



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**Trabajo de titulación presentado como requisito previo
a la obtención del título de Ingeniera Forestal**

**MÉTODOS DE CONSERVACIÓN PARA SEMILLAS DE *Cinchona
pubescens* Vahl. PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD PUCARÁ, ZONA
DE INTAG, PROVINCIA DE IMBABURA.**

AUTORA

Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel.

DIRECTOR

Ing. Jorge Luis Cué García, Ph.D.

IBARRA – ECUADOR

2023

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN PARA SEMILLAS DE *Cinchona pubescens* Vahl.
PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD PUCARÁ, ZONA DE INTAG, PROVINCIA DE
IMBABURA.

Trabajo de titulación revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza la presentación
como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERA FORESTAL

APROBADO

Ing. Jorge Luis Cué García, Ph.D.
Director de Trabajo de titulación

Ing. Andrés Manolo Carrión Burgos, Mgs.
Tribunal de Trabajo de titulación

Ing. Mario José Añazco Romero, Ph.D
Tribunal de Trabajo de titulación

Ing. Hugo Vinicio Vallejos Álvarez, Mgs.
Tribunal de Trabajo de titulación



The image shows four blue ink signatures, each placed on a horizontal dotted line. The signatures are written in a cursive style. The first signature is at the top, followed by the second, then the third, and the fourth at the bottom. The signatures appear to be those of the individuals listed in the text to the left.

Ibarra – Ecuador

2023



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO		
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1003939145	
APELLIDOS Y NOMBRES:	Cuasque Peñafiel Yajaira Alexandra	
DIRECCIÓN:	Huertos Familiares	
EMAIL:	yacuasquep@utn.edu.ec	
TELÉFONO FIJO:	062546-721	TELÉFONO MÓVIL: 0959625497

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	MÉTODOS DE CONSERVACIÓN PARA SEMILLAS DE <i>Cinchona pubescens</i> Vahl. PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD PUCARÁ, ZONA DE INTAG, PROVINCIA DE IMBABURA
AUTORA:	Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel
FECHA:DD/MM/AAAA	13/10/2023
SOLO PARA TRABAJOS DE TITULACIÓN	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera Forestal
DIRECTOR:	Ing. Jorge Luis Cué García, Ph.D.

2. CONSTANCIA

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto, la obra es original y es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asumen la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrán en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 13 días del mes de octubre del 2023

LA AUTORA



.....

Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel

REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

Guía: FICAYA - UTN

Fecha: 13 de octubre del 2023

Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel: **MÉTODOS DE CONSERVACIÓN PARA SEMILLAS DE *Cinchona pubescens* Vahl. PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD PUCARÁ, ZONA DE INTAG, PROVINCIA DE IMBABURA** /Trabajo de titulación. Ingeniera Forestal. Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Forestal. Ibarra, 13 de octubre del 2023, 78 páginas.

DIRECTOR: Ing. Jorge Luis Cué García, Ph.D.

El objetivo principal de la presente investigación fue: Determinar métodos de conservación con diferentes tiempos de almacenamiento, varios tipos de envases y bajo condiciones naturales y controladas para semillas de *Cinchona pubescens* Vahl. Entre los objetivos específicos se encuentra: Caracterizar morfológicamente la semilla de *Cinchona pubescens* Vahl., determinar la calidad de las semillas *Cinchona pubescens* Vahl, tomando en cuenta las normas ISTA.

Fecha: 13 de octubre del 2023

.....
Ing. Jorge Luis Cué García, Ph.D.

Director de trabajo de titulación

.....
Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel

Autora

DEDICATORIA

Con todo el amor y mucho cariño a mis padres, Mauro Cuasque y Transito Peñafiel y a mis hermanos Anthony, Ronald y Michael quienes son mi mayor inspiración, gracias por inculcar en mí, amor, respeto, responsabilidad sobre todo ser una buena persona, por enseñarme a nunca rendirme y apoyarme a cumplir cada una de mis metas plantadas.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecerle a Dios por darme la fuerza para lograr todas las metas que me he planteado en la vida y por permitirme tener una familia que me ha dado su apoyo.

Un agradecimiento a mis padres Mauro Cuasque y Transito Peñafiel por ser pilares fundamentales en mi vida. ¡Son los mejores!

Un agradecimiento a mis hermanos Anthony, Ronald y Michael por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

Un agradecimiento especial, para mi equipo de trabajo al Ing. Jorge Cué, PhD; Ing. Mario Añazco, PhD; Ing. Manolo Carrión, Msc e Ing. Hugo Vallejos, Msc, quienes dirigieron y asesoraron de manera desinteresada y oportuna.

A mis amigos por brindarme su cariño y aliento para seguir adelante en especial a Sheerlay Pepinosa, Cinthya Pavón, Andrés Oyos, Brayan Tabango, Leonardo Quinteros, Carlos Enríquez, Cristian Santiago y William Matango.

LISTA DE SIGLAS

COA. Código Orgánico ambiental

MAE. Ministerio del Ambiente del Ecuador.

MAG. Ministerio de Agricultura y Ganadería

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

ISTA. Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas.

INAMHI. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología – Ecuador.

CH. Coeficiente de humedad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Págs.
Portada	i
Aprobación	ii
Autorización de uso y publicación	iii
Constancia	iv
Registro bibliográfico	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Lista de siglas	viii
Índice de contenidos	ix
Índice de tablas	xv
Índice de figuras	xvii
Resumen	xix
Abstract	xx
Capítulo I	1
Introducción	1
1.1 Objetivos 2	
1.1.1 Objetivo General.....	2
1.1.2 Objetivos Específicos.....	2
1.2 Hipótesis 2	
Capítulo II	3

Marco teórico	3
2.1 Fundamentación legal	3
2.1.1 Constitución de la República del Ecuador de 2008 Art. 10 y del 71 al 74	3
2.1.2 Código Orgánico Ambiental (COA).....	3
2.1.3 Objetivo del Plan Nacional del Desarrollo (2017 – 2021).....	3
2.1.4 Línea de Investigación	4
2.2 Fundamentación teórico.....	4
2.2.1 El género <i>Cinchona</i> (quina, cascarilla, cinchona)	4
2.2.1.1 Historia.....	4
2.2.1.1 Distribución natural	4
2.2.1.2 El Árbol Nacional del Ecuador	6
2.2.1.3 Importancia que tuvo la Cinchona	7
2.2.1.4 Descripción botánica de la Cinchona.....	8
2.2.1.4.1 Taxonomía de <i>C. pubescens</i>	9
2.2.2 La semilla.....	9
2.2.2.1 Características generales de la semilla.....	9
2.2.2.1.1 Tamaño	9
2.2.2.1.2 Forma	10
2.2.2.1.3 Aspecto externo	10
2.2.2.1.4 Color	10
2.2.2.2 Clasificación de semillas en función de su tolerancia a la desecación	10
2.2.2.2 Conservación de semillas.....	10
2.2.2.2.1 Conservación ex situ	10
2.2.2.2.2 Conservación in situ.....	11

