

INFORME DE PASANTÍA

**“APOYO A LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN ESPECIES Y PROPAGACIÓN:
LONGEVIDAD DE LAS SEMILLAS DE *Weinmannia pubescens* Y ADAPTACIÓN
DE PLÁNTULAS EN SUSTRATO”**

ALEXANDRA GONZÁLEZ ESCAMILLA

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES
PROYECTO CURRICULAR DE INGENIERIA FORESTAL**

BOGOTÁ D.C.

6 DE JULIO DEL 2020

INFORME DE PASANTÍA

**“APOYO A LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN ESPECIES Y PROPAGACIÓN:
LONGEVIDAD DE LAS SEMILLAS DE *Weinmannia pubescens* Y ADAPTACIÓN
DE PLÁNTULAS EN SUSTRATO”**

ALEXANDRA GONZÁLEZ ESCAMILLA

INFORME PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO FORESTAL

DIRECTORES

FAVIO LOPÉZ BOTÍA

MARÍA MERCEDES BARROS

BOGOTÁ, D.C.

6 DE JULIO DEL 2020

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente al Señor y Dios de mi vida, por guiarme en cada uno de mis pasos y darme la fortaleza para seguir adelante en este proceso. A mi familia por su constante apoyo y amor incondicional.

A la universidad Distrital Francisco José de Caldas por darme la oportunidad de ser parte de esta institución, de formarme como profesional en uno de los más excelentes campos. Por mis maestros que aportaron todo su conocimiento en el transcurso de este camino; especialmente al docente Favio López Botía, por su dedicación y apoyo en este trabajo.

Al Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis el cual, por medio de su programa de prácticas universitarias me dio la oportunidad de poner en práctica todos los conocimientos adquiridos y contribuyó a mi aprendizaje, a los profesionales de la línea de investigación en especies y propagación: Carolina Mancipe Murillo, Manuela Calderón Hernández, Carlos Ballesteros, por afianzar mis capacidades, trasmitirme conocimientos y aportarme herramientas que serán de utilidad para mi vida profesional; a Heidy Andrea Prieto y María Mercedes Barrios por su apoyo y seguimiento, y por último a Ana Milena Torres por su apoyo en el proceso de siembra y, recolección de datos.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
Introducción	3
Antecedentes	6
Pregunta de investigación	9
Objetivos	10
General	10
Específicos	10
Hipótesis	11
Materiales y métodos	12
Resultados	16
Discusión	20
Conclusiones y recomendaciones	24
Referencias	25

RESUMEN

Una de las especies más representativas de los bosques alto andinos es *Weinmannia pubescens* Kunth. Aunque su estado de conservación no se ha evaluado, es una especie ampliamente aprovechada por las comunidades locales, lo que ha disminuido sus poblaciones y aumentando su vulnerabilidad. A partir de lo anterior se propone como estrategia de conservación el almacenamiento de semillas en bancos de germoplasma, pero la mayor limitación que surge, es respecto a la longevidad de las semillas. En el presente estudio se propuso evaluar la longevidad en semillas de *W. pubescens*. Con tal fin se llevaron a cabo dos pruebas: prueba de viabilidad en semillas con contenido de humedad de colecta (9,8%) y semillas con contenido de humedad reducido (5%) y prueba de germinación, realizada bajo tres tratamientos T1: Contenido de humedad (9,85%), T2: contenido de humedad (9,85%) y adición de GA₃ a 250 ppm, T3: contenido de humedad (5%) y adición de GA₃ a 250 ppm; así mismo se hizo seguimiento a la supervivencia y crecimiento de los individuos obtenidos de las pruebas de germinación.

No se hallaron diferencias significativas en la viabilidad en semillas almacenadas a contenido de humedad inicial (9,8%) y contenido de humedad reducido (5%), pero si se encontraron diferencias entre los periodos evaluados; con respecto a la prueba de germinación no se encontró variación en el porcentaje de germinación entre los periodos evaluados, pero si diferencias entre los tratamientos aplicados. Igualmente se tuvo una mortalidad del 39% y un crecimiento promedio de 2,55 mm semanales. En conclusión, las semillas de *W. pubescens* tienen un comportamiento de tipo ortodoxo, por tanto, pueden conservarse en bancos de germoplasma.

ABSTRACT

One of the most representative species of the high Andean forests is *Weinmannia pubescens* Kunth. Although its conservation status has not been evaluated, it is a species widely used by local communities, which has decreased its populations and increased its vulnerability. Based on the above, the storage of seeds in germplasm banks is proposed as a conservation strategy, but the greatest limitation that arises is with respect to the longevity of the seeds. In the present study it was proposed to evaluate the longevity in seeds of *W. pubescens*. For this purpose, two tests were carried out: viability test on seeds with collection moisture content (9.8%) and seeds with reduced moisture content (5%) and germination test, carried out under three T1 treatments: Content moisture (9.85%), T2: moisture content (9.85%) and addition of GA3 at 250 ppm, T3: moisture content (5%) and addition of GA3 at 250 ppm; Likewise, the survival and growth of the individuals obtained from the germination tests was monitored. No significant differences were found in viability in seeds stored at initial moisture content (9.8%) and reduced moisture content (5%), but differences were found between the evaluated periods; Regarding the germination test, no variation was found in the germination percentage between the evaluated periods, but there were differences between the applied treatments. Likewise, there was a mortality of 39% and an average growth of 2.55 mm per week. In conclusion, the seeds of *W. pubescens* have an orthodox behavior, therefore, they can be conserved in germplasm banks.

INTRODUCCIÓN

El bosque altoandino es uno de los ecosistemas que alberga una parte importante de la diversidad florística de los bosques de alta montaña en el trópico; a pesar de su importancia se encuentran en un alto estado de vulnerabilidad debido a la presión que ejerce la actividad antrópica sobre dichos ecosistemas; estas actividades incluyen el cambio de uso del suelo por la introducción de actividades agrícolas y ganaderas, así como de los procesos de urbanización, construcción de infraestructura vial y la introducción de especies exóticas (León *et al*, 2010; Rodríguez, 2017); situación que ha conllevado a la acelerada pérdida de especies; por tanto, se considera necesario emplear técnicas que contribuyan con la conservación de las diferentes especies.

Weinmannia pubescens es una especie perteneciente a la familia Cunnoniaceae, que se distribuye entre los 1700- 3200 msnm; en Colombia se encuentra presente en las tres cordilleras, principalmente en los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca (Montes, 2011). Esta especie es altamente representativa de los bosques altoandinos y se encuentra tanto en áreas abiertas como en el bosque propiamente dicho (Vargas, 2002; Moreno y Cuartas, 2015). Si bien su estado de conservación aún no se encuentra evaluado, *W. pubescens* es una especie que históricamente ha sufrido un alto grado de explotación debido a su utilización en construcciones locales, así mismo, fue una especie de suma importancia para la industria de las curtiembres donde se utilizaba la corteza para la extracción de taninos (Toro, 2010; Álzate *et al*, 2013). Estas actividades de aprovechamiento y la presión que ha ejercido el cambio de uso del suelo sobre los bosques altoandinos, han causado la disminución paulatina de las poblaciones de *W. pubescens*, aumentando significativamente su grado de vulnerabilidad (Aubad *et al*, 2008).

