalmente se deben considerar factores como la temperatura, humedad y tiempo de almacenamiento (Berkelaar, 2005). También el estado de madurez en qué se encuentra el fruto recolectado influye en la calidad fisiológica de la semilla, y en su capacidad germinativa (Calvo, 2012). Buitrago et al., 2015, reportan que en frutos de *Vaccinium meridionale* Swartz, recolectados en estado semi maduro y maduros, o con mayor pigmentación de epidermis, presentan mayor porcentaje de semillas viables, contrario a lo encontrado en semillas tiernas o verdes, que posee embriones pequeños con relación al tamaño de fruto.

La maduración del fruto implica cambios externos e internos, como el sabor y la textura al momento que completa su crecimiento. En la fase de desarrollo del fruto, el pericarpio cambia el color, disminuye el contenido de almidón, la concentración de azúcar aumenta, y se reducen los ácidos presentes en el fruto. Culminada esta fase, el fruto presenta sensibilidad a las condiciones del medio, pierde el control metabólico e inicia su senescencia (Agustí, 2004).

Gallo (1993) indica que existen tres grados de madurez de los frutos que son comúnmente manejados: madurez fisiológica, madurez de consumo y madurez de cosecha. La madurez fisiológica, es cuando la fruta está en su máximo estado de crecimiento y desarrollo, y absolutamente todas sus partes están formadas, maduras y en capacidad reproductiva. Las semillas con estado de madurez fisiológica presentan el más alto nivel de calidad fisiológica, al contrario, en el proceso de envejecimiento de la semilla ocurre transformaciones degenerativas que disminuyen la calidad o vigor de la misma (Alizaga, 1989). Buitrago et al. (2015) demostraron la incidencia del estado de madurez en la germinación en *Vaccinium meridionale* (Mortiño), estableciendo 5 estados de madurez de acuerdo al color de la epidermis del fruto, las semillas del estado de madurez 3 (100% rojo) presentaron mayor porcentaje de viabilidad con una diferencia de 10% con ácido giberélico frente al testigo. Los primeros y últimos estados de madurez, mostraron los porcentajes más bajos de germinación, esto puede ser explicado debido a que, en ciertas especies, las semillas que acaban de madurar contienen embriones que son mucho más pequeños en comparación con el tamaño de la semilla, y tienen una gran cantidad de endospermo. Incluso si estos embriones poseen cotiledones y una radícula distinguible, necesitan crecer hasta una longitud crítica antes de que la radícula pueda emerger de la semilla (Walck et al., 2002).

Resultados similares evidenciaron Tovar et al. (2014) en *Arbutus xalapensis kunth*, quienes concluyen que el estado de madurez de fruto influye sobre la germinación de semillas, reportando que a mayor madurez de las semillas menor porcentaje de germinación.

3.7 Efecto del tiempo en la conservación de semillas

El tiempo de conservación de semillas es crucial ya que la viabilidad disminuye al aumentar el tiempo (García et al., 2013), ese es el caso en semillas de la especie forrajera zámota (*Coursetia glandulosa*) ya que pierde su viabilidad a partir del segundo y tercer año de almacenamiento, y después de tres años, la pérdida es total (Sánchez et al., 2011).

3.8 Efecto de temperatura en la conservación de semillas

El almacenamiento de semillas depende de su tipo (ortodoxas, recalcitrantes o intermedias). Gentil (2001), indica que las semillas ortodoxas poseen un contenido bajo de humedad menor al 15%, y toleran una deshidratación hasta de 5%, pueden ser almacenadas a temperaturas bajo cero durante años dependiendo de la especie. Al contrario, las semillas recalcitrantes poseen un alto contenido de humedad, pierden su viabilidad después de secarse o congelarse a -20°C. Las semillas intermedias presentan mayor longevidad y tiene una vida útil de 5 años si se lo almacena a -20°C con 45 o 65 % de humedad relativa (Walters & Maschinski, 2020). La temperatura y el contenido de humedad de la semilla, intervienen en su tasa de envejecimiento y conducen al bajo potencial germinativo, adicionalmente, el almacenamiento de semillas, en condiciones óptimas a largo plazo, reduce la capacidad de germinación por envejecimiento (Patiño et al., 2019).

3.9 Importancia de las Giberelinas en semillas.

Las giberelinas son catalogadas como fitorreguladores, son esencialmente hormonas que regulan el crecimiento vegetal en los procesos metabólicos de la planta, en la germinación actúan como promotores de la regulación enzimática. Esta hormona se sintetiza en las partes jóvenes de la planta, así como en raíces y semillas (Ramos et al., 2010).

El ácido giberélico (AG3) actúa en el control y promoción de la germinación de las semillas; tiene la capacidad de romper la latencia de las mismas y puede reemplazar la

necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Saldívar et al., 2010).

En semillas de *Vaccinium meridionale* (mortiño), se obtuvo un mayor porcentaje de germinación con la aplicación de AG3 en concentración de 200 mg l⁻¹, en comparación al testigo en diferentes estados de madurez y en semillas maduras la germinación con AG3 en la misma dosis fue notablemente superior en comparación al tratamiento control (Buitrago et al., 2015). Taiz & Zeiger (2006) explican que la maduración de frutos está influenciada por el incremento de ácido abscísico, el cual también actúa como regulador de dormancia de semilla, por el contrario, el AG3 actúa como antagonico de ABA y promueve su germinación.

4. Materiales y métodos

4.1 Área de estudio.

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de propagación *in vitro* de plantas de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

El material vegetal se obtuvo en los cantones Paute- Guachapala y Sígsig (Parroquia Jima) de la provincia del Azuay.

4.2 Recolección de semillas.

Se recolectaron en campo frutos de *M. rupestris*, basados en el color y textura éstos se clasificaron en tierno (suave y color verde), semi maduro (suave tornándose color violeta) y maduro (suave y color morado intenso) como se indica en la Figura 1. Se realizó la extracción y despulpado de las semillas en sus diferentes estados de madurez, estas se dejaron secar a la sombra sobre una cartulina por 72 horas. Las semillas secas fueron almacenadas en tubos de polipropileno de 1.5 ml y respectivamente etiquetadas con datos referentes a la fecha de almacenamiento, estado de madurez y temperatura.



Figura 1.

Estados de madurez de frutos de Macleania rupestris

(A) Frutos en estado tierno. (B) Frutos en estado semi maduro. (C) Frutos en estado maduro.

4.3 División de lotes

Se obtuvo un lote homogéneo de semillas para cada estado de madurez (tierno, semi maduro, maduro) cada uno de estos fue dividido en 10 sublotes. Previo al almacenamiento de las semillas en las diferentes temperaturas, se realizó la siembra de un sublote por cada estado de madurez, que sirvió como control. Para el tratamiento de control se sembraron 4 repeticiones sin AG3 y 4 repeticiones con AG3, los sublotes de semillas restantes fueron almacenados a 3 diferentes temperaturas (temperatura ambiente, 4°C y -18°C) colocando 3 sublotes (tubos de polipropileno de 1.5 ml) por estado de madurez y temperatura.