2.2.2.3 Condiciones de conservación de las semillas	11
2.2.2.3.1 Condiciones de conservación al Natural.....	11
2.2.2.3.2 Condiciones de conservación en Refrigeración.....	11
2.2.2.4 Envases generalidades	11
2.2.2.4.1 Tipos de envases para conservación de las semillas	11
2.2.3 Análisis de calidad de las semillas.....	12
2.2.3.1 Pureza.....	12
2.2.3.2 Contenido de Humedad.....	12
2.2.3.3 Peso de semillas	13
2.2.3.4 La germinación en especies del género Cinchona	13
2.2.3.5 Investigaciones sobre Germinación en Cinchonas	13
2.2.3.5 Poder germinativo.....	15
2.2.3.6 Vigor germinativo.....	15
2.2.3.7 Energía germinativa.....	15
Capítulo III.....	16
Materiales y métodos	16
3.1 Ubicación del sitio	16
3.1.1 Política	16
3.1.2 Geográfica.....	16
3.1.3 Límites	17
3.2 Datos climáticos.....	17
3.3 Materiales, equipos e insumos	17
3.3.1 Equipos e instrumentos	17
3.3.2 Material vegetal e insumos	17

3.4 Metodología	18
3.4.1 Fase de campo.....	18
3.4.1.1 Selección del sistema silvopastoril	18
3.4.1.2 Población y muestra.....	18
3.4.1.2.1 Selección de individuos	18
3.4.1.2.2 Población.....	18
3.4.1.2.3 Determinación de Muestra.....	18
3.4.1.3 Recolección del material vegetativo	20
3.4.2. Fase de Laboratorio.....	20
3.4.2.1 Secado de los frutos, selección, extracción de semillas.....	20
3.4.2.2 Variables utilizadas para caracterizar morfológicamente las semillas de <i>C. pubescens</i> ...	20
3.4.2.2.1 Tamaño	20
3.4.2.2.2 Forma.....	21
3.4.2.2.3 Color	22
3.4.2.2.3 Brillo	23
3.4.2.2.3 Textura.....	23
3.4.3 Primer y segundo ensayo de conservación	23
3.4.3.1 Diseño experimental	23
3.4.3.2 Factores de estudio.....	23
3.4.3.3 Tratamientos	24
3.4.3.5 Características de las pruebas de germinación por ensayo.	27
3.4.5.1.1 Primer ensayo.....	27
3.4.5.1.2 Segundo Ensayo.....	27
3.4.3.6 Prueba de Tukey	27

3.4.3.7 Análisis estadístico.....	27
3.4.5.5 Variables utilizadas para determinar la calidad de semillas	28
CAPÍTULO IV	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1 Caracterización morfológica de la semilla.....	31
4.1.1 Tamaño	31
4.1.2 Forma	31
4.1.3 Color	32
4.1.4 Brillo	32
4.1.5 Textura.....	33
4.2 Determinación de la calidad de semillas para el segundo objetivo específico	33
4.2.1 La pureza.....	33
4.3.1.2 Peso de 1000 semillas	34
4.3.1.3 Contenido de humedad	34
4.3 Pruebas de Germinación para el primer y segundo ensayo	35
4.3.1 Primer ensayo.....	35
4.3.2 Segundo ensayo	35
4.2.3.1 Análisis de factores	36
CAPITULO V.....	39
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
5.1 Conclusiones.....	39
5.2 Recomendaciones	39
Capitulo VI	40
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40

Capítulo VII.....	47
Anexos	47
Anexo A - Tablas.....	47
Anexo B - Figuras.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de <i>Cinchona</i> en el Ecuador	6
Tabla 2. Variables dasométricas y fenotípicas	19
Tabla 3. Factores y niveles en el primer ensayo.	24
Tabla 4. Factores y niveles en el segundo ensayo.....	24
Tabla 5. Descripción de tratamientos y factores para el primer ensayo.....	25
Tabla 6. Descripción de tratamientos y factores para el segundo ensayo	26
Tabla 7. Análisis de varianza para el primer ensayo.....	27
Tabla 8. Análisis de varianza para el segundo ensayo	28
Tabla 9. Datos del contenido de pureza de las semillas.....	34
Tabla 10. Datos del peso de 1000 semillas	34
Tabla 11. Datos del contenido de humedad de las semillas	34
Tabla 12. Análisis de varianza de germinación en el segundo ensayo de conservación.....	36
Tabla 13. Poder germinativo, vigor germinativo de las semillas	38
Tabla 14. Registro de variables dasométricas y fenotípicas.....	47
Tabla 15. Resultado de los 15 árboles que se obtuvieron del análisis de varianza	48
Tabla 16. Resultados de germinación del primer ensayo de conservación	49
Tabla 17. Resultados de germinación del segundo ensayo de conservación.	50
Tabla 18. Prueba de Tukey para el factor A	51
Tabla 19. Prueba de Tukey para el factor B.....	51

Tabla 20. Prueba de Tukey para el factor C.....	51
Tabla 21. Prueba de Tukey para el factor A x B.....	51
Tabla 22. Prueba de Tukey para el factor A x C.....	52
Tabla 23. Prueba de Tukey para el factor B x C.....	52
Tabla 24. Prueba de Tukey para el factor A x B X C.....	53
Tabla 25. Resultados de poder, vigor germinativo de las semillas.....	54
Tabla 26. Resultados de poder, vigor germinativo sin aplicación de tratamientos.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de distribución natural del género Cinchona.	5
Figura 2. Mapa de ubicación del sitio.	16
Figura 3. Formas de las semillas.	21
Figura 4. Cartilla de colores de Munsell.	22
Figura 5. Tamaño (ancho y largo mm), que presentaron las 15 semillas.	31
Figura 6. Observación de las semillas a través del estereoscopio.	32
Figura 7. Contraste de coloración presente en semillas.	32
Figura 8. Brillo en la semilla.	33
Figura 9 Germinación, según envase, medios y tiempo de conservación.	36
Figura 10. Germinación, en base a la interacción de los tres factores.	37
Figura 11. Sistema silvopastoril.	55
Figura 12. Medición de diámetro a la altura del pecho (DAP) y espesor de corteza.	55
Figura 13. Medición de altura total y diámetro de copa.	55
Figura 14. señalización y georreferenciación de individuos seleccionados.	55
Figura 15. Recolección de material vegetativo.	55
Figura 16. Empacado de frutos tomando en cuenta la coloración.	55
Figura 17. Secado homogéneo de los frutos.	56
Figura 18. Selección de frutos y extracción de semillas.	56
Figura 19. Preparación de placa utilizadas para la caracterización de semillas.	56

Figura 20. Observación de placas a través del estereoscopio	56
Figura 21. Pureza	56
Figura 22. Peso de 1000 semillas.....	56
Figura 23. Contenido de Humedad	57
Figura 24. Conservación de semillas al natural y en refrigeración.....	57
Figura 25. Preparación de placas para el ensayo	57
Figura 26. Ensayo de germinación establecido.....	57
Figura 27. Germinación	57
Figura 28. Análisis de correlación	58
Figura 29. Germinación según la interacción entre envases y el medio.....	58
Figura 30. Germinación según la interacción entre envases y el tiempo de conservación.....	59
Figura 31. Germinación según la interacción entre medios y el tiempo de conservación.....	59

TITULO: MÉTODOS DE CONSERVACIÓN PARA SEMILLAS DE *Cinchona pubescens* Vahl. PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD PUCARÁ, ZONA DE INTAG, PROVINCIA DE IMBABURA.

Autora: Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel

Director de trabajo de titulación: Ing. Jorge Luis Cué García, PhD.