Por lo anterior, es importante generar estrategias que contribuyan con la conservación de la especie.

Una de las estrategias para la conservación de especies fuera de sus ecosistemas o de forma *ex situ* son los bancos de germoplasma, en los cuales se preservan, tubérculos, propágulos o semillas, siendo estas últimas la fuente principal de información genética, por ende, son clave

para asegurar la conservación y permanencia de especies (Frankel, 1984; Niembro, 1988; Rojas y Ardila, 2000; Verma *et al*, 2010; de Viana *et al*, 2011).

Para la conservación de semillas dentro de los bancos de semillas es necesario seguir una serie de procedimientos que permitan efectuar el manejo adecuado, indispensable para mantener de forma eficiente el recurso genético a largo plazo (Rao *et al*, 2007). Dichos procedimientos están sujetos a las características intrínsecas de las semillas a tratar, siendo la característica de mayor relevancia la tolerancia a la desecación, ya que será indispensable para permitir su almacenamiento por tiempos prolongados. Hong *et al* (1996) establecen tres categorías de clasificación conforme a esta característica, denominándolas como semillas ortodoxas, intermedias y recalcitrantes.

Las semillas ortodoxas son aquellas que pueden ser desecadas a contenidos mínimos de humedad (2- 6%) sin que sufran algún daño y por tanto permitiendo un aumento en su longevidad, característica que se relaciona con el tiempo en el que estas semillas se pueden mantener viables bajo ciertas condiciones de temperatura y contenido de humedad definidas (Pita y Pérez, 1998); así mismo, tienen la capacidad de mantener su viabilidad a temperaturas en valores de hasta -20 °C, punto importante para su almacenamiento. En el otro extremo se encuentran las semillas recalcitrantes, las cuales son semillas que suelen presentar la pérdida de viabilidad al verse sometidas a contenidos de humedad inferiores al 20%, lo cual se vuelve un obstáculo para su conservación a largo plazo. En último lugar se encuentran aquellas semillas que están en un punto medio; gran parte de las semillas se hallan dentro de esta clasificación y se caracterizan por soportar contenidos de humedad en un rango entre 10-12% y a temperaturas superiores a 0°C, si bien presentan una leve disminución en su viabilidad, aun es factible su almacenamiento para su conservación (Hong *et al*, 1996; De viana *et al*, 2011).

A pesar de la importancia de las especies altoandinas y de su vulnerabilidad por actividades humanas, son pocos los estudios que se han realizado para su conservación en bancos de semillas; actualmente solo se cuenta con algunos estudios en especies del genero *Puya* realizados por Vadillo *et al* (2004); Calderón Hernández y Pérez Martínez (2018), y en *Vaccinium meridionale* por Hernández *et al* (2012); Suarez- ballesteros *et al* (2018).

Teniendo en cuenta lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la longevidad de semillas de *Weinmannia pubescens* Kunth almacenadas a contenido de humedad inicial de colecta y a contenido de humedad reducido (5%).

ANTECEDENTES

Los bancos genéticos son una de las principales estrategias que se han implementado para la conservación *ex situ* de distintas especies; en la actualidad se han establecido cerca de 1750 bancos de genes a nivel mundial, de los cuales gran porcentaje se dedican al almacenamiento e investigación de cultivares. De los seis millones de accesiones que se estiman contienen dichas colecciones, 4,6 millones corresponden a 64 tipos de cultivos dentro de los que se incluyen alimenticios y forrajeros, mientras el porcentaje restante corresponde a especies silvestres y variedades locales (FAO, 2010).

Dichas colecciones genéticas comprenden el almacenamiento de material bajo los conceptos de bancos de semillas o las colecciones *in vitro*. En lo referente a los bancos de semillas hasta el año 2002 se promovió una estrategia mundial por parte de la asociación del Millenium Seed Bank (MSB) que incluía la conservación de especies silvestres; la cual propone que para el año 2020 por lo menos 75% de las especies silvestres que se encuentran amenazadas a nivel mundial sean incluidas dentro de las colecciones, ya sean dentro del propio MSB, en jardines botánicos y/o en instituciones similares (Hay y Probert, 2013). Según reporta la FAO (2010) para el año 2009 cerca del 17% de las colecciones corresponden especies nativas con un total de 262.993 de accesiones; las mayores representaciones de dichas especies se encuentran en África del este, América central, sur América y Asia, cubriendo un rango entre el 70-90% del total de las colecciones existente dentro de estos países.

Con todo esto aún no hay una representación aceptable de la biodiversidad existente que permita la conservación efectiva, cuestión atribuible a la dificultad que se presenta al momento de aplicar los estándares y métodos ya establecidos para el almacenamiento de semillas, que se relaciona según la categoría que se encuentren (ortodoxas o recitantes); pero las semillas de especie silvestres suele presentar una alta heterogeneidad en cuanto a su comportamiento en condiciones de almacenamiento, en especial en lo referente a su longevidad y tolerancia a la desecación, lo que impide que se puedan clasificar dentro de alguna de estas dos categorías y aun cuando existe una categoría de semillas intermedias, la gama de comportamientos que presentan estas semillas es muy variada (Harrington, 1972; Chau *et al*, 2019). A razón de lo anterior se ha evidenciado la necesidad de llevar a cabo

investigaciones específicas para cada especie o grupo de especies, que permitan identificar las condiciones necesarias para su almacenamiento partiendo desde el conocimiento fisiológico y de sus requerimientos ambientales necesarios para su almacenamiento.

En los últimos años se han realizado una serie de investigaciones direccionadas al estudio del comportamiento de las semillas de especies silvestres dentro de las que se incluyen especies de uso alimenticio, así como aquellas de gran valor ecológico dentro de sus ecosistemas. En especies de ecosistemas correspondientes a bosque altoandino el estudio es limitado, siendo el tema de mayor estudio la tolerancia a la desecación.

La tolerancia a la desecación en semillas es una de las condiciones que más limita la conservación *ex situ* de gran parte de las especies, debido a que esta es una característica que se obtiene como resultado de una serie de adaptaciones fisiológicas que evitan la destrucción celular al ser sometida la semilla a proceso para extraer el agua que se halla dentro de los tejidos; y al no ser una condición constante en todas las especies, realizar la extracción del agua en algunas semillas puede provocar la pérdida total de su viabilidad por eventos como la desnaturalización de proteínas, cambios en el pH y rompimiento de las membranas (Koster, 1990).