4.4 Desinfección de semillas

Previo a la siembra en cajas Petri, las semillas se sometieron a una desinfección, para ello fueron sumergidas en una solución de etanol al 70 % por tres minutos, luego por 10 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5 % + 2 gotas de Tween 20 y finalmente se lavaron 3 veces con agua destilada estéril para eliminar los residuos de hipoclorito de sodio. Por el pequeño tamaño de las semillas este proceso se realizó dentro de una jeringa de 60 ml, todo este proceso se realizó en la cabina de flujo laminar para evitar cualquier tipo de contaminación (Torres et al., 2010).

4.5 Ensayo de germinación

Previamente se esterilizaron en autoclave a 120°C y 1 atm de presión cajas Petri que contenían papel toalla, jeringas de 60 ml y agua destilada. En cada caja Petri, usando

la jeringa que contenían las semillas desinfectadas, se colocaron aproximadamente 100 a 120 semillas que se distribuyeron homogéneamente sobre la superficie del papel que enseguida fue humedeciendo con 2 ml de una solución de ácido giberélico (AG3 10 ppm). En ensayos previos se determinó la concentración de AG3 necesaria para mejorar el porcentaje de germinación. Las cajas con las semillas se mantuvieron en el cuarto de cultivo con una temperatura aproximada de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ y con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Luego de 4 semanas se registró el número de semillas germinadas. Este procedimiento de siembra se realizó en todos los tratamientos y se repitió luego de 2, 4 y 6 semanas del almacenamiento.

4.6 Monitoreo de germinación y mantenimiento de los ensayos

Para mantener la humedad de las semillas en las cajas Petri, constantemente se agregó agua destilada estéril a todas las cajas según la necesidad, este procedimiento se realizó dentro de la cabina de flujo laminar.

Para evaluar la capacidad germinativa, se contaron las semillas luego de la siembra, en cada una de las repeticiones, y luego de 4 semanas se contabilizaron las semillas que germinaron. Las semillas se consideraron germinadas cuando se observó la emergencia de la radícula.

4.7 Análisis estadístico

Se realizaron 3 experimentos por separado, uno por cada estado de madurez del fruto. Cada experimento se desarrolló usando un diseño completamente al azar en arreglo factorial de 3×3 (3 temperaturas: temperatura ambiente, 4°C y -18°C , y 3 tiempos de almacenamiento: 2, 4 y 6 semanas). Adicionalmente, se sembró un grupo control con las semillas recién extraídas (sin almacenar) con y sin AG3 (10 ppm); mientras que, en todos los tratamientos con almacenamiento se incluyó AG3 10 ppm.

Los datos se analizaron en el software RStudio 2023, cuando los datos presentaron una distribución normal se sometieron a pruebas paramétricas Anova y test de Tukey, mientras que aquellos que no cumplieron con la distribución normal se analizaron con la prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

5. Resultados y Discusión

5.1 Efecto del ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de *M. rupestris* previo a su almacenamiento en 3 estados de madurez

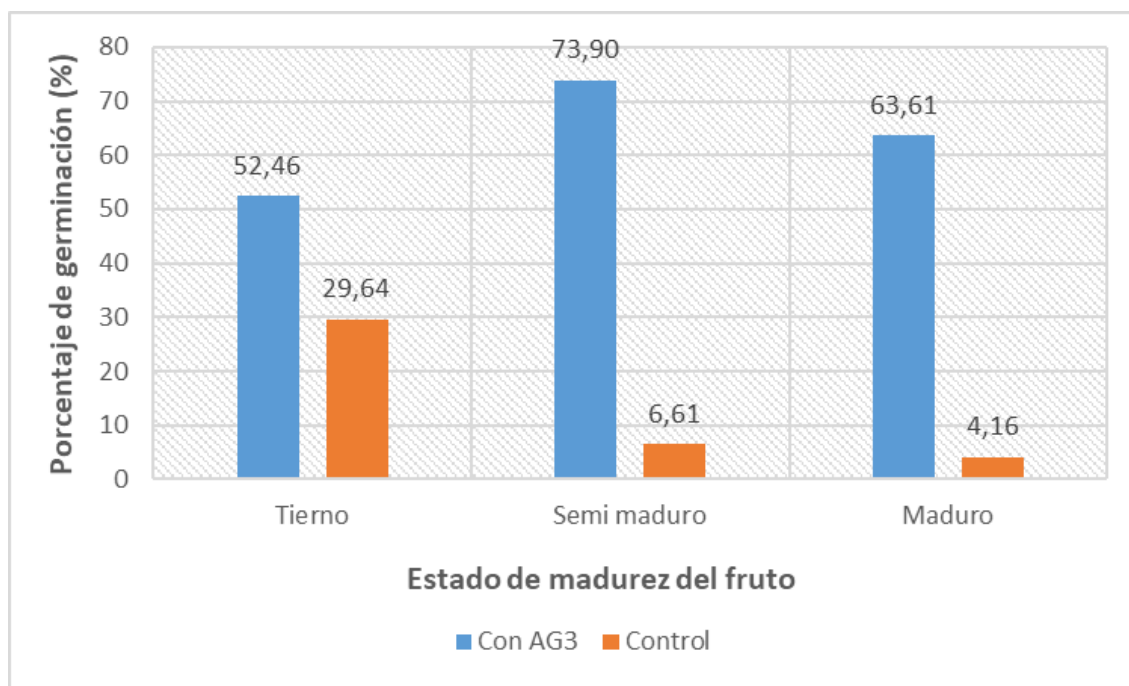


Figura 2.

Germinación de semillas de *M. rupestris* obtenidas de frutos tiernos, semi maduros y maduros tratados con y sin AG3 (10 ppm) antes de su almacenamiento (Control).

Los resultados muestran mayor porcentaje de germinación en las semillas tratadas con AG3 en todos los estados de madurez del fruto, en comparación con las que no fueron expuestas al ácido giberélico. Se pudo evidenciar que el AG3 rompe la latencia de la semilla acelerando su germinación (Willis et al., 2014), resultados similares reportaron Buitrago et al. (2015), quienes concluyeron que en semillas de *Vaccinium meridionale* se obtiene mayor germinación con aplicación de ácido giberélico pues esta fitohormona ayuda a superar parcialmente la latencia de estas semillas. Además, se evidenció que el AG3 en las semillas actúa como antagonista del ácido abscísico promoviendo la germinación (Taiz & Zeiger, 2006). El ácido giberélico en una dosis de $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ estimuló la germinación temprana de semillas de *V. myrtillus* en un 84,4% en presencia o ausencia de luz en comparación con el control (Ciordia et al., 2006).

Adicionalmente, se pudo observar que las semillas de frutos semi maduros recién recolectados y sin ser almacenados, presentaron mayor porcentaje de germinación (73,90%) que los demás estados de madurez (tierno y maduro) Figura 2.