Año: 2023

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal determinar métodos de conservación con diferentes tiempos de almacenamiento, varios tipos de envases y bajo condiciones naturales y controladas para semillas de *Cinchona pubescens* Vahl. El estudio constó de dos fases, la primera fue en campo, en la cual se realizó la recolección de semillas, esta se llevó a cabo en el sector de Pucará Alto, zona de Intag, la segunda fase se realizó en el laboratorio de Biotecnología vegetal de la UTN, donde se caracterizó morfológicamente y se determinó la calidad de las semillas, se establecieron dos ensayos de conservación, que se diferencian por el factor tiempo(seis meses y cuatro semanas respectivamente). Los resultados mostraron que las semillas poseen un tamaño de 8 a 12 mm de largo y 2 a 3 mm ancho; forma fusiforme; color amarilla oliva; presencia de brillo, y textura rugosa. Con respecto a la calidad de semillas estas presentaron: pureza de 76.5%; el peso de 1000 semillas fue 0.31 g; el contenido de humedad fue de 14 %, además, en condiciones de laboratorio, en el primer ensayo de conservación no se manifestó la germinación en ningún tratamiento, por otra parte, en el segundo ensayo, se obtuvo un poder germinativo de 3.2 % para el promedio de los tratamientos, destacándose el mejor método de conservación T3 funda transparente conservada en refrigeración durante una semana, el que mostró 9.25 % de poder germinativo. Del presente estudio se concluye que los métodos de conservación de semillas aportan en la preservación de *Cinchona pubescens* Vahl.

Palabras clave: *Cinchona pubescens*, tamaño, semillas, calidad.

TITLE: METHODS OF CONSERVATION FOR SEEDS *Cinchona pubescens* Vahl. PROVENIENTS FROM THE COMMUNITY PUCARÁ, ZONE OF INTAG, PROVINCE OF IMBABURA.

Author: Yajaira Alexandra Cuasque Peñafiel
Research Director: Ing. Jorge Luis Cue García, PhD.
Year: 2023

ABSTRACT

The main objective of this research was to determine conservation methods with different storage times, several types of containers and under natural and controlled conditions for *Cinchona pubescens* Vahl seeds. The study consisted of two phases, the first was in the field, in which the collect of seeds was carried out, this was carried out in the sector of Pucará Alto, Intag area, the second phase was carried out in the Biotechnology Laboratory of the UTN, where it was characterized morphologically and the quality of the seeds was determined, two conservation tests were established, which are differentiated by the conservation time (six months and four weeks respectively). The results showed that the seeds have a size of 8 to 12 mm long and 2 to 3 mm wide; fusiform form; olive yellow color; presence of brightness, and rough texture. With regard to the quality of seeds presented: purity of 76.5%; the weight of 1000 seeds was 0.31 g; the moisture content was 14%. In addition, under laboratory conditions, in the first trial after one month of storage no germination manifested in any treatment, on the other hand, in the second trial, a germinative power of 3.2% was obtained for the average of treatments, highlighting the best conservation method T3 transparent cover kept in refrigeration for one week, which showed 9.25% germinative power. From this study it is concluded that the conservation methods of seeds contribute in the preservation of *Cinchona pubescens* Vahl.

Key words: *Cinchona pubescens*, size, seeds, quality.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El Ecuador a pesar de ser un país pequeño es caracterizado como uno de los centros de biodiversidad mundial por su riqueza florística y faunística Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE , 2016), sin embargo, esta riqueza se encuentra amenazada por las actividades antropogénicas. Los bosques son destruidos por la extracción selectiva de madera, incendios forestales, la construcción de obras civiles, entre otros (Naturaleza y Cultura Internacional, 2006).

El género *Cinchona*, está considerado en el grupo de plantas medicinales de mayor importancia en el mundo debido a que su corteza contiene un alcaloide llamado quinina que ayudó a combatir las fiebres recurrentes o malaria. A nivel del país, se han identificado 12 especies de género *Cinchona*, pero solo se extrae de algunas de ellas, una de estas es *Cinchona pubescens*, misma que se ha aprovechado desde hace muchos años por su alto contenido de quinina. (Loján, 2003). La extracción de la corteza ha conducido al sobre aprovechamiento de este género. La zona de Intag es considerada como hábitat natural de esta especie; actualmente, ésta se ha convertido en un ecosistema amenazado debido a diversas actividades de extracción, comercialización y el poco conocimiento sobre conservación de las semillas, lo que ha provocado que desaparezcan los pocos árboles que quedan.

La conservación de semillas toma gran importancia, no sólo por los procesos de degradación que conllevan a la disminución de especies nativas como la cascarilla, sino también por el déficit de investigaciones en temas que prioricen la conservación de semillas en especies forestales nativas (MAE, 2013). Ante esto, el objetivo de la investigación fue determinar el método idóneo de conservación con diferentes tiempos de almacenamiento, varios tipos de envases y bajo condiciones naturales y controladas para semillas de *C. pubescens*, lo que permitió generar información científicamente comprobada para compartirlo con los habitantes de la zona.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General.

Determinar métodos de conservación con diferentes tiempos de almacenamiento, varios tipos de envases y bajo condiciones naturales y controladas para semillas de *Cinchona pubescens* Vahl.

1.1.2 Objetivos Específicos.

- Caracterizar morfológicamente la semilla de *Cinchona pubescens* Vahl.
- Determinar la calidad de las semillas *Cinchona pubescens* Vahl, tomando en cuenta las normas ISTA.

1.2 Hipótesis

H. 0.: Las condiciones de temperatura, tiempo y el tipo de envases no influyen en el comportamiento de las semillas de *Cinchona pubescens* Vahl, en lo que respecta con la germinación.

H. A.: Las semillas *Cinchona pubescens* Vahl, presentan diferentes comportamientos en lo que respecta a la germinación en al menos uno de los envases, tiempos y en una de las condiciones de temperatura.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Fundamentación legal

El presente estudio se enmarca en la siguiente normativa:

2.1.1 Constitución de la República del Ecuador de 2008 Art. 10 y del 71 al 74

La Constitución de la República del Ecuador de 2008, hace presente que en los siguientes artículos 10 y del 71 al 74, expresan los derechos sobre la naturaleza. Es así como la naturaleza será sujeto de aquellos derechos que se le reconozca en la Constitución (Asamblea Constituyente, 2008).

2.1.2 Código Orgánico Ambiental (COA)

En el Código Orgánico Ambiental en el art. 31 relacionado con la conservación de la biodiversidad, menciona que la conservación de la biodiversidad se realizará *in situ* o *ex situ*, en función de sus características ecológicas, niveles de endemismo, categoría de especies amenazadas de extinción, para salvaguardar el patrimonio biológico de la erosión genética, conforme a la política formulada por la Autoridad Ambiental Nacional (Asamblea Nacional, 2017).

2.1.3 Objetivo del Plan Nacional del Desarrollo (2017 – 2021)

El presente estudio se enmarca en el objetivo, las políticas y lineamientos estratégicos siguientes:

Objetivo 3. Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones (SENPLADES, 2017)

Política y lineamiento estratégico 3.3 Promover buenas prácticas ambientales que aporten a la reducción de la contaminación, a la conservación, a la mitigación y a la adaptación a los efectos del cambio climático, e impulsar las mismas en el ámbito global.

Política y lineamiento estratégico 3.4 Impulsar la economía urbana y rural, basada en el uso sostenible y agregador de valor de recursos renovables y la bio-economía, propiciando la corresponsabilidad social.

2.1.4 Línea de Investigación

El estudio se enmarca en la línea de investigación de la carrera: Desarrollo agropecuario y forestal sostenible.