Tweddle *et al* (2003) evaluaron la tolerancia a la desecación en semillas de 886 especies de árboles y arbustos correspondientes a 93 familias botánicas de 15 zonas de vegetación distintas dentro de las que se incluyeron bosques templados, áreas semi-desérticas y bosques tropicales de montaña, hallando que solo el 17,6 % de las semillas pierden viabilidad con la desecación, así mismo encontraron que la tolerancia a la desecación está asociada principalmente a las condiciones ambientales del hábitat de la especie, donde la tolerancia tiende a aumentar a medida que el hábitat es más seco, así mismo aumenta cuando los hábitats son más fríos, pero disminuye con la presencia de humedades altas; tal relación también es hallada por Daws *et al* (2006) en semillas de 104 especies maderables de bosques tropicales en Panamá.

El estudio de la tolerancia a la desecación en semillas de especies de bosques de ecosistemas altoandinos ha sido más limitado; Hernández- Pérez *et al* (2012) hallaron para la especie *Vaccinium meridionale* Swart una alta tolerancia a la desecación, sin diferencias entre el porcentaje de germinación en semilla con contenido de humedad reducido a las semillas con

contenido de humedad inicial, por lo tanto, se determinó que es una especie con semillas ortodoxas apta para la conservación a través de su almacenamiento. Por otro lado, Calderón-Hernández y Pérez-Martínez (2018) determinaron la tolerancia a la desecación para cuatro especies del género *Puya*, hallando un comportamiento ortodoxo; en este mismo orden de ideas Romero-Murcia (2018), realizó investigaciones en cuatro especies del género *Passiflora*, determinando que dichas especies presentan alta tolerancia a la desecación, permitiendo así el almacenamiento para la conservación *ex situ*.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las semillas de la especie *Weinmannia pubescens* permiten su conservación mediante el almacenamiento en bancos de semillas sin afectaciones en la capacidad de germinación y supervivencia?

OBJETIVOS

General

Determinar la longevidad de semillas de *Weinmannia pubescens* a través de diferentes tiempos de almacenamiento y la capacidad de adaptación de plántulas en sustrato.

Específicos

- Evaluar la viabilidad de las semillas de *W. pubescens* por medio de prueba de tetrazolio.
- Calcular el porcentaje de germinación de las semillas de *W. pubescens* a contenido de humedad inicial y contenido de humedad reducido.
- Contrastar la capacidad germinativa en semillas de *W. pubescens* para cuatro momentos de tiempo.
- Evaluar el porcentaje de supervivencia y el crecimiento de plántulas de *W. pubescens* establecidas en sustrato.

HIPÓTESIS

Weinmannia pubescens es una especie cuyas semillas presentan una baja longevidad, por tanto, no toleran ser sometidas a procesos de almacenamiento con el objetivo de realizar su conservación *ex situ* dentro de la estrategia de bancos de semillas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material vegetal

La colecta de semillas de *Weinmannia pubescens* se realizó entre los meses de marzo y abril del 2019, en las instalaciones del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis (JBB), localizados en las coordenadas N4°40' 14,0", W74° 6'15.2". Se comprobó que los frutos se encontraran en etapa madura teniendo en cuenta la coloración de las cápsulas, los frutos se trasladaron al laboratorio de germinación de semillas del Jardín Botánico de Bogotá, para su limpieza y posterior almacenamiento. En el laboratorio se verificó la presencia de embrión en 50 semillas por medio de inspección con un estereoscopio Motic® SMZ-168 (Hong Kong, China), clasificando las semillas como vanas si no presentaban embrión y con presencia de embrión.

Prueba de viabilidad

Las semillas colectadas se dividieron en dos grupos. El primer grupo de semillas se almacenó a condiciones de nevera (4°C) y a contenido de humedad inicial o de colecta. Al segundo grupo se le redujo el contenido de humedad al 5% y se almacenó a 4°C. Las pruebas de calidad se realizaron para el momento de colecta y los meses cuatro, cinco y seis de almacenamiento, esto se realizó para los dos grupos de semillas.

Para evaluar la viabilidad de las semillas, en el tiempo, se realizó la prueba de tetrazolio cada mes en las semillas con contenido de humedad inicial de colecta y con contenido de humedad reducido. Estas pruebas se realizaron al momento de la colecta y al almacenar las semillas por uno, dos y tres meses. Cada prueba se realizó en cuatro réplicas de 50 semillas. A las semillas se les realizó una ruptura en la testa con una cuchilla y posteriormente se realizó una imbibición en agua por 24 horas, seguidamente se sumergieron en una solución de 2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio al 1% por 24 horas a 40°C en horno de secado Binder ED53-UL (Tuttlingen, Alemania) en condiciones de oscuridad. Una vez completado el tiempo, se realizó enjuagues de las semillas con agua y se evaluaron en un estereoscopio Motic SMZ-171 (Hong Kong). Las semillas se clasificaron como viables cuando el embrión presentó

coloración roja o rosa de forma homogénea; aquellos embriones que no presentaron coloración o su coloración se presentó en una baja proporción en el tejido se clasificaron como inviábiles (Mancipe *et al.*, 2018).

Prueba de germinación

Para evaluar la longevidad de las semillas se realizó la prueba de germinación en las semillas almacenadas a contenido de humedad inicial (9,8%) y a contenido de humedad reducido, en diferentes tiempos de almacenamiento (momento de colecta, mes cuatro, cinco y seis). Las semillas se sembraron en cajas de Petri con agar al 1% y se almacenaron en una cámara de germinación Thermoline (New South Wales, Australia) con condiciones controladas 20/10°C día-noche con un fotoperiodo y termoperíodo de 12 horas.

Se aplicaron tres tratamientos: T1: Control, siembra de semillas a contenido de humedad inicial (Chi: 9,8%), T2: Siembra de semillas a Chi con adición de giberelinas a 250 ppm y T3: Siembra de semillas con contenido de humedad reducido (Cho: 5%) con adición de giberelinas a 250 ppm. La germinación se evaluó cada tercer día y se consideró una semilla germinada al observar la salida de la radícula a través de la testa (Calderón-Hernández y Pérez Martínez, 2018). Cada tratamiento contó con cuatro réplicas de 50 semillas y dichos tratamientos se repitieron cada mes de evaluación. (Tabla 1)

Tabla 1. Abreviaciones de tiempos de colecta y tratamientos utilizados

Tiempos de evaluación		Tratamientos aplicados	
M0	Momento de colecta	T1	Semillas a contenido de humedad inicial (Chi = 9,8%)
M4	Mes cuatro de almacenamiento desde la colecta	T2	Semillas a contenido de humedad inicial

			(Chi = 9,8%) y ácido giberelico a 250 ppm
M5	Mes cinco de almacenamiento desde la colecta	T3	Semillas a contenido de humedad reducido (Cho=5%) y ácido giberelico a 250 ppm
M6	Mes seis de almacenamiento desde la colecta		

Crecimiento y Supervivencia

Una vez las semillas en condiciones de laboratorio germinaron, se sembraron en condiciones de sustrato y se mantuvieron bajo condiciones de invernadero a temperatura de 17 °C y humedad relativa de 74%. La siembra se realizó en un sustrato compuesto por cascarilla de arroz, humus y chip de coco, en relación 1:1:1. Los monitoreos se realizaron en 30 individuos una vez por semana por un tiempo de cuatro semanas. En el caso del crecimiento se registró la altura de la planta y el número de hojas. En el caso de la supervivencia un mes después del trasplante se realizó el primer monitoreo en 30 individuos.