5.2 Germinación de semillas en frutos tiernos

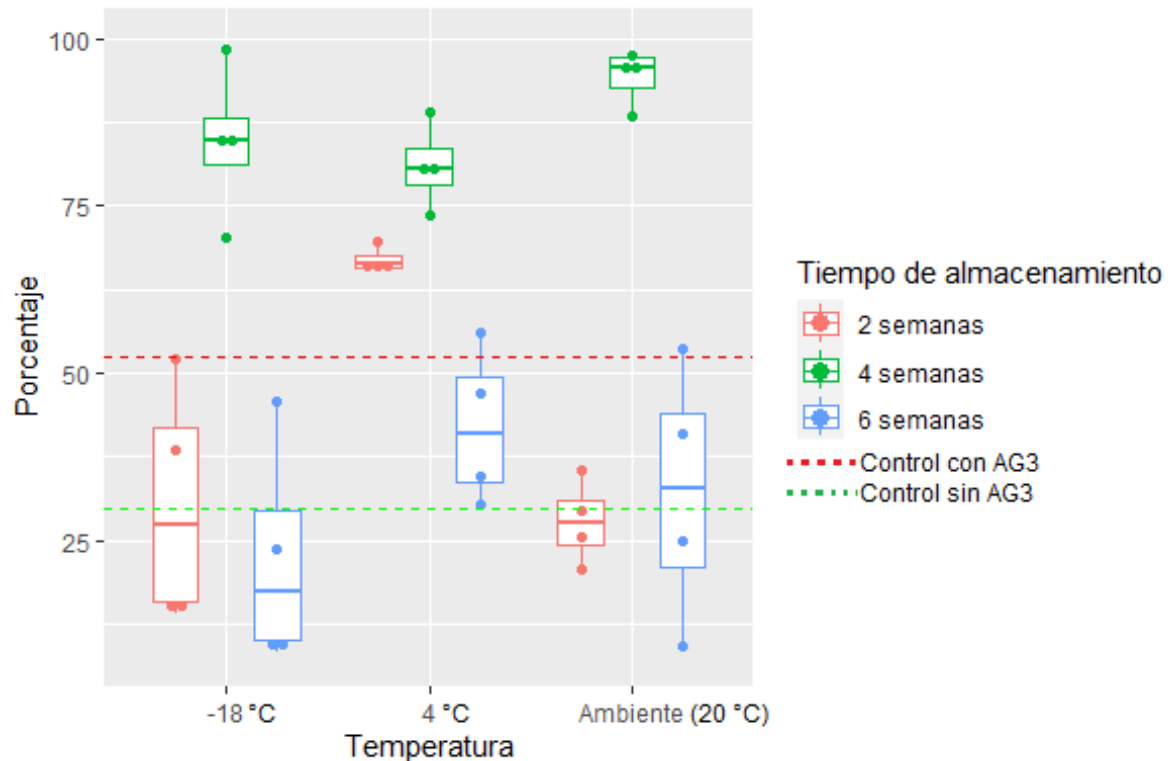


Figura 3.

Germinación de semillas de frutos tiernos en conservadas a -18°C, 4°C y temperatura ambiente por 2,4,6 semanas.

Los datos no presentaron una distribución normal ni homogeneidad de varianzas, por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis donde el p-valor fue de 0.0002672, lo que indica diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos aplicados.

En semillas tiernas, los resultados mostraron que independientemente de la temperatura de almacenamiento las semillas conservadas por 4 semanas presentaron mayor porcentaje de germinación ya que no existe diferencias estadísticamente significativas a este tiempo de almacenamiento, en comparación a las semillas almacenadas por 2 y 6 semanas; antes o después de este tiempo el porcentaje de germinación se reduce un 62,04% (Figura 3), siendo los porcentajes de germinación luego del almacenamiento por 4 semanas superiores incluso a los que se obtuvieron antes del almacenamiento.

Estos resultados sugieren que en este tipo de frutos algunos procesos fisiológicos suceden durante las 4 primeras semanas, favoreciendo el proceso de germinación.

Probablemente, la germinación en semillas de frutos tiernos se encuentra atravesando por la etapa de embriogénesis, en la que el contenido de ácido abscísico (ABA) es muy bajo, ya sea por mutaciones, inhibición química de la biosíntesis o secuestro de ABA, incluso el grado de madurez del fruto (Azcón & Talón, 2013). Finkelstein (2008), explica que el ABA induce la latencia cuando el embrión llega a la etapa de madurez, es por ello que inhibe la germinación y marca el inicio de la latencia.

5.3 Porcentaje de germinación en el estado de madurez Semi maduro

Los datos presentaron una distribución normal, por lo que se aplicó la prueba paramétrica ANOVA, y el test de Tukey para evidenciar las diferencias significativas entre las diferentes temperaturas. Los resultados indican la presencia de interacciones entre las variables de Temperatura y Tiempo, es decir, el efecto de la temperatura depende del tiempo de almacenamiento ya que como se observa en la Figura 4. no sigue la misma tendencia en todos los tratamientos.

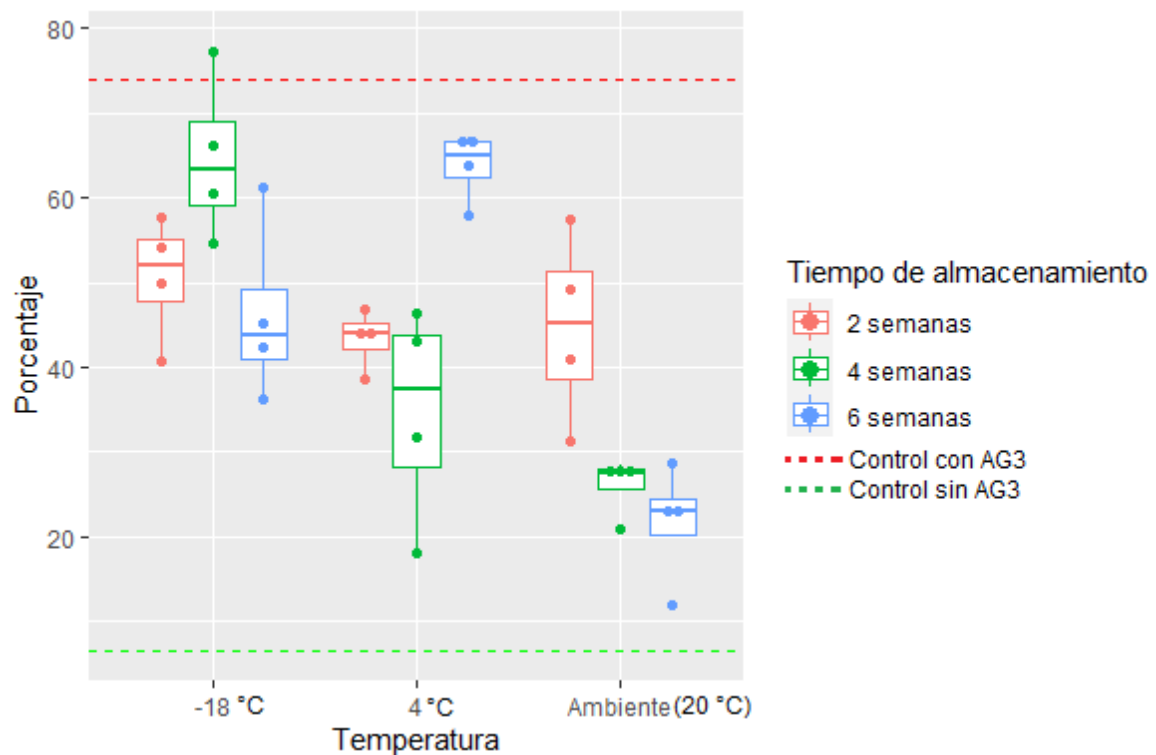


Figura 4.