2.2 Fundamentación teórica

2.2.1 El género *Cinchona* (quina, cascarilla, cinchona)

2.2.1.1 Historia

Hace casi 400 años las propiedades antimaláricas captaron la atención de la medicina europea, por lo que conllevó a una explotación de árboles de cascarilla en bosques andinos. Quina, cascarilla o cinchona es el nombre común que reciben todas las especies del género *Cinchona*; éstas poseen propiedades medicinales entre las que destacan su poder antimalárico Larreátegui y Lafuente (2013). La malaria ha ocasionado miles de muertes en Europa desde hace siglos, finalmente se encontró una cura efectiva; éste es el polvo extraído de la corteza amarga de un árbol conocido primero en la región de Loja, actual sur del Ecuador (Cuvi, 2018).

Dentro de la historia del aprovechamiento de la corteza de cinchona se formó una gran intrigante, primero se la extrajo de los bosques andinos, después fue dispersada por todo el mundo y finalmente se controló la genética en plantaciones en donde se crea nuevas especies. con el cruce entre *C. officinalis* y *C. pubescens* se logró obtener gran productividad de 18% de alcaloides totales en la corteza, de los cuales se obtiene un 13% de quinina (Loján, 2003). La corteza de quina ha curado especialmente a los económicamente ricos del mundo, al punto que en el siglo XXI la malaria es considerada una enfermedad de la pobreza (Worrall, *et al.* 2005)

2.2.1.1 Distribución natural

La distribución natural de la *Cinchona* comprende amplio rango desde Venezuela hasta Bolivia por presencia de la Cordillera de los Andes, (Figura 1). El mayor número de especies está al sur de Ecuador. Sin embargo, Loján, (2003) ha mencionado que en Ecuador se han

identificado 12 especies de ese género entre endémicas y otras como se detalla en la Tabla 1, pero la extracción de corteza solo se lo hacía de dos *C. officinalis* L. y *C. pubescens* Vahl, y siete especies restantes crecen en diferentes partes del país.

Las especies con mayor contenido de quinina en la corteza son:

C. officinalis L. esta especie fue una de las más conocidas y explotadas para curar la malaria, a pesar de su bajo contenido de quinina. Su hábitat esta entre los 1000 y 3500 msnm en casi todas las provincias de la Sierra.

C. pubescens Vahl., es una de las más importantes por su alto contenido de alcaloides y por ser utilizada en el fitomejoramiento. Se puede encontrar a una altitud entre los 300-3300 msnm. (Macedo, *et al.* 2016). Además, se la conoce como *C. succirubra*.

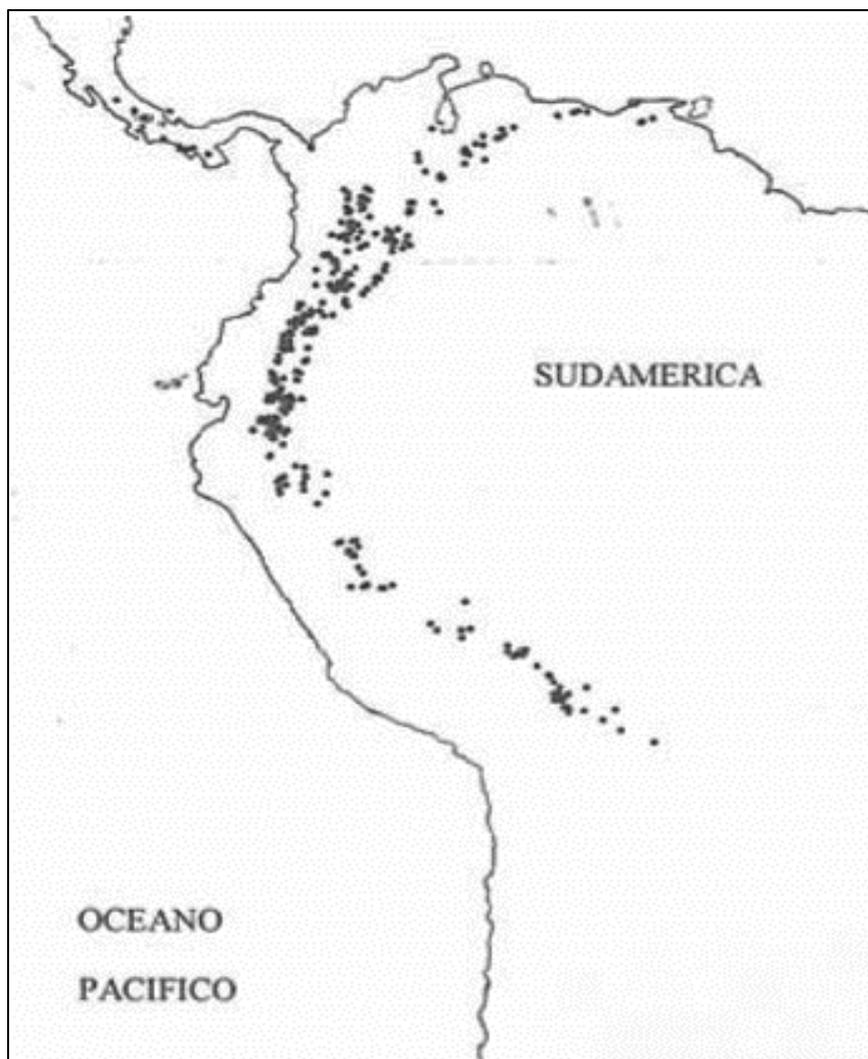


Figura 1: Mapa de distribución natural del género *Cinchona*.
Fuente: (Garmendia, 1999)

Tabla 1*Especies de Cinchona en el Ecuador*

Especie	Altitud donde crece	Lugar de colecta	
	<i>C. lucumifolia</i> Pav.	1500 y 3000 m.s.n.m.	Loja, Azuay, Cañar, Morona y Zamora
Endémicas	<i>C. capulí</i> L.	500 y 3000 m.s.n.m.	
	<i>C. mutisii</i> Lamb.	2000 y 3000 m.s.n.m.	Loja
	<i>C. rugosa</i>	2500 y 3500 m.s.n.m.	Azuay
	<i>C. barbacoensis</i> H. Karst	1000 y 2500 m.s.n.m.	Carchi
Otras especies	<i>C. lancifolia</i> Mutis.	1500 a 2500 m.s.n.m.	Napo, Sucumbíos y Tungurahua.
	<i>C. macrocalix</i> . Pav. ex DC.	2500 a 3000 msnm	Azuay, Cañar, Chimborazo, Cotopaxi e Imbabura.
	<i>C. parabólica</i> Pav.	1500 a 2000 msnm	Zamora.
	<i>C. pitayensis</i> Wedd	1300 a 3000 msnm	Carchi, Bolívar, Imbabura, Pichincha y Sucumbíos.
	<i>C. villosa</i> Pav. ex Lindl	500 a 1000 msnm	Zamora.
	<i>C. macrophylla</i> Mutis ex Lamb		Costa y en Galápagos

2.2.1.2 El Árbol Nacional del Ecuador

Ecuador país originario de la *Cinchona*, brindo al mundo un importante medicamento encontrado en la provincia de Loja, en donde salieron las primeras noticias de las virtudes medicinales de la quina, contra el paludismo y contra las diferentes fiebres malignas para la humanidad (Acosta M. , 1950).

Existen además otras razones por las cuales se considera a *Cinchona* debería ser el árbol nacional del Ecuador, una de estas es la primera denominación y descripción botánica de la cascarilla que la hizo el padre de la Botánica moderna, Carlos Linné, en 1742, con muestras de ramas colectadas en Loja por el geodésico francés La Condamine. La primera especie se llamó *C. officinalis* L. Además, la primera separación química de la quinina la hicieron Pelletier y Caventón a partir de cortezas de *C. pubescens*, enviadas desde la provincia de Bolívar.