Análisis de resultados

Para obtener la variable de porcentaje de germinación (PG) se tomó como referencia el cálculo utilizado por Tompsett y Pritchard (1998), con la fórmula:

$$PG = \frac{N}{NS} \times 100$$

Donde:

N = Número de semillas germinadas.

N_s = Número total de semillas.

Para determinar la normalidad de los datos se hizo uso del test de Shapiro-Wilk aceptando la hipótesis de normalidad cuando $p < 0,05$; con las variables que cumplieron el supuesto de normalidad, se realizó un análisis de varianza ANOVA, en caso de que las variables no cumplieran con el supuesto se aplicó el test de Kruskal –Wallis con confianza del 95%; con el fin de identificar la existencia de diferencias entre tratamientos. El análisis estadístico se realizó usando el programa StatGraphics® century XVI versión 16.1.11.

RESULTADOS

Prueba de viabilidad

No se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de tinción de los embriones de *Weinmannia pubescens* según el contenido de humedad de la semilla ($F=0,6$; $P=0,44$); presentando un valor promedio de tinción de 34% (Fig 1a) De igual forma, al hacer la comparación entre el porcentaje de tinción y el tiempo de almacenamiento se hallaron diferencias significativas ($F= 4,79$ $P= 0,0081$), donde el mes de colecta y el sexto mes después de almacenamiento presentaron los menores porcentajes de viabilidad, con valores cercanos al 30%, mientras que para los tiempos mes cuatro y cinco después de la colecta se presentaron los mayores porcentajes con cerca de 40% de viabilidad. (Fig 1b).

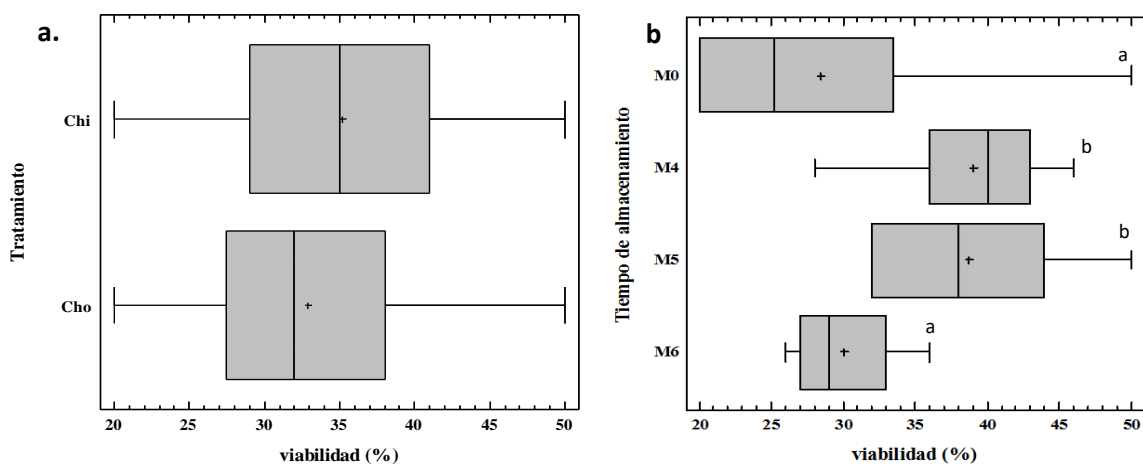


Figura 1. Porcentaje de tinción en embriones de semillas de *Weinmannia pubescens*, **a.** con diferentes contenidos de humedad **b.** con diferentes tiempos de almacenamiento

Prueba de Germinación

Al analizar los datos de germinación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de germinación y el tiempo de almacenamiento ($p=0,055$); indicando que las semillas de *Weinmannia pubescens* no presentan variaciones significativas en el potencial de germinación en el tiempo.

De igual manera en los datos por tratamiento, se hallaron diferencias significativas entre el PG de los tratamientos ($p= 0,016$), donde el tratamiento uno obtuvo los menores valores de germinación, con un valor medio 36,7 %, mientras en los tratamientos dos y tres la germinación alcanzo valores cercanos al 60 % (Fig 2).

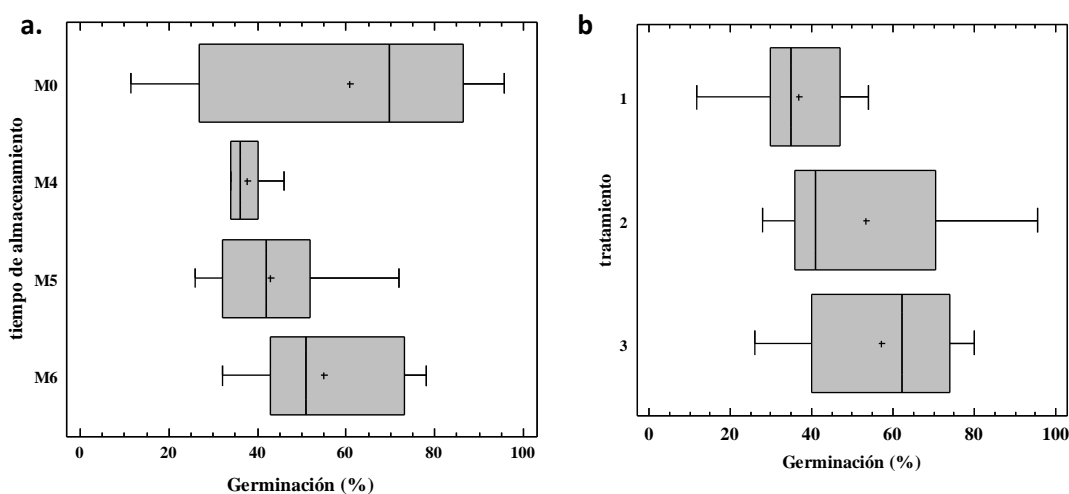


Figura 2. Comparaciones del porcentaje de germinación (PG) entre **a.** tiempo de almacenamiento y **b.** tratamientos aplicados.