Germinación de semillas de frutos semi maduros luego de su conservación a -18°C, 4°C y temperatura ambiente por 2,4 y 6 semanas

En la Figura 4, se puede observar que las semillas de frutos semi maduros almacenadas por 2 semanas no presentan un efecto significativo de la temperatura en la germinación; cuando las semillas se almacenaron por 4 semanas, se obtuvo diferencias estadísticamente significativas a -18 °C (64,67%) y conforme se incrementó la temperatura de almacenamiento, el porcentaje de germinación se redujo. Las semillas almacenadas por 6 semanas presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de germinación obtenidos a diferentes temperaturas de almacenamiento, el mejor porcentaje de germinación se obtuvo a 4 °C (63,82%), evidenciándose un efecto de la temperatura en la viabilidad de semillas.

Resultados similares fueron obtenidos por parte de Flores et al. (2017), quienes para superar la latencia sometieron semillas de *Juglans nigra* a diferentes métodos de estratificación, obteniendo que la estratificación en frío-húmedo a una temperatura de 4°C, produjo diferencias altamente significativas en todas las variables analizadas, entre ellas el porcentaje de germinación, el cual disminuye conforme se prolonga el tiempo de

almacenamiento. Así mismo, una temperatura de 4°C fue reportada como la óptima para el almacenamiento y la conservación de la viabilidad en semillas de orquídeas (Cárdenas et al., 2014).

De acuerdo con la investigación de Flynn et al. (2006), se puede considerar que las semillas de la familia Ericaceae tienen una naturaleza ortodoxa debido a su capacidad para resistir la deshidratación y la conservación en ambientes fríos.

5.4 Porcentaje de germinación en semillas de frutos maduros

Los datos presentaron una distribución normal, por lo que se aplicó un test ANOVA y la prueba de Tukey indicó la presencia de interacciones significativas entre las variables de temperatura y tiempo, debido a que el efecto de la temperatura depende del tiempo de almacenamiento como se observa en la Figura 5.

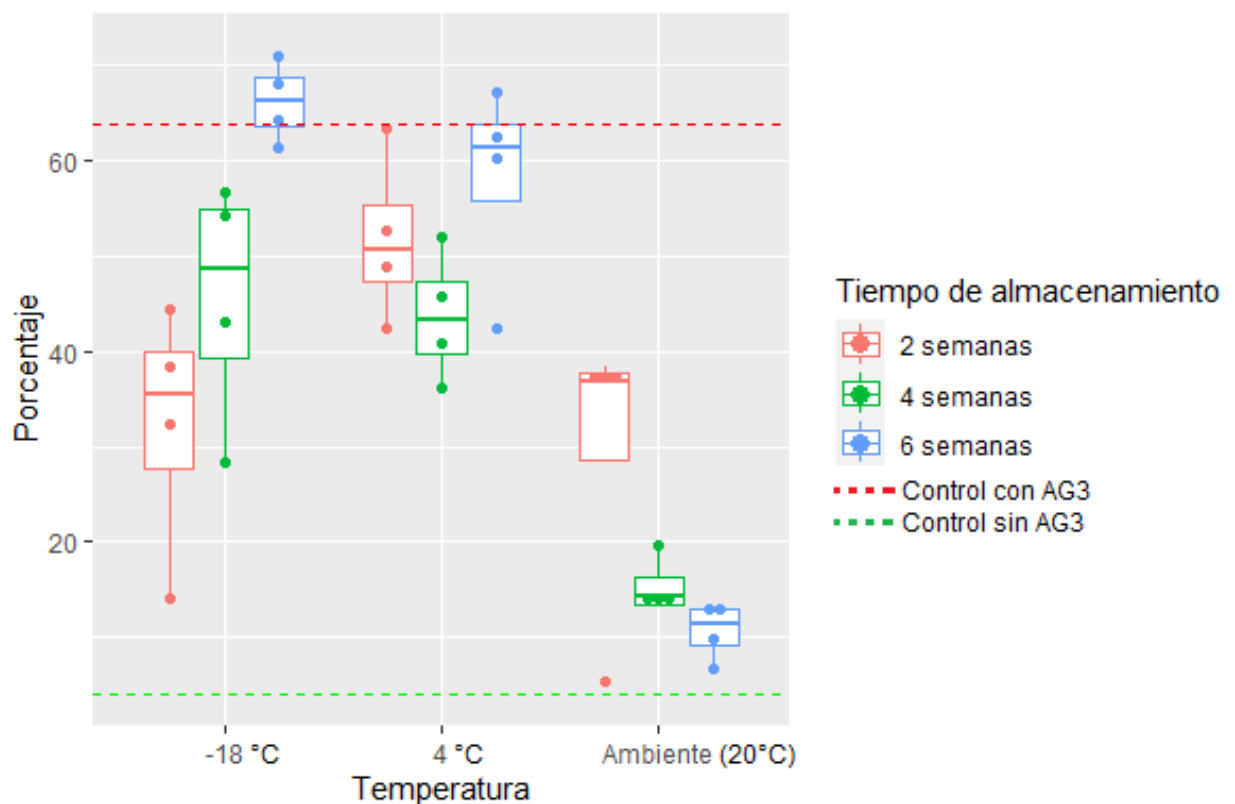


Figura 5.

Germinación de semillas de frutos maduros conservados a -18°C, 4°C y Temperatura ambiente por 2,4,6 semanas

En la Figura 5. Se puede observar que en semillas almacenadas por 2 semanas la temperatura no tiene un efecto significativo, mientras que en las semillas almacenadas

por 4 y 6 semanas el porcentaje de germinación baja conforme la temperatura aumenta. Las semillas almacenadas por 6 semanas a -18°C , presentaron mayor porcentaje de germinación (66,03%), no obstante, este no fue estadísticamente diferente del porcentaje alcanzado a 4°C , por lo que para efectos de conservación de germoplasma ambas temperaturas podrían ser adecuadas para almacenamientos de hasta 6 semanas.

Pulatkan et al. (2022) reportaron que en semillas maduras de *Epigaea gaultherioides*, la germinación fue del 80% cuando se almacenaron a 4°C por 16 meses, y se notó un descenso drástico de germinación a los 28 meses, con solo el 17,78%, además, no se observó germinación (0%) en tratamientos que no fueron tratados con AG3. Además, menciona que semillas con latencia intermedia o profunda responden mejor a la aplicación de AG3, acompañada de la estratificación sea esta cálida o fría según la especie.

Por otra parte, mientras que la latencia primaria se adquiere inmediatamente después de la maduración de la semilla, las semillas que superan la latencia primaria y son expuestas a condiciones de temperatura desfavorables o que carecen de luz o nitratos adecuados pueden entrar en un estado de latencia secundaria. Además, las semillas pueden experimentar un ciclo de latencia estacional si las condiciones son subóptimas, ganando o perdiendo progresivamente la latencia hasta que eventualmente germinan o mueren (Melo, 2007).