Las grandes plantaciones de Java y otros países de las Indias Orientales, se debe al aporte genético de nuestra cascarilla Fernández (2013). Así mismo, por más de dos siglos los bosques

del Ecuador proveyeron la suficiente corteza de cascarilla al mundo y a las industrias de Europa y América, esto contribuyó a la salvación de la humanidad, contra las malarias y las fiebres, por esto se lo llamo el árbol de la vida o la planta salvadora de la humanidad. Finalmente, la cascarilla representa a las tres regiones naturales del Ecuador, pues habita en las estribaciones occidentales y orientales de las dos cordilleras de los Andes, incluso actualmente se encuentra en Galápagos a manera de plaga.

2.2.1.3 Importancia que tuvo la Cinchona

Si bien, es cierto existe varias versiones sobre el uso inicial de la quina, otras niegan el conocimiento medicinal indígena y la existencia de la malaria en América, los más afectados por el paludismo fueron los paltas, ellos fueron los primeros en conocer el uso medicinal la *Cinchona*, Loján (2003). Sin embargo, la historia más difundida en el mundo a través de los siglos data a 1638. En Perú la esposa del cuarto virrey conde de Chinchón, estaba desahuciada por el médico que la atendía, la fiebre obstinada se repetía y ningún medicamento era eficaz para aliviarla, entonces la noticia llegó a oídos de un lojano, quien conocía las virtudes de la corteza ya que él fue atacado de fuerte fiebre que lo puso al borde de la muerte, en aquella ocasión un indio de Malacotas le enseñó el remedio para curarse utilizando la corteza de quina, los indígenas la conocían con el nombre de corteza de quina-quina que en el idioma nativo malacota significa corteza-corteza. De esta manera, el lojano al conocer lo sucedido, envió en una caja corteza de quina pulverizada al médico que atendía a la condesa, con la recomendación de que aquello era la salvación para la condesa. Algunos días después la condesa sanó por completo (Campos, 1992).

La Condesa fue la primera persona en introducir la corteza a Europa, de aquí el nombre el polvo de la Condesa, con el cual durante mucho tiempo fue designado el polvo de la corteza de quina. Poco tiempo después, los Jesuitas residentes en España, concedores de los polvos de la Condesa, aprovecharon de sus misiones en el continente americano para importar corteza y venderla como “Polvo de los Jesuitas”. La corteza de *Cinchona* aparece por primera vez en la Farmacopea de Londres en 1677 con el nombre de Cortex Peruanus (Campos, 1992). De tal manera, en el siglo XVII se introduce la Quina o Cascarilla para tratar el paludismo, constituyéndose en el primer farmacoterapéutico que aportaba América a la Farmacopea Universal (Buitron, 1999).

El poder curativo de las quininas contra la malaria se debe a los alcaloides que tienen en su corteza. Los alcaloides de *Cinchona* son cuatro: cinchonina cinchonidina, quinidina y quinina,

cabe recalcar que la quinina es el más importante antimalárico (Mostacero & Mejía (2002)). Las especies del género *Cinchona* tienen diferentes concentraciones de alcaloides, algunas presentan de 1 a 2%, mientras que otras alcanzan más del 13% de concentración de alcaloides (Valverde (2010)). El mecanismo por el cual los alcaloides de quina previenen y curan la malaria en seres humanos es complejo, a grandes rasgos se podría decir que su poder radica en su capacidad de inhibir el crecimiento y la reproducción de las diversas especies de los letales *Plasmodium*, protozoarios causantes de la malaria (Díaz, 2008).

Alcaloides como la quinina y la quinidina aún son usadas en la medicina a pesar de ser desplazados por varios medicamentos sintéticos. Por su efecto anticronotrópico, la quinina se administra en el tratamiento de la taquicardia, ya que es capaz de disminuir la frecuencia ventricular habitualmente rápida (Villamañán, *et al.* 2015).

Lamba, *et al.* (2000) encontraron que la quinina actúa como un hipoglucemiante, por esto es usado en el tratamiento para personas con diabetes. Además, es utilizada como un tónico, aperitivo, cicatrizante, anestésico, entre otras propiedades medicinales (Marqués, 2013).

En el siglo XIX la demanda de quinina se abastecía con la tala de árboles de quina de Sudamérica. En 1753 en Ecuador se extraía principalmente en Chimborazo la *C. pubescens* y en Loja la *C. officinalis*, Crawford (2007). Sin embargo, para el siglo XX la demanda creció de tal manera que holandeses e ingleses decidieron establecer sus propias plantaciones en islas que estaban bajo su dominio y que reunían condiciones ambientales similares a las de los valles andinos de Sudamérica. Posteriormente la demanda bajó, porque se logró producir quinina por vía sintética y desaparece el interés por investigar sobre las cinchonas. Sin embargo, se continúa utilizando las plantaciones de algunos países de Asia y África y los árboles silvestres de América para satisfacer la demanda de la industria farmacéutica (Loján, 2003).

2.2.1.4 Descripción botánica de la *Cinchona*

Según Palacios (2014), el género *Cinchona* presenta la siguiente descripción botánica:

- **Árbol:** se trata de un género que alcanza alturas de < 15 m.
- **Corteza externa:** en varias especies, formando plaquitas.
- **Hojas:** rojizas, pubescentes o con mechones de pelos en las axilas, menos frecuente glabras; estípulas planas, anchas-elípticas.

- **Flores:** Inflorescencia una panícula terminal. Corola tubular magenta, rosada, rojiza, con largos pelos en el interior.
- **Fruto:** Fruto una cápsula bivalvada, cilíndrica, dehiscente, 2–5 cm de largo.

2.2.1.4.1 Taxonomía de *C. pubescens*.

- Orden: Gentianales Juss. Ex Bercht. Y J Presl
- Familia: Rubiaceae.
- Género: *Cinchona*.
- Especie: *pubescens* Vahl.
- Nombre Científico: *C. pubescens* Vahl.
- Nombres comunes: cinchona, cascarilla o quina: Bolivia, Perú y Ecuador

2.2.2 La semilla

Según Galarraga, (1982), la semilla es el óvulo fecundado, desarrollado y maduro, el cual está formado por la cubierta o testa, el embrión y el endospermo. La semilla es considerada como un principal recurso para la reproducción usado para la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas que han son sobreexplotadas.

2.2.2.1 Características generales de la semilla

Las características de semillas, constituyen una parte esencial en el proceso de reproducción (Bautista, 2012). Entre las características generales que presenta las semillas se encuentra: tamaño, aspecto externo y color.

2.2.2.1.1 Tamaño

El tamaño de las semillas es considerado como uno de los rasgos vegetales de mayor relevancia ecológica y, consecuentemente, ha sido uno de los más profundamente estudiados. Su importancia radica en ser un rasgo que ocupa una posición pivotante en la ecología de las plantas, al estar asociado con la capacidad de dispersarse y establecerse (Rey y Herrera, 2005).

Romero, (2015) menciona que las semillas *C. officinalis* miden un promedio de 5.1 mm de largo x 2.47 mm de ancho. Su embrión es diminuto, de color crema y foliados.

2.2.2.1.2 Forma

Las formas de las semillas son muy variables, Herrera (2016), menciona que se puede encontrar formas redondas o redondeadas, ovaladas, alargadas, reniformes. Por otra parte Romero (2015), manifiesta que los embriones de las semillas de *C. officinalis* diminutos espatulados con cotiledones redondeados rodeados de endospermo.