Así mismo se encontró que el porcentaje de germinación hallado entre las semillas a contenido de humedad inicial con el tiempo de almacenamiento, hubo una leve disminución de los porcentajes de germinación, para los ensayos realizados en los meses cuatro, cinco y seis de almacenamiento, encontrándose el menor valor de la germinación en el mes cuatro, con una germinación final al día 36 evaluado del 35,5 %. Por otro lado, en las semillas a contenido de humedad reducido los valores tuvieron variaciones significativas, donde la germinación del momento de colecta y el mes seis de almacenamiento tuvieron valores de

germinación en rangos similares, mientras que los valores más bajos se encontraron en los meses cuatro y cinco de almacenamiento. (Fig 3)

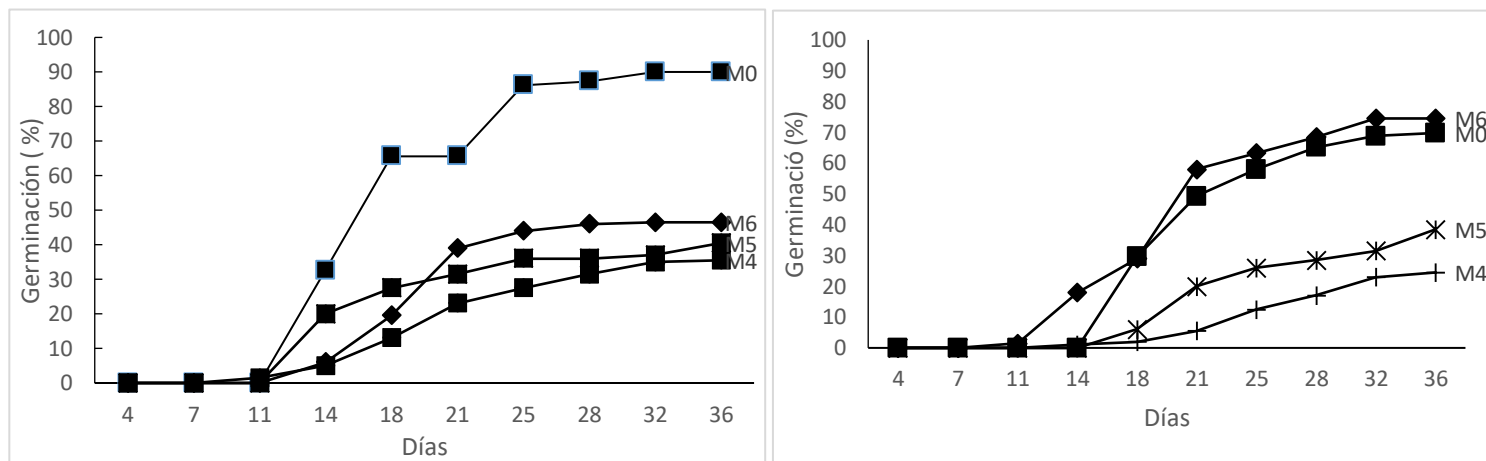


Figura 3. porcentaje de germinación (PG) por día evaluado **a.** Semillas a contenido de humedad inicial **b.** Semillas a contenido de humedad reducido.

Supervivencia y crecimiento

Se encontró una disminución en el porcentaje de supervivencia de las plántulas, con una mortalidad del 39, 44% en un periodo de 36 días de evaluación; donde el punto de inflexión se representó a partir del día 24 de evaluación en el que solo 75,83% de los individuos habían sobrevivido. (Fig 4)

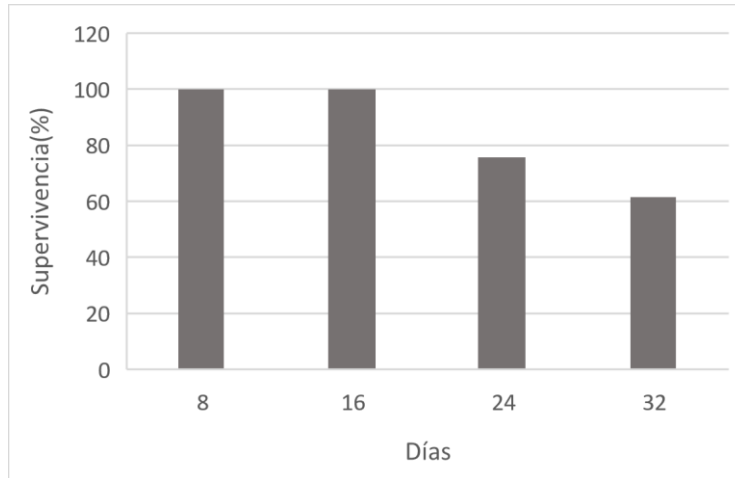


Figura 4. Porcentaje de supervivencia de individuos de *W. pubescens* en sustrato por días evaluados

Los individuos de *W. pubescens* presentaron un crecimiento rápido durante la primera semana luego de realizado el trasplante de las semillas a sustrato, con un valor promedio de 2,5 mm; luego de lo cual presentó un incremento más lento alcanzando a los 32 días un promedio de altura en los individuos de 4,5 mm, representando un aumento de solo 2 mm en tres semanas. (Fig 5)

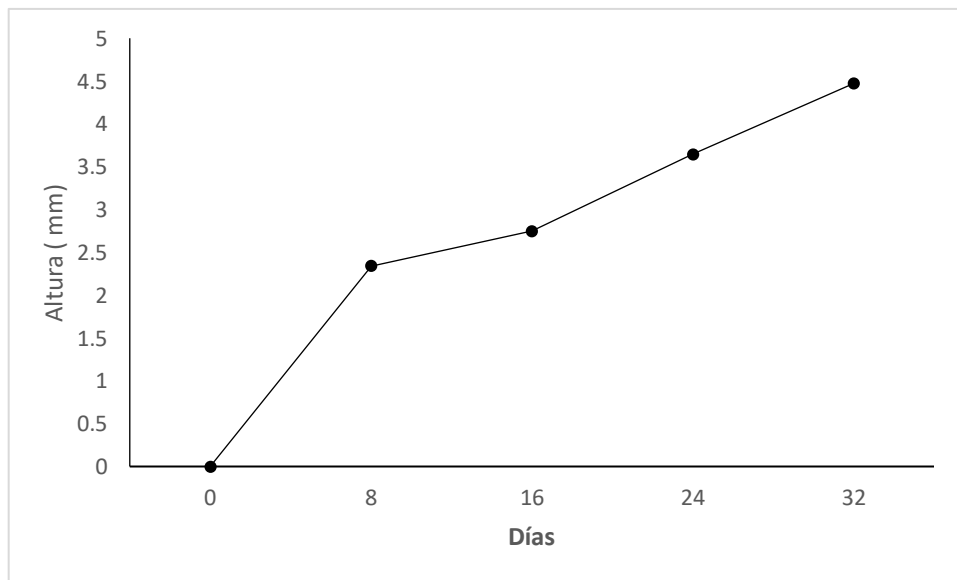


Figura 5. Curva de crecimiento de individuos en sustrato por día evaluado.

DISCUSIÓN

Prueba de viabilidad

Al realizar la comparación entre los porcentajes de tinción en semillas a contenido de humedad de colecta y a contenido de humedad reducido, la ausencia de diferencias estadísticamente significativas nos indica que estas semillas son tolerantes a la desecación, lo que permite clasificarlas con un comportamiento ortodoxo, a partir de esto se puede decir que estas semillas mantienen su vigor y viabilidad inicial aun cuando se almacenan en seco, característica que está determinada por la pérdida de agua durante la maduración del fruto, debido a la disminución del suministro de agua dado por la planta madre (Magnitskiy y Plaza, 2007; Berjak y Pammenter, 2010). La presencia de esta característica implica que estas semillas puedan ser conservadas de forma *Ex situ* en condiciones de -18 °C y un ambiente seco.