La reducción en la capacidad de germinación de las semillas puede tener varias causas, como la pérdida de integridad de las membranas celulares debido a la disminución de los niveles de fosfolípidos, carbohidratos y proteínas en las semillas. Esto conduce a cambios en la estructura y el funcionamiento de las semillas, lo que provoca una disminución en la permeabilidad y la pérdida de su integridad y fluidez (Melo, 2007).

Tabla 1.

Porcentajes de germinación en los 3 estados de madurez (Tierno, Semi Maduro y Maduro) después del almacenamiento a diferentes temperaturas (TA, -18°C, 4°C) y tiempos.

Tierno			
	Temperatura ambiente	4 °C	-18°C
2 semanas*	27,79%	66,92%	30,23%
4 semanas	94,20% a	80,97% a	84,52% a
6 semanas	32,16% a	42,01% a	22,12% a
Semi maduro			
	Temperatura ambiente	4 °C	-18°C
2 semanas	44,75% a	43,34% a	50,67% a
4 semanas	26,13% b	34,83% b	64,67% a
6 semanas	21,63% c	63,82% a	43,31% b
Maduro			
	Temperatura ambiente	4 °C	-18°C
2 semanas	29,38% a	51,74% a	32,34% a
4 semanas	15,42% b	43,6% a	45,51% a
6 semanas	10,73% b	58,01% a	66,03% a

Nota. Promedios con letras distintas para cada tratamiento, representan diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Solamente para semillas almacenadas durante 2 semanas en estado tierno se analizó mediante la prueba de Kruskal Walis, como prueba no paramétrica y se encontró diferencias estadísticas significativas.

En general, el estado de madurez tierno fue el que presentó mayor porcentaje de germinación luego del almacenamiento (94,20%) al considerar todos los tratamientos evaluados, contrario a lo reportado por Buitrago et al. (2015), quienes reportaron mayor porcentaje de germinación en semillas de *Vaccinium meridionale* en el estado de madurez 3, con epidermis roja, (66%) frente los estados de madurez 1 (verde), 4 (morado rojizo) y 5 (morado oscuro) posterior al almacenamiento.

Tovar et al. (2014) concluyen que el estado de madurez de frutos de *A. xalapensis* Kunth influye sobre la germinación de semillas, demostrando mayor germinación de semillas provenientes de frutos intermedios frente a la germinación en semillas de frutos inmaduro y maduros, por lo que consideran qué frutos con mayor estado de madurez, tienen menor poder germinativo, concluyendo que el estado de madurez del fruto influye en la germinación de las semillas. Resultado que también observaron Pérez et al. (2012), en semillas de *P. ixocarpa* Brot. cosechadas en tres estados de desarrollo del fruto (45, 55 y 65 días después de la polinización), evidenciando que el estado de madurez del fruto influye en la capacidad de la semilla para germinar.

Resultados similares reporta Calvo (2012), en su estudio titulado Caracterización morfológica y fisiológica de semillas y plántulas de *M. rupestris* (Kunth) A.C. Smith, quien menciona que el grado de madurez influye al momento de obtener semillas de calidad, viabilidad y respuesta germinativa. Debido a que el grado de madurez 1 caracterizado por poseer una coloración intensa más oscura presentó un mayor porcentaje de germinación del 64% en comparación al grado 2 caracterizado por una tonalidad más clara.

Por otra parte, Pérez et al. (2005) evidenciaron que el almacenamiento de las semillas de *P. ixocarpa* tuvo un efecto negativo sobre la germinación y la viabilidad de las semillas, además, las pruebas de viabilidad no mostraron diferencias en la viabilidad de semillas maduras e inmaduras previo a los tratamientos, sin embargo, después de 3.5 meses en el cuarto de germinación, únicamente permanecieron viables aquellas semillas provenientes de frutos inmaduros.

Podemos explicar qué la dormancia primaria se refiere a las semillas que no pueden germinar en el momento de la dispersión de la planta madre, mientras qué, la dormancia secundaria o inducida se produce en semillas maduras hidratadas cuando experimentan ciertas condiciones ambientales específicas (luz, temperatura y oxígeno) después de haber pasado por un periodo de dormancia primaria. La dormancia se puede superar con tratamientos como la luz, la estratificación y la escarificación. En el caso de las semillas nativas, se ha observado que son difíciles de germinar debido a la presencia de inhibidores, que pueden ser causados por una capa dura en la semilla que evita la entrada de agua, embriones inmaduros o inhibidores en la capa de la semilla, o embriones que bloquean las vías bioquímicas para la germinación (dormancia verdadera) (Rowarth et al., 2007).

Hernández et al. (2012) reportan mayor porcentaje de germinación luego del almacenamiento a 10°C en semillas de *V. meridionale* por su comportamiento ortodoxo. Así lo corrobora Araméndiz et al. (2017), con mayores porcentajes de germinación a una temperatura de 6°C en semilla de *M. oleífera* hasta por 360 días.

Con respecto a la temperatura de almacenamiento existen protocolos para aumentar la longevidad de semillas disminuyendo la temperatura y el contenido de agua, como lo indican las Reglas de Harrington, se menciona que la longevidad de una semilla se duplica por cada cinco grados centígrados que se disminuye su temperatura de conservación, además, cada unidad porcentual que se rebaje en el contenido de humedad de una semilla, duplica su longevidad (Pérez & Pita, 2001).

Como una observación adicional, no originalmente planificada, durante el desarrollo del experimento después de analizar la apariencia de las semillas de *M. rupestris* al estereoscopio, se observó que al cabo de una semana de haber realizado la prueba de germinación en todas las temperaturas y tiempos se observaron semillas que permanecieron de color blanco y otras presentaron una coloración oscura. Se evidenció que las semillas de color blanco germinan en mayor proporción frente a las semillas de color oscuro en las que su germinación fue casi nula (Tabla 2.). Este comportamiento no se evidenció en estado tierno, solamente se presentó en estado semi maduro y maduro y podría sugerir diferencias en el estado fisiológico de las semillas no aparentes al momento de la extracción y que pueden afectar la germinación.

Tabla 2.

Porcentajes de germinación de semillas blancas y oscuras a los 3 estados de madurez (Tierno, Semi Maduro y Maduro) después del almacenamiento a diferentes temperaturas (TA, -18°C, 4°C).

Blancas	Oscuras
---------	---------

Estado de madurez	Total de semillas	Germinadas (%)	No Germinadas (%)	Germinadas (%)	No Germinadas (%)
Tierno	4455	52,23	47,77	0,00	0,00
Semi maduro	6671	42,89	20,40	0,15	36,56
Maduro	5795	37,72	18,93	0,50	42,85

En la Tabla 2, se observa el análisis de germinación de semillas blancas y oscuras en los estados semi maduro y maduro, en estado tierno no se presentó este comportamiento. Las semillas blancas de frutos semimaduros presentaron un porcentaje de germinación de 42,89%, además las semillas blancas no germinadas representan el 20,40%. Por otro lado, las semillas con tonalidad oscura tuvieron un porcentaje de germinación muy bajo de sólo el 0,15%. En estado maduro (Tabla 2), el porcentaje de germinación de semillas blancas alcanzó el 37,72%, mientras que las semillas de tonalidad negra presentaron un porcentaje de germinación de 0,50%, siendo superior el porcentaje de semillas no germinadas. Como se puede notar, proporcionalmente, estos resultados podrían indicar el establecimiento de condiciones fisiológicas diferentes en las semillas de *M. rupestris* conforme su desarrollo avanza desde un estado tierno hacia su estado maduro.