2.2.2.1.3 Aspecto externo

Las semillas en su aspecto externo pueden ser rugosas o lisas, duras o blandas, peludas, estriadas, aladas, brillantes u opacas, Herrera (2016).

2.2.2.1.4 Color

Herrera (2016), menciona que las semillas presentan variedad de colores, pero generalmente son de color amarillento pardo o marrón, blancas, entre otros. Afirma Romero, (2015) que las semillas de *C. officinalis* son de color café amarillento.

2.2.2.2 Clasificación de semillas en función de su tolerancia a la desecación

Las semillas pierden su contenido de humedad, una vez que son extraídas o liberadas del fruto, cuando se las somete a procesos de desecación. (Camacho, 1994), las clasifica en:

- **Semillas ortodoxas:** son tolerantes a la desecación, se dispersan y conservan luego de alcanzar un bajo porcentaje de humedad.
- **Semillas recalcitrantes:** son sensibles a la desecación, se dispersan junto con los tejidos del fruto (caroso) con altos contenidos de humedad.

2.2.2.2 Conservación de semillas

La conservación es una de las alternativas que se ha venido empleando para la preservación de semillas con fines de investigación, la cual se desarrolla en dos formas básicas:

2.2.2.2.1 Conservación ex situ

Consiste en el establecimiento de métodos de conservación, los cuales implican la recolección de muestras representativas de la variabilidad genética de una especie y su mantenimiento fuera de las condiciones naturales en las que la especie ha evolucionado (Iriundo, 2001).

2.2.2.2 Conservación in situ

Tiene la finalidad de proteger los ecosistemas naturales, es decir mantiene las poblaciones de las especies que los componen o recuperándolas Baena, Jaramillo y Esteban, (2003). La conservación *in situ* se refiere a mantener las muestras representativas en los sitios en donde han desarrollado sus características, es decir en su propio hábitat.

Mejía, Suni y Albán, (2012), menciona que el porcentaje de germinación tiene una relación indirectamente proporcional con el tiempo de conservación ya que, *C. krauseana* al almacenarse durante (1, 2 y 3) semanas obtuvo un porcentaje de germinación de (46, 26 %, 43, 60 y 40, 73 % respectivamente).

2.2.2.3 Condiciones de conservación de las semillas

Las condiciones de conservación se encuentran preestablecidas por la temperatura en donde se considera:

2.2.2.3.1 Condiciones de conservación al Natural

Según Simón y Pire, (2010) las semillas pueden ser conservadas en condiciones naturales en un área en donde las temperaturas no sean muy cambiantes sobre todo depende de la época del año, debido a que las altas temperaturas pueden dañar a las semillas y reducir por consiguiente el porcentaje de germinación.

2.2.2.3.2 Condiciones de conservación en Refrigeración

Las semillas pueden ser conservadas en condiciones de refrigeración, simplemente se los coloca en pequeños frigoríficos, se debe tomar en cuenta que los envases en los que se encuentran las semillas deben estar bien cerrados no entre humedad, para mantener y conservar las semillas, lo ideal serian temperaturas de entre 2 °C y 16 °C (Rao, *et al.* 2006).

2.2.2.4 Envases generalidades

2.2.2.4.1 Tipos de envases para conservación de las semillas

Los envases poseen varias funciones y deben atender a los objetivos específicos como: resistencia, porosidad o impermeabilidad, rigidez, durabilidad y posibilidad de reutilización,

facilidad de impresión, transparencia, capacidad, resistencia a insectos y roedores, (Seednews, 2003).

Existe diferentes envases que son idóneos para conservar semillas como envases de vidrio, de plástico o fundas y de origen animal, sin embargo, se debe sellar el envase con la finalidad de que no exista contacto con la intemperie y no altere los resultados (Ortiz, Fé y Ponce, 2004).

(Seednews, 2003), clasifica los envases en permeables y semipermeables, en función al intercambio de humedad que puede ocurrir entre la semilla y el medio ambiente que las rodea.

2.2.3 Análisis de calidad de las semillas

La calidad de las semillas es una parte fundamental que se debe considerar dentro de la producción y conservación de semillas. Los procedimientos para su realización se encuentran normados a través de la (Asociación Internacional de Análisis de Semillas [ISTA], 2016). Las normas ISTA son técnicas estandarizadas que permite obtener resultados uniformes.

2.2.3.1 Pureza

La pureza significa el grado de limpieza de las semillas en una determinada muestra. Se debe considerar que en la muestra seguramente habrá materia inerte que incluye tierra, paja o parte de semillas. Esos materiales inertes se deben considerar, ya que suman al peso total de la muestra y, en consecuencia, habrá menor proporción de la semilla deseada. (Lallana, Garcia y Elizalde, 2011).

Caraguay *et al.*, (2016) manifiesta que la pureza de las semillas de *C. officinalis* L., en promedio es baja 38,04 %. y por ende una baja viabilidad (0,58%); lo que dificulta la propagación.

2.2.3.2 Contenido de Humedad

De acuerdo con ISTA (2016), el contenido de humedad se expresa como el peso del agua contenida con respecto al porcentaje del peso total de la semilla sometida al secado. Es necesario conocer el contenido de humedad de las semillas, para evitar los problemas de contaminación durante la conservación de las semillas.

2.2.3.3 Peso de semillas

El peso de las semillas se expresa normalmente como el peso de 1 000 semillas puras. ISTA (2016), indica que se debe utilizar ocho réplicas de 100 semillas puras cada una, a las que se calcula la desviación típica, el coeficiente de variación y la media. Se debe tomar en cuenta que si el valor de coeficiente de variación es inferior al máximo de 4.0 % la muestra es considerada homogénea por lo que no será necesario una toma de nuevas muestras.

Romero (2015), afirma que las semillas de *C. officinalis* presentan un peso promedio de 3.30e-04 gramos por semilla.

2.2.3.4 La germinación en especies del género Cinchona

Acosta (1950) señala que la semilla del género *Cinchona* pierden rápidamente su viabilidad, cuando las semillas están frescas germinan entre un periodo de 11 y 20 días y si son viejas el porcentaje de germinación disminuye según sea el periodo de almacenamiento.

Al almacenar semillas de *C. krauseana* (1,2 y 3 semanas) con menor contenido de humedad el porcentaje de germinación tiende a ser mayor, 54%, 39% y 37% el porcentaje de germinación, (Mejía, Suni y Albán 2012).

En semillas de *C. pubescens* recién colectadas y expuestas a la luz durante el proceso de germinación, alcanzan un porcentaje de hasta el 70% y estas no pueden estar almacenadas por periodos largos de tiempo puesto que pierden su viabilidad, (Rentería 2002).

En *C. officinalis* la germinación en laboratorio es de 27% a los 40 días y en semillas que han sido almacenadas en condiciones de bajas temperaturas por periodos de 3 meses aproximadamente, pueden alcanzar porcentajes de germinaciones hasta un 7% bajo condiciones de invernadero, (Diaz y Loján 2004).

2.2.3.5 Investigaciones sobre Germinación en Cinchonas

Se han desarrollado pocas investigaciones de *C. pubescens* en el Ecuador, hasta la fecha las investigaciones realizadas con respecto al tema en estudio no han tenido resultados satisfactorios. A continuación, se muestran algunos estudios concernientes con el género.