Por otro lado, con la comparación entre el porcentaje de tinción y el tiempo de almacenamiento, se encontraron diferencias estadísticamente significativas, con dos grupos de valores bien diferenciados, el primer grupo compuesto por el porcentaje de tinción las semillas al momento de colecta y en el mes seis de almacenamiento; y un segundo grupo compuesto por el porcentaje de tinción en semillas en el cuarto mes de almacenamiento y el quinto mes. El segundo grupo presentó los mayores porcentajes de tinción, indicando un aumento en la viabilidad de estas semillas; realizando una revisión literaria, González-Salvatierra *et al*, (2013) atribuye dicho comportamiento a la ruptura de la latencia en las semillas, por un fenómeno de estratificación fría que se produjo debido a las condiciones en las que se almacenaron las semillas (4°C). (Figuroa *et al*, 1996)

La estratificación suele ser utilizada como un pretratamiento de germinación, con el que se busca la interrupción de la latencia en las semillas. Este tratamiento suele tener buenos resultados principalmente en semillas de especies de bosques templados, debido a que estas suelen presentar latencia innata debido a la estacionalidad propia de estos hábitats (Figuroa *et al*, 1996; Varela y Arana, 2010, De la cruz castillo *et al*, 2013).

En el caso de las semillas de la especie *Weinmannia pubescens* se debe tener en cuenta que es una especie típica de ecosistemas de bosque altoandino (Montes, 2011) y suele estar sometida a condiciones ambientales extremas, dentro de las que se incluye temperatura media muy baja, que puede estar en un promedio de 6° C (Velasco –Linares y Vargas; 2008), estas condiciones poco favorables según describen Figueroa *et al* (1996) y Figueroa y Jaksic (2004) provocan que se activen mecanismos de latencia inducida que impiden la germinación. Este tipo de latencia generalmente se elimina luego de un periodo de estratificación fría; en el caso de las semillas utilizadas para el presente estudio al estar almacenadas a condiciones de 4° C desde el momento de la colecta y mantenerse en estas condiciones durante un prolongado periodo de tiempo, se volvieron a reactivar funciones fisiológicas de las semillas que permitieron una maduración adicional en algunos de los embriones con latencia.

Prueba de germinación

En la comparación entre el porcentaje de germinación y el tiempo de almacenamiento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, lo que indica que no hay una disminución en la longevidad de las semillas.

Tal comportamiento se puede relacionar con las funciones adaptativas de la especie; una mayor longevidad se asocia a especies que presentan semillas de menores tamaños, su estrategia de dispersión es diferente a la zoocoria y suelen ser dominantes en sus hábitats, lo que les permite tener más perdurabilidad dentro del banco de semillas en el suelo, por tanto, una permanencia de la especie (Figueroa y Jaksac, 2004; Hill y Vander, 2005); y en el caso de *Weinmannia pubescens*, es una especie que se caracteriza por poseer cada uno de dichos rasgos (Vargas, 2002; Toro- Murillo, 2010).

Aun así, al comparar los porcentajes de germinación entre semillas desecadas y no desecadas, se observó que en el caso de las semillas sin desecar la pérdida de viabilidad es mayor en contraste a las semillas a las cuales se les realizó la disminución de la humedad. Dicho comportamiento se debe a que al producirse la disminución en la humedad se detiene las

actividades metabólicas, por lo tanto, estas semillas son menos susceptibles a la pérdida de su viabilidad o a la aparición de patógenos que puedan afectar su capacidad germinativa (Bilbao *et al*, 1978; Justice y Bass, 1978).

Por otro lado, al contrastar el porcentaje de germinación por tratamiento aplicado se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Al hacer un análisis detallado de estos resultados se encuentra que los tratamientos dos y tres (Chi + GA₃ y Cho + GA₃ respectivamente) poseen los mayores porcentajes de germinación, cuestión que se asocia a la aplicación del ácido giberélico a concentración de 250 ppm. Esto se debe a que al aplicar el ácido giberélico se suplementan los requerimientos internos de las semillas; el efecto que producen estas hormonas exógenas en las semillas elimina la latencia fisiológica que está asociada a la inmadurez del embrión o a la estratificación fría, los cuales son comunes en especies de climas fríos (Martinez *et al*, 1994; Magnitskiy y Ligarreto, 2007), esto también se relaciona al alto porcentaje de germinación obtenido en semillas a las cuales se les realizó la disminución del contenido de humedad, confirmando de esta forma que las semillas de la especie *Weinmannia pubescens* presentan ciertos mecanismos de latencia fisiológica.

Supervivencia y crecimiento

Al realizar la evaluación de la supervivencia de las plántulas de *W. pubescens* establecidas en sustrato se halló un alto porcentaje de mortalidad, aumentando significativamente luego de tres semanas de establecidos los individuos; este comportamiento se puede asociar a que las especies del género *Weinmannia* en el hábitat natural suele desarrollarse en condiciones de semiluz, cuestión que no se evaluó al realizar el traspaso de las plántulas a sustrato, así mismo, debe tomar en consideración que en estudios realizados en especies del género, dentro de su hábitat natural, se ha observado que tienden a tener una baja presencia de plántulas, aun cuando sus semillas tienden a presentar altos porcentajes de germinación; dicho comportamiento se suele asociar a factores abióticos, en principal medida con las variaciones de temperatura (Montes, 2011; Beltrán – Romero, 2013; Tito- Leon, 2019).

Con la evaluación de crecimiento se halló que los individuos establecidos presentan un crecimiento lento, con un aumento semanal menor a un milímetro; dicho crecimiento se

relaciona con el comportamiento de las especies de dicho género, la cuales aun cuando presentan un comportamiento de plantas pionera, tiende a tener una vida más larga que otras especies del mismo tipo, lo que se atribuye a la inversión de energía utilizada en desarrollar rasgos defensivos, como una madera de alta densidad (Lusk, 1999).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las semillas de *Weinmannia pubescens* no presentaron afectaciones en su viabilidad al realizar la extracción del contenido de humedad, lo que nos indica que tienen un comportamiento de tipo ortodoxo y por tanto esta es una especie cuyas semillas pueden ser conservadas bajo la estrategia de bancos de semillas, permitiendo el almacenaje en condiciones inferiores a los 4°C, las cuales son necesarias para la permanencia del material vegetal.

Durante el tiempo de evaluación realizada no se halló una disminución significativa en la longevidad de las semillas de *W. pubescens*; pero si se evidenció una leve disminución de dicha longevidad en aquellas semillas que no fueron sometidas a la desecación, en contraste a aquellas que fueron desecadas.

La aplicación de ácido giberelico (GA_3) estimula a la germinación en semillas de *W. pubescens*, influyendo positivamente en la eliminación de la latencia fisiológica propia de especies de clima frío.