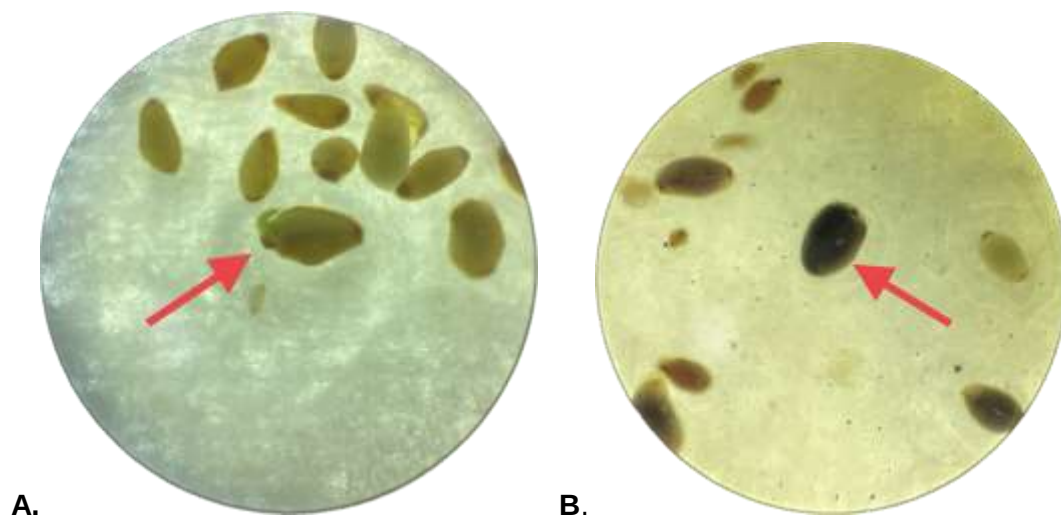


Figura 6.

Coloración de semillas de frutos semi maduros

(A) Semilla de *M. rupestris* de estado semi maduro con tonalidad blanca (viable).

(B.) con tonalidad negra (no viable).

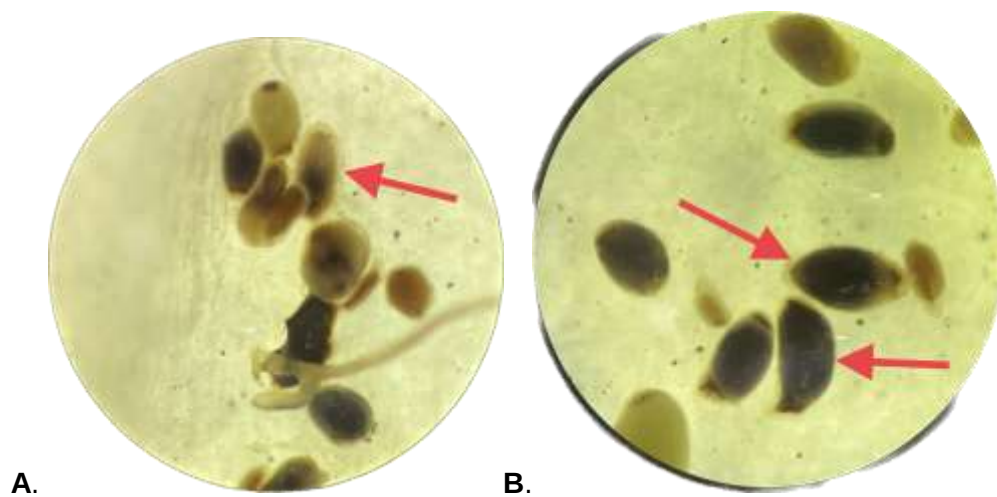


Figura 7.

Coloración de semillas de frutos maduros

(A) Semilla de *M. rupestris* de estado maduro con tonalidad blanca/negra y viable. (B.)

Semilla con tonalidad negra y no viable.

Conclusiones

En cuanto al estado de madurez, las semillas de frutos semi maduros recolectados y sin almacenamiento (control) tuvieron el mayor porcentaje de germinación frente a los demás estados de madurez. Mientras que, posterior al almacenamiento en diferentes tiempos y temperaturas el estado tierno es el que obtuvo mayor porcentaje de germinación respecto a los demás estados (semi maduro y maduro), debido a que en los últimos se presentaron semillas de otra tonalidad oscura con germinación nula.

Respecto a la forma de conservación (temperatura y tiempo).

En semillas de frutos en estado tierno, almacenadas por 2 semanas la mejor temperatura fue 4°C, mientras que si se almacenan por 4 semanas no existe diferencias significativas en el porcentaje de germinación luego de su almacenamiento en las diferentes temperaturas evaluadas, al almacenar por 6 semanas el tratamiento a 4°C, presentó los mejores porcentajes de germinación, sin embargo se pudo evidenciar que el porcentaje de viabilidad disminuye acorde se prolonga el tiempo de conservación a esta temperatura.

Respecto al estado de madurez, es destacable que el almacenamiento por 4 semanas de las semillas tiernas produjo porcentajes de germinación superiores incluso al control en las tres temperaturas evaluadas, por lo que el simple almacenamiento de la semilla por este periodo podría considerarse un tratamiento para mejorar la germinación.

En semillas de frutos semi maduros almacenadas por 2 semanas cualquier temperatura es adecuada y por 4 semanas la temperatura óptima registrada fue la de -18°C. Cuando se prolongó el tiempo de almacenamiento a 6 semanas el tratamiento a 4°C fue el más apropiado.

Las semillas de frutos maduros se pueden almacenar por 2 semanas en cualquiera de las temperaturas evaluadas debido a que no existen diferencias significativas en los porcentajes de germinación obtenidos, mientras que a 4 y 6 semanas los porcentajes de germinación se redujeron significativamente cuando se conservaron a temperatura ambiente, por lo que se sugiere almacenar a 4 o -18°C.

Adicionalmente, se observó que después de una semana de la prueba de germinación algunas semillas de estado semi maduro y maduro presentaron tonalidad oscura, con prácticamente nula germinación, este proceso fisiológico probablemente indica que las

semillas entran en un estado de latencia ya sea primaria o secundaria, posiblemente inducido por la presencia de ácido abscísico u otros factores propios del desarrollo de la semilla y de la especie. Cabe mencionar que se descarta que este comportamiento se deba al proceso de desinfección, ya que en semillas de frutos tiernos no se presentó este comportamiento teniendo en cuenta que la solución fue la misma para todos los estados de madurez.

Recomendaciones

Continuar con las pruebas de germinación por un tiempo de almacenamiento más prolongado para establecer la viabilidad límite de las semillas conservadas *ex situ*.

Adicional, las semillas de frutos tiernos se pueden obtener en mayor cantidad, ya que se encuentran más accesibles en su hábitat natural, por el contrario, las semillas semi maduras y maduras son muy consumidas tanto por aves, osos, así como como por personas aledañas a la zona, lo que hace difícil su colecta.