(Armijos y Sinche, 2013), en su proyecto de investigación orientado a buscar nuevas alternativas eficaces de “Multiplicación sexual y asexual de *C. officinalis*, Con la finalidad de

mejorar la propagación in vivo de la especie forestal *C. officinalis* L., se practicaron varias técnicas de propagación sexual y asexual. Con respecto a la propagación sexual por semillas se probaron tres tipos de sustratos más dos testigos: sustrato tierra, arena y turba, a través de la reproducción sexual por semillas utilizando los resultados de germinación fueron satisfactorios de 70.67%.

(Bastidas, 2017), en su investigación proponen “Evaluar la propagación sexual y asexual de la Cascarilla, *Cinchona officinalis* L., con fines de potencial reproductivo en el vivero Catigлата del Consejo Provincial de Tungurahua; ubicado en la parroquia Izamba, su desarrollo implicó un solo tipo de sustrato y el uso de un fertilizante biológico (Micorriza líquida y en polvo) en las semillas de Cascarilla, *Cinchona officinalis* L y dos tipos de hormonas enraizantes (Hormonagro 1 y Phytoroot), los fueron resultados satisfactorios, obtuvieron mayor porcentaje de germinación del 61.67%.

(Albán, 2012), en su investigación obtuvo como resultado que *C. krauseana* L., en cuanto al tiempo de almacenamiento existe mayor porcentaje de germinación a la primera semana, seguida de la segunda y tercera (46.26%, 43.60% y 40.73% respectivamente). Además, señala que el porcentaje de germinación tiene una relación indirectamente proporcional con el contenido de humedad de la semilla de *C. krauseana* y una relación directamente proporcional con el tiempo de almacenamiento

(Yaguana, 2016), en su estudio sobre el potencial productivo y análisis de calidad de semillas de *C. officinalis* L., provenientes de relictos boscosos en la provincia de Loja; obtuvo como resultado que la pureza de las semillas de *C. officinalis*, en promedio fue muy baja 38,04 %. El contenido de humedad en los cuatro sitios de estudio, en promedio fue muy alto (81,96 %), razón por la cual se consideran como semillas recalcitrantes. La germinación de las semillas a nivel de laboratorio tuvo un mayor porcentaje de germinación en presencia de la luz (70,5 %) y en menor cantidad en la oscuridad (50 %), con un porcentaje promedio de viabilidad del 0,58 %, que es muy bajo, lo que demuestra que la semilla pierde rápidamente su poder germinativo.

(Suárez, 2018) en su investigación tuvo como fin caracterizar las semillas de *Cinchona capuli* L. Andersson y *C. lancifolia* Mutis y determinar el efecto de las rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR) en la germinación y la formación de plántulas. Para la caracterización de las semillas, en esta investigación se evaluó el tamaño, peso, viabilidad, contenido de

humedad y tolerancia a la desecación. Obtuvo que las semillas de *C. lancifolia* presentaron mayor tamaño y peso que las semillas de *C. capuli*. Las semillas de *C. lancifolia* recolectadas en junio del 2016 mostraron 12.4% de contenido de humedad y 48.9% de viabilidad, en cambio las semillas colectadas en agosto del 2017 presentaron 9.8% de contenido de humedad y 81.1% de viabilidad, esto demuestra que la viabilidad y contenido de humedad depende de la madurez del fruto. Las semillas de *C. capulí* presentaron 10.6% de contenido de humedad y 88.9% de viabilidad, la cual luego de 1 año de almacenamiento se redujo a 57.8%. Esto indicó que la viabilidad de las semillas se pierde con el tiempo.

2.2.3.5 Poder germinativo

Es el porcentaje de semillas que germinó y desarrolló plántulas normales, cuando se colocó en condiciones ambientales óptimas para su crecimiento Castelán, Ciotti, Tomei, Masat y Hack, (2016).

2.2.3.6 Vigor germinativo

Ceballos y Lopez (2007) manifiestan que el vigor germinativo se define como el potencial o capacidad de la semilla durante la germinación y emergencia de la plántula. Las semillas de alto vigor se conservan más tiempo, germinan más rápido y resisten condiciones adversas de germinación.

2.2.3.7 Energía germinativa

Se entiende por energía germinativa al porcentaje de plántulas normales halladas en el primer conteo del análisis de poder germinativo. Es un indicador de la velocidad de emergencia y se utiliza para comparar muestras de igual poder germinativo Gómez, *et al.*, (2018)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del sitio

3.1.1 Política

La investigación se desarrolló en dos fases:

La fase de campo se realizó en el predio de Don Miguel Sierra, comunidad de Pucará, sector Pucará Alto, parroquia Apuela, zona de Intag, cantón Cotacachi, provincia de Imbabura, (Figura 2).

La fase de laboratorio se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Técnica del Norte, ubicado en el Barrio San Francisco, cantón Ibarra, provincia de Imbabura.

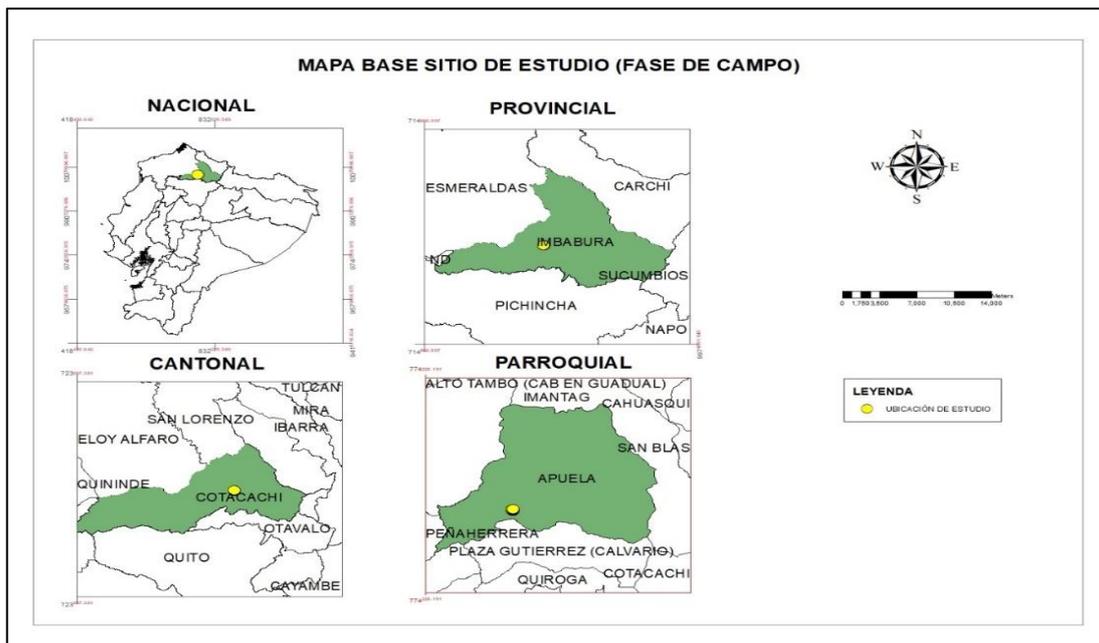


Figura 2. Mapa de ubicación del sitio.

3.1.2 Geográfica

El predio de Don Miguel Sierra se encuentra ubicado a los $0^{\circ}21'55''$ N de altitud, $78^{\circ}29'29''$ W de longitud y entre los 2100-2300 msnm (Registro de Campo, 2018).

3.1.3 Límites

El predio de Don Miguel Sierra limita al Norte: comunidad de Santa Rosa, al Oeste: con el predio de Eladio Almeida, al Este: con el predio de Mesías Játiva y al Sur: vía a Irubí (Sierra, com. pers., Julio 2018).