La especie *Weinmannia Pubescens* presenta una alta mortalidad, en la etapa inicial de crecimiento de las plántulas, cuestión que es asociada directamente como una característica del género *Weinmannia*, así como la ausencia de condiciones de semi-luz que suele encontrarse en su hábitat natural, condiciones no consideradas al momento de hacer el traspaso de las semillas germinadas al sustrato. En lo referente al crecimiento se halla que es una especie de lento crecimiento, atribuible a la necesidad de fabricar madera y otros rasgos defensivos.

Esta investigación debe considerarse como un estudio preliminar en semillas de *Weinmannia pubescens* debido a la brevedad del periodo evaluado, por tanto, es necesario realizar una investigación de mayor amplitud, que permita evaluar la longevidad de las semillas al ser sometidas a mayor tiempo de almacenamiento, así mismo se recomienda el estudio sobre la fisiología debido a la escasa literatura existente.

REFERENCIAS

Aubad, J., Aragón, P., Olalla-Tarraga, M., Rodríguez, M., (2008) Illegal logging, landscape structure and the variation of tree species richness across North Andean forest remnants. *Forest ecology and management*. 40: 1892-1899. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.12.011>

Álzate, F., Idarraga, A., Díaz O., (2013) Flora de los bosques montanos de Medellín. Medellín, Colombia. Segunda edición, Universidad de Antioquia. Disponible en: http://www.udea.edu.co/wps/wcm/connect/udea/7e2366b5-36c0-48cb-b86c-c9a389964a12/Flora+de+los+bosques+montanos+de+Medellin_compressed_reduce-comprimido.pdf?MOD=AJPERES&CVID=mMKuMTF

Beltrán- Romero, B. J., (2013) Propagación de tres especies vegetales de los géneros *Podocarpus* y *Weinmannia* del bosque montano Los Cedros en el área de acción de minera La Zanja. (Tesis de pregrado) Cajamarca, Perú: Facultad de ciencias agrarias, Universidad nacional de Cajamarca:51- 53. Disponible en: <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/390/T%20F02%20B453%202013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Berjark, P., Pammenter, N., (2010) Manual de semillas de árboles tropicales. Capítulo 4: Semillas ortodoxas y recalcitrantes. Durban, Sudafrica. Universidad de Natal. Unidad de investigación biológica celular de plantas, Facultad de ciencias de la vida. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43398013/Semillas_Ortodoxas_y_Recalcitrantes.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DSemillas_Ortodoxas_y_Recalcitrantes.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20200104%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20200104T154550Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=bfd20f33d0f14c4a9b773f44edc2dccbf863ace11cdc4526104aa0ecf280fb

Bilbao, B., Gomez, M. E., Matias, C., Santana, G., (1978) Efecto del método, tiempo de secado y almacenamiento sobre la germinación de la semilla de *Cenchrus ciliaris* (L) cv. Biloela. Pastos y forrajes. 1(3): 381-395. ISSN 2078-8452

Calderon –Hernandez, M., Perez- Martinez, L.V., (2018) seed desiccation tolerance and germination of four *Puya* (Bromeliaceae) high- Andean tropical species from Colombia. *Caldasia*. 40 (1):177-187. doi: <https://DOI.org/10.15446/caldasia.v40n1.67740>

Chau, M.M., Chambers, T., Weisenberger, L., Keir, M., Kroessig, T., Wolkis, D., Yoshinaga, A.Y., (2019) Seed freeze sensitivity and ex situ longevity of 295 species native Hawaiian flora. *American Journal of botany*. 106(9): 1248-1270. doi:

<https://DOI.org/10.1002/ajb2.1351>

Daws, M.I, Garwoods, N.C., Pritchard, H.W., (2006) Prediction of desiccation sensitivity in seeds of Woody species: A probabilistic model based on two seed traits and 104 species. *Annals of botany*. 97: 667-674. doi:10.1093/aob/mcl022

De La Cruz- Castillo, J., López- Medina, E., Zavaleta- Salvatierra, C., Mendoza- Miranda, W., Gonza – Carnero, A., (2013) Efecto de la estratificación en la germinación de semillas de ciruelo europeo, *Prunus domestica*. *Revista científica de estudiantes de la facultad de ciencias biológicas, universidad nacional de Trujillo*. 1(1):49-53. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/181/187>

De Viana, M., Morandini, M., Giamminola, E., Diaz, R., (2011) Conservación *ex situ*: Un banco de germoplasma de especies nativas. *Biodiversidad*. 1 (1): 35-41. Disponible en: prints.natura.unsa.edu.ar/627/1/deViana_Conseervacion_ex_situ.pdf

Engelman, F., (1991) In vitro conservation of tropical plant germplasm a review. *Euphytica*. 57: 227-243. doi:10.1007/BF00039669

FAO., (2010) The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Rome. Food and agriculture organization of the United Nations. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i1500e/i1500e00.htm>

Figuroa, J. A., Armesto, J.J ., Hernández, J. F., (1996) Estrategias de germinación y latencia de semillas en especies del bosque templado de Chiloé, Chile. *Revista chilena de historia*

natural. 69: 243, 251. Disponible en: v.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Figueroa-et-al-1996.pdf

Figueroa, J. A., Jaksac, F., (2004) Latencia y bancos de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista chilena de historia natural*. 77(1): 201-215. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2004000100016>

Frankel, O. H., (1984) Genetic perspectives of germplasm conservation. En: Arber W, Ilmensee K, Peacock J W, Starlinger P., Editors. *Genetic manipulation: Impact on human and society*. (161- 165) New York, USA: University of Cambridge press syndicate.

Gonzalez- Salvatierra, C., Badano, I.E., Flores, J., Rodas, J. P., (2013) Germinación, infestación, y viabilidad de bellotas de *Quercus Polymorpha* (Schltd. & Cham.) tras un año de almacenamiento. *Revista Chapingo series ciencias forestales y del ambiente*. 19(3): 351-362. Doi: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.07.044>.

Harrington, F.J., (1972) Seed storage and longevity. En: Kozlowski.T.T., Editor. *Seed biology, insects and seed collection, storage, testing and certification*. (145-161) New York, USA: Academic Press, INC. disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=RI04Uvkwq-sC&oi=fnd&pg=PA145&dq=longevity+seed&ots=bAGvj26D4x&sig=adwv054kiCppiGuByGSLl2nXenU#v=onepage&q=longevity%20seed&f=false>

Hay, F.R., Probert, R.J., (2013) Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. *Conservation physiology*. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4806614/>

Hernández, M.I., Lobo, M., Medina, C.I., Cartagena, J.R. (2012) Arándano andino (*Vaccinium meridionale swartz*) caracterización del comportamiento de almacenamiento de semillas bajo conservación de baja temperatura. *Revista facultad nacional de agronomía Medellín*.65(2): 6627-6635. doi: 10.15446/rfnam

Hill, N.M., Vander, S.P., (2005) Longevity of experimentally buried seed in *Vaccinium*: relationship to climate, reproductive factors and natural seed banks. *Journal of ecology*. 93: 1167- 1176. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01034.x