Referencias

- Abril, D. (2010). *Las Ericáceas son frutos comestibles del Altiplano Cundiboyacense*.
- Agustí, M. (2004). *Fruticultura* (Mundi-Prensa ed.).
- Alizaga, R. E. (1989). *Avaliacao de testes de vigor em sementes de feijao e suas relacoes com a emergencia a campo* /. Ministerio da Educacion.
- Araméndiz, H., Cardona, C., & Ruíz, A. (2017). Efecto del almacenamiento en la calidad fisiológica de semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n1.2017.65>
- Alvear, D. A. (2021). *Reconocimiento de la importancia y uso de bancos de germoplasma como fuente de genes para el mejoramiento genético de especies vegetales*, Babahoyo, 2021]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/9376>
- Azcón, J., & Talón, M. (2013). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (2da ed.). Departamento de Biología Vegetal.
- Baena, M., Jaramillo, S., & Montoya, J. (2003). *Capacitación en conservación In Situ de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas*.
- Berkelaar, E. (2005). Cómo prolongar la vida de sus semillas. ECHOcommunity. <https://www.echocommunity.org/resources/af7cf233-9e26-4fa1-8bca-eadd5bf4b96b>
- Buitrago, C. M., Rincón, M. C., Balaguera, H. E., & Ligarreto Moreno, G. A. (2015). Tipificación de Diferentes Estados de Madurez del Fruto de Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7521-7531. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47840>
- Calvo, C. (2012). Caracterización morfológica y fisiológica de semillas y plántulas de *Macleania rupestris* (Kunth) A.C. Smith. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/11876>
- Cárdenas, S., Cerna, M., Cruz, A., & Jacome, I. (2014). Colección de germoplasma de especies de la familia Orchidaceae del cantón Santiago de Méndez. *LA GRANJA*. <https://doi.org/10.17163.lgr.n20.2014.01>
- Ciordia, M., Lucas, M. de, Mateos, V., Rodríguez, L., García, J. C., & Majada, J. (2006). Optimization of germination requirement and seed production of wild-type *Vaccinium*

myrtillus. *Acta Horticulturae.*
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Optimization+of+germination+requirement+and+seed+production+of+wildtype+Vaccinium+myrtillus&author=Ciordia%2C+M.&publication_year=2006

Corzo, D. (2014). *Estudio del comportamiento poscosecha de Macleania rupestris (kunth), en diferentes tipos de envases y condiciones de temperatura.* 15(1), 77-82.

De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Marcía, M., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador* (1.^a ed.). Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus.

De Lozano, N., & De Valencia, M. (1992). *Anatomía floral de Macleania rupestris (h.b.k.) a.c. Smith (uva camarona)* [Revista UNAL].
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/33959>

De Valencia, M. L., & De Carrillo, N. (1991). *Anatomía del fruto de Macleania rupestris (h.b.k.) a.c. Smith (uva camarona).* <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/33859>

FAO, & IPGRI. (1994). *Plant Production and Protection Division: Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture.*
<https://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/seeds-pgr/gbs/en/>

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

Flores, P., Poggi, D., García, S., Catraro, M., & Gariglio, N. (2017). Ruptura de la dormición y exigencias de luz para la germinación de semillas de *Juglans nigra*. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 16(2), 33-46.

Flynn, S., Turner, R. M., Stuppy, W. H. 2006: Seed Information Database (release 7.0, Oct. 2006)

Gallo, F. (1993). Índice de madurez para piña cayena lisa, guanábana, pitaya amarilla y maracuyá. (Agro-Desarrollo ed., Vol. 4 (1-2)).

- Gámez, A. J., de la O, M., Santacruz, A., & López, H. (2014). Conservación in situ, manejo y aprovechamiento de maíz Palomero Toluqueño con productores custodios. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(8), 1519-1530
- García, C., Farrera, M. Á., Paradela, T. M., & Garrido- Ramírez, E. R. (2013). Viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas nativas de la selva tropical, Chiapas, México. *Polibotánica*, 36, 117-127.
- Gentil, D. (2001). Conservación de semillas de café. *Scielo*, 3(60), 149-154.
- González, S., & González, S. (2014). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Pátzcuaro, Michoacán, México: Instituto de Ecología A.C.
- Hernández, M. I., Lobo, M., Medina, C. I., Cartagena, J. R., & Delgado, O. A. (2009). Comportamiento de la germinación y categorización de la latencia en semillas de mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 15-23.
- Hernández, M. I., Lobo, M., Medina, C. I., & Cartagena, J. R. (2012). Andean Blueberry (*Vaccinium Meridionale* Swartz) Seed Storage Behaviour Characterization Under Low Temperature Conservation. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(2), 6627-6635.
- Holdsworth, M. J., Bentsink, L., & Soppe, W. J. J. (2008). Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist*, 179(1), 33-54. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02437.x>
- Huamantupa, I., & Cuba, M. (2011). Tres nuevos registros de la familia Ericaceae para la flora peruana. *Rev. QEUÑA. ISSN 2412-2297*, 4, 07-13.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (2021). *El Banco de Germoplasma del INIAP conserva el patrimonio genético para la soberanía alimentaria nacional* –. <https://www.iniap.gob.ec/el-banco-de-germoplasma-del-iniap-conserva-el-patrimonio-genetico-para-la-soberania-alimentaria-nacional/>
- Lagos, T. C., Ordóñez, H., Criollo, H., Burbano, S., & Martínez, Y. (2010). Descripción de frutales nativos de la familia Ericaceae en el altiplano de Pasto, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i1.1221>

Ley 0 de 2017. LEY ORGÁNICA DE AGROBIODIVERSIDAD, SEMILLAS Y FOMENTO DE LA AGRICULTURA SUSTENTABLE. 10 de agosto de 2017.

León, S., Valencia, R., Pitmam, N., Endara, L., Ulloa, C., & Navarrete, H. (2017). *Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador*. Quito-Ecuador: Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Lobo, M., & Medina, C. (2009). Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 10(1), 33-42. https://doi.org/10.21930/rcta.vol10_num1_art:126

Luteyn, J. L., & Pedraza, P. (2014). Blueberry Relatives of the New World Tropics (Ericaceae). *The New York Botanical Garden*. <https://sweetgum.nybg.org/science/projects/ericaceae/>

Magos, J., Maxted, N., Ford, B. V., & Martins, M. A. (2008). National inventories of crop wild relatives and wild harvested plants: Case-study for Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(6), 779-796. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9283-9>

Melo, V. (2007). *Bioquímica de los procesos metabólicos 2a. Ed. - Editorial Reverté S.A.* Editorial Reverté. https://www.reverte.com/libro/bioquimica-de-los-procesos-metabolicos-2a-ed_91546/

Niculcar, R., Latorre, K., & Vidal, O. J. (2015). Conservación ex situ plantas en el banco de germoplasma SAG-Magallanes: Una herramienta para la restauración ecológica. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 43(1), 109-113. <https://doi.org/10.4067/S0718-686X2015000100008>

Patiño, C., Jiménez, J., Marín, F., & Palomeque, X. (2019). Respuesta de semillas de tres especies nativas altoandinas a diferentes condiciones de almacenamiento. *Maskana*, 10(2), Artículo 2. <https://doi.org/10.18537/mskn.10.02.07>

Pérez, E., Ceballos, G., & Calvo, L. M. (2005). Germinación y supervivencia de semillas de *Thrinax radiata* (Arecaceae), una especie amenazada en la Península de Yucatán. *Botanical Sciences*, 77, 9-20. <https://doi.org/10.17129/botsci.1709>

Pérez, F., & Pita, J. M. (2001). *Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=124370>

- Pérez, I., González, V. A., Ayala, Ó. J., Carrillo, J. A., Santos, G. G. de los, Peña, A., & Cruz, E. (2012). Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(1), 67-78.
- Plucknett, D. L., Williams, J. T., Smith, N. J. H., & Anishetty, N. M. (1992). *Los bancos genéticos y la alimentación mundial*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/54128>
- Pulatkan, M., Çimen, N., Kurt, U., & Turna, İ. (2022). The effects of GA3 and storage time on the germination of *Epigaea gaultherioides* (Ericaceae) seeds. *Baltic Forestry*, 28(1), Article 1. <https://doi.org/10.46490/BF591>
- Ramos, P., Rubio, M., Rocha, G., Rodríguez, S., Santana, V., & Quintero, A. (2010). Efecto del ácido giberélico sobre la producción hidropónica del tomate variedad Gabriela: *TECNOCENCIA Chihuahua*, 4(2), Artículo 2. <https://doi.org/10.54167/tch.v4i2.718>
- Rao, N. K. (2004). Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.4314/ajb.v3i2.14931>
- Rowarth, J. S., Hampton, J. G., & Hill, M. J. (2007). New Zealand native seed germination requirements: A review. *New Zealand Journal of Botany*, 45(3), 485-501. <https://doi.org/10.1080/00288250709509732>
- Saldívar, P., Laguna, A., Gutiérrez, F., & Domínguez, M. (2010). Ácido giberélico en la Germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. Gentry. *Agronomía Mesoamericana*, 21(2), 327-331.
- Salinas, N. R., Betancur, J., Farfán, J., Gutiérrez, A., Luteyn, J. L., Pedraza Peñalosa, P., Villa García, C. M., Gaitán Uribe, M. M., Sua Tunjano, S. M., Angell, B., & Morales, M. (2005). *Las ericáceas de la vertiente pacífica de Nariño, Colombia*. Instituto de Ciencias Naturales e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt: Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales.
- Sánchez, J. G., Parra, M. A., Silva, M. F., & Pedroza, D. (2011). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad en semillas de zámota (*Coursetia glandulosa*, Gray). *Biotecnia*, 13(3), Article 3.

- Taiz, L. and Zeiger, E. (2006) Plant physiology. 4th Edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland
- Torres, M. de L., Trujillo, D., & Arahana, V. (2010). Cultivo in vitro del mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.18272/aci.v2i2.27>
- Tovar, V., Rocha, M. del C., & Delgado, P. (2014). Influencia de la maduración del fruto de *Arbutus xalapensis* kunth sobre la germinación de semillas y embriones cigóticos. *Polibotánica*, 37, 79-92.
- Veloza, C., Durán, S., Magnitskiy, S., & Lancheros, H. (2014). Rooting Ability of Stem Cuttings of *Macleania rupestris* Kunth A.C. Sm., a South American Fruit Species. *International Journal of Fruit Science*. <https://doi.org/10.1080/15538362.2014.897889>
- Walck, J. L., Hidayati, S. N., & Okagami, N. (2002). Seed germination ecophysiology of the Asian species *Osmorhiza aristata* (Apiaceae): Comparison with its North American congeners and implications for evolution of types of dormancy. *American Journal of Botany*, 89(5), 829-835. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.5.829>
- Walters, C., & Maschinski, J. (2020). *The Difference between Orthodox, Intermediate, and Recalcitrant Seed*. Obtenido de Center for Plant Conservation: <https://saveplants.org/best-practices/difference-between-orthodox-intermediate-and-recalcitrant-seed/>
- Willis, C. G., Baskin, C. C., Baskin, J. M., Auld, J. R., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., Rubio de Casas, R., & NESCent Germination Working Group. (2014). The evolution of seed dormancy: Environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *The New Phytologist*, 203(1), 300-309. <https://doi.org/10.1111/nph.12782>

Anexos

Gráfica 1.

Macleania rupestris (inflorescencias y frutos en diferentes estados de madurez)



Gráfica 3.

Estados de madurez (Tierno, semi maduro y maduro)



Gráfica 4.

Secado de semillas



Gráfica 5.

Desinfección de semillas



Gráfica 6.

Semillas sembradas



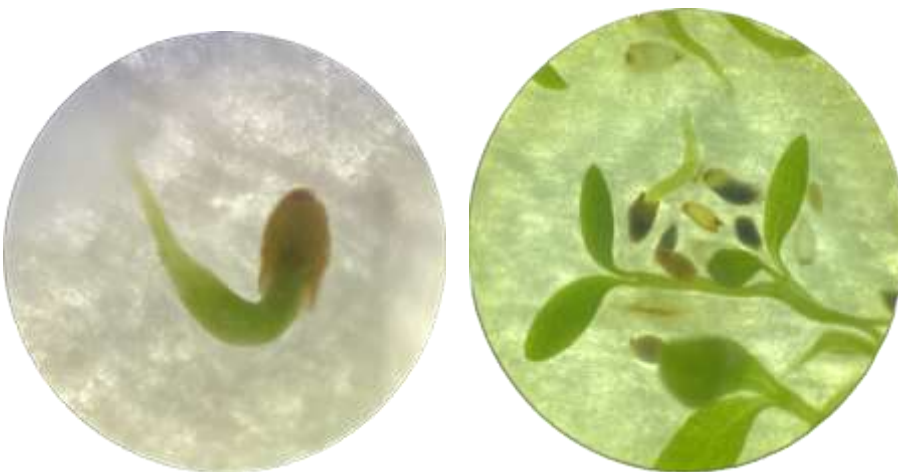
Gráfica 7.

Germinación en el cuarto de crecimiento



Gráfica 8.

Emergencia de la radícula



Gráfica 9.

Cotiledones de Macleania rupestris



Gráfica 10.

Germinación con ácido giberélico y sin ácido giberélico



Tabla 3.

Prueba de Anova para el estado de madurez semi maduro

	Df	Sum Sp	Mean Sq	F Value	Pr (>F)
Temperatura	2	3383	1691.3	13.765	5.73e-05 ***
Tiempo	1	33	32.7	0.266	0.60964
Interacción Temperatura: Tiempo	2	1913	956.3	7.783	0.00189 **
Residuo	3 0	3686	122.9		

Tabla 4.
Prueba de Anova para el estado de madurez maduro

	Df	Sum Sp	Mean Sq	F Value	Pr (>F)
Temperatura	2	7762	2881	38.300	5.50e-09 ***
Tiempo	1	303	303	2.987	0.0942
Interacción Temperatura: Tiempo	2	2742	1371	13.531	6.48e-05 ***
Residuo	3 0	3040	101		