Hong, T. D., Linington, S., Ellis, R. H., (1996) Seed storage behaviour a compendium. (7-27) Rome. handbooks for gene banks: N 4. International plant genetic resources institute. 1:1-10. doi:10.1093/conphys/cot030

Justice, O. L., Bass, L. N., (1978) Principles and practices of seed storage. Washington, USA. USDA. Department of agriculture. disponible en: <https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT87208646/PDF>

Koster, K., (1990) Glass formation and desiccation tolerance in seed. Plant physiology. 96(1): 302-304. doi: 10.1104/pp.96.1.302

León, A. L., Ramos, C., Garcia, M. L., (2010) Efecto de plantaciones de pino en la artropofauna del suelo en un bosque altoandino. Biología tropical. 58 (3): 1031- 1048. ISSN 0034-7744

Lusk, C.H., (1999) Long-Lived Light- Demanding emergents in southern temperate forests: the case of *Weinmannia trichosperma* (Cunoniaceae) in Chile. Plant Ecology. 140: 11-115. doi:10.1023/A:1009764705942

Magnitskiy, S.V., Ligarreto, G.A., (2007) Efecto del nitrato de potasio, del ácido gibrélico y el ácido indolacético sobre la germinación de semillas de agraz (*Vaccinium maridionale* Swartz). Revista colombiana de ciencias hortícolas. 1(2): 137-141. doi: <https://doi.org/10.17584/rcch.2007v1i2.1155>

Magnitskiy, S. V., Plaza, G.A., (2007) Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. Agronomía Colombiana. 25(1): 96- 103. ISSN: 2357-3732

Martinez, C., Arena, M.E., Fernandez, C., (1994) Nota sobre la influencia del ácido gibrélico y el nitrato de potasio en la germinación de semillas de *Nothofagus betuloides* (MIRB.) OERST. Forests Systems. 3(1): 83-89. Disponible en: <https://recyt.fecyt.es/index.php/IA/article/view/4770/4069>

Montes, C. R., (2011) Estado del conocimiento en *Weinmannia tomentosa* (encenillo) y algunas propuestas de estudio sobre su regeneración. Revista de investigación agraria ambiental. 2(1):45- 53. doi: 10.22490/21456453.910

Moreno, D., Cuartas, S., (2015) Supervivencia y crecimiento de plántulas de tres especies arbóreas de bosque montano andino degradadas por ganadería en Colombia. Acta biológica colombiana.; 20 (2): 85- 100. doi: <https://DOI.org/10.15446/abc.v20n2.46057>

Niembro, A., (1988) Semillas de árboles y arbustos: Ontogenia y estructura. Mexico. Editorial Limusa, Noriega editores.

Perez- Garcia, F., Pita-Villamil, J. M., (1998) Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de las semillas. Madrid, España: Universidad politécnica de Madrid, departamento de biología vegetal, Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Disponible en [http://servicios.educarm.es/templates/portal/ficheros/websDinamicas/20/conservaci% c3% b3n% 20semillas.pdf](http://servicios.educarm.es/templates/portal/ficheros/websDinamicas/20/conservaci%c3%b3n%20semillas.pdf)

Rao, K., Hanson, J., Dulloo, E., Ghosh, K., Nowell, D., Larinde, M., (2007) Manejo de semillas en Bancos de Germoplasma. Italia. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación FAO.

Rodríguez – Alarcon, S. J. (2017) Efectos de la fragmentación sobre la diversidad funcional asociada a la biomasa aérea en un bosque altoandino de Cundinamarca (tesis de maestría). Bogotá: Facultad del medio ambiente y recursos naturales, Universidad Distrital Francisco José de Caldas: 7-8. Disponible en: repositorio.udistrital.edu.co/bitstream/11349/7706/1/RodriguezAlarconSlendy2018.pdf

Rojas, M., Ardila, J., (2000) Valorización económica de recursos filogenéticos en Mesoamérica. (5-6) Venezuela: gtz, ICCA Biblioteca de Venezuela. Área de ciencia, tecnología y recursos naturales. Disponible en : [http://www.infoagro.net/sites/default/files/migrated_documents/attachment/ValoracionRFG .pdf](http://www.infoagro.net/sites/default/files/migrated_documents/attachment/ValoracionRFG.pdf)

Romero- Murcia, J. E. Conservacion *Ex situ* de semillas de cuatro especies andinas de pasiflora. Agroproductividad: 11(3): 75-81. ISSN: [2448-7546](http://www.infoagro.net)

Suarez – Ballesteros, C.I., Calderón- Hernandez, M., Mancipe –Murillo, C., (2018) Propagación sexual y tolerancia a la desecación de agraz (*Vaccinium meridionale* SW) de tres fuentes semilleras localizadas en Raquira, San Miguel de Sema (Boyacá) y Gachetá (Cundinamarca). Revista de la academia de ciencias exactas, físicas y naturales. 42(163): 207- 2015. doi: <https://DOI.org/10.18257/raccefyn.614>

Tito – Leon, R., (2019) Sobrevivencia, crecimiento y herbivoría de *Weinmannia bangii* Rusby (CUNONNIACEAE) en relación a la altitud en el bosque nuboso de Kosniñapa, Pautarcambo, Cusco. (tesis de pregrado). Cusco, Peru: facultad de ciencias, Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco: 31- 32. Disponible en: http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4690/253T20190652_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Toro - Murillo, J. L., (2010) Árboles de las montañas de Antioquia (206). Corporación autónoma regional del centro de Antioquia, CORANTIOQUIA. Medellín, Colombia.

Tweddle, J. C., Dickie, J.B., Baskin, C.C., Baskin, J.M., (2003) Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. Journal of ecology. 91: 294- 304. doi: <https://DOI.org/10.1046/j.1365-2745.2003.00760.x>

Vadillo, G., Suni, M., Cano, A., (2004) Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromelaiceae). Revista peruana de biología.: 11(1). P; 71-78. ISSN 1727-9933

Varela, S., Arana, V., (2013) Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Serie técnica: “Sistemas forestales integrados”. Bariloche, Argentina. INTA EEA Bariloche. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Latenciaygerminaci%C3%B3ndeSemillas.pdf>

Vargas, W., (2002) Guía ilustrada de plantas de las montañas del Quindío y Andes centrales. (253-256) Manizales, Colombia: Editorial universidad de caldas, primera edición.

Velazco –Linares, P., Vargas, O., (2008) Problemática de los bosques altoandinos. En: Vargas, O., editores. Estrategias para la restauración ecológica de bosques altoandinos (41-56). Bogota, Colombia. Universidad nacional de Colombia. disponible en: https://www.researchgate.net/publication/260640030_Problematica_de_los_bosques_altoandinos

Verma, N., Mohanty, A., Lal, A., (2010) Pomegranate genetic resources a germplasm conservation: a review. Rev. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. 4 (2): 120-125. Disponible en: [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2010/FVCSB_4\(SI2\)/FVCSB_4\(SI2\)120-125o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2010/FVCSB_4(SI2)/FVCSB_4(SI2)120-125o.pdf)