3.2 Datos climáticos

La temperatura de la comunidad Pucará donde se encuentra el sitio que realizó la fase de campo oscila entre 20°C a 24°C. La precipitación anual está entre los 1000 a 3000 mm distribuida en dos épocas. La época seca se extiende desde junio a septiembre y la época lluviosa desde octubre a mayo (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología [INAMHI], 2015)

La temperatura al interior del laboratorio de Biotecnología Vegetal está entre 18°C a 23°C. La humedad relativa del aire es del 40 a 50 % (Registro de Laboratorio, 2018)

3.3 Materiales, equipos e insumos

3.3.1 Equipos e instrumentos

- Podadora aérea
- Libreta de campo
- Equipo informático
- Cámara fotográfica
- Refrigerador
- Balanzas de precisión
- GPS
- Estufa
- Computador
- Software (ArcGis 10.5, Excel 2010, Infostat 2008 y Bibliotecas virtuales)

3.3.2 Material vegetal e insumos

- Semillas de *Cinchona pubescens* Vahl.
- Cajas Petri.
- Vidrios reloj.
- Vasos de precipitación.
- Pinzas para disección.
- Papel absorbente.
- Bandejas plásticas.
- Rociador de agua.
- Frascos translucido y ámbar.

- Fundas plásticas translucidas y oscuras.
- Guantes de procedimiento.

3.4 Metodología

La investigación consto de dos fases que se detallan a continuación:

3.4.1 Fase de campo

3.4.1.1 Selección del sistema silvopastoril

Con la aceptación por parte del propietario para el ingreso y la disponibilidad de la especie en predio se seleccionó el sistema silvopastoril (Anexo B, Figura 11). El sistema silvopastoril seleccionado presentó una superficie de 1.5 ha en el cual se observaron 345 individuos de la especie establecidos en las pasturas.

3.4.1.2 Población y muestra

3.4.1.2.1 Selección de individuos

Se seleccionaron 30 individuos de *C. pubescens* en el sistema silvopastoril, (Tabla 14). Para la selección se tomó como referencia el Manual de Procedimiento para Identificación de Fuentes Semilleras y Árboles Plus (Ministerio de Agricultura, Acuacultura, Ganadería y Pesca [MAGAP], 2016) al cual se realizó un ajuste en vista que algunas de las variables propuestas no concuerdan con la morfología de la especie *C. pubescens*, por tanto, se adecuó variables dasométricas y fenotípicas que permitieron realizar la toma de datos a cada uno de los individuos de la población. Estas variables se detallan en la Tabla 2.

3.4.1.2.2 Población

Se tomó una población de 30 individuos, distribuidos al azar en el sistema silvopastoril, los cuales fueron evaluados con cada una de las variables señaladas en la Tabla 2.

3.4.1.2.3 Determinación de Muestra

Con los resultados tomados a los individuos de la población, se procedió a realizar un análisis estadístico de correlación entre las variables Altura Total (Ht) y Espesor de corteza; Diámetro a la Altura del Pecho (DAP) y Espesor de corteza, con el que se obtuvo el tamaño de

muestra, de 15 individuos que se encontraron al 95% de confiabilidad de correlación, (Tabla 15). Se registraron coeficientes de correlación: $r = -0.17866$ y $r = 0.08429$ correspondientemente, al nivel del 95% de probabilidad estadística (Anexo B, Figura 28).

Tabla 2.

Variables dasométricas y fenotípicas medidas para la toma de datos.

Variables dasométricas	
Diámetro a la altura del pecho (DAP).	Se realizó una medición al 1.30 m de la altura del árbol, donde se utilizó una cinta diamétrica expresada en (cm) se hizo la toma del DAP de cada uno de los individuos de la muestra.
Diámetro de copa	El diámetro de copa fue determinado mediante la medición de la proyección de los extremos de la copa sobre el suelo, en dos direcciones Norte – Sur y Este – Oeste. Esta medición fue realizada con una cinta métrica expresada en (cm). A cada uno de los individuos de la muestra.
Altura total (Ht)	La Altura total fue medida a los 15 m de separación del árbol con un clinómetro a cada uno de los individuos. Esta medición se expresa en metros.
Espesor de la corteza	Se realizó un corte pequeño de la corteza en cada individuo. Se extrajo el pedazo de corteza y se procedió a medir con un pie de rey. La unidad de medida fue en cm.
Variables fenotípicas	
Forma del fuste	Se tomaron los siguientes parámetros para identificar la forma del fuste en los individuos: <ul style="list-style-type: none"> • Recto y cilíndrico • Ligeramente torcido • Torcido • Muy torcido
Estado fitosanitario	Se consideraron dos parámetros para determinar el estado fitosanitario de los individuos: <ul style="list-style-type: none"> • Sano • Enfermo

3.4.1.3 Recolección del material vegetativo

La recolección de los frutos se realizó entre los meses de agosto-noviembre, se consideró el color del fruto, el mismo que presentó una coloración entre marrón y pardo (Anexo B, Figura 16). La extracción de los frutos se la obtuvo de la parte intermedia de la copa de los 15 árboles seleccionados en la muestra, mediante una podadora aérea, finalmente se empacaron fundas plásticas costaleras (Anexo 1, Figura 15 y 16). Se obtuvo un aproximado de 15 kg de frutos de la especie. Para su posterior transporte a las instalaciones del laboratorio de Biotecnología vegetal de la UTN.

3.4.2. Fase de Laboratorio

3.4.2.1 Secado de los frutos, selección, extracción de semillas

El secado de los frutos se realizó mediante exposición a la luz del sol por siete horas, durante tres días. Los frutos fueron colocados en una tela y removidos constantemente para obtener un secado homogéneo (Anexo 1, Figura 17). Para la extracción de semillas se seleccionó frutos con buen estado fitosanitario, el proceso de extracción se lo realizó manualmente, del cual se obtuvo un aproximado de 13 g de semillas (Anexo 1, Figura 18).

3.4.2.2 Variables utilizadas para caracterizar morfológicamente las semillas de *C. pubescens*

Las variables que permitieron caracterizar a las semillas se detallan a continuación:

3.4.2.2.1 Tamaño

El tamaño se determinó con base a la metodología propuesta por Gunn (1984). Esta metodología consistió en medir a cada una de las semillas el largo y ancho expresada en milímetros como se indica a continuación:

$$\text{Tamaño} = l(mm) \times a(mm) \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

l = largo de la semilla en mm (extremo superior hasta el extremo inferior).

a = ancho de la semilla en mm (la proporción media más ancha de la semilla).

Para la respectiva medición se preparó una placa, la cual estuvo conformada por papel milimetrado y sobre este 15 semillas de la especie, mismas que fueron colocadas dentro de una caja Petri, para la respectiva observación en el estereoscopio y la toma de mediciones, (Anexo B, Figura 19, 20). En las mediciones se consideró el largo y ancho de la semilla, siempre en ese orden y expresado en milímetros, los valores obtenidos fueron promediados para obtener el tamaño correspondiente de la semilla.

3.4.2.2.2 Forma

Para definir la forma de las semillas, se tomó en cuenta lo propuesto por Murley (1951) quien define las formas de las semillas en: elípticas, ovaladas, oblongas, rómbicas, fusiformes, lanceoladas, redondeadas u orbiculares; caras convexas o planas, citado por Bravato (1974) y Gunn (1984), (Figura 3). Se emplearon 15 semillas para definir la forma, fueron comparadas con cada una de las formas anteriormente mencionadas con la finalidad de determinar la forma de semilla adecuada para la especie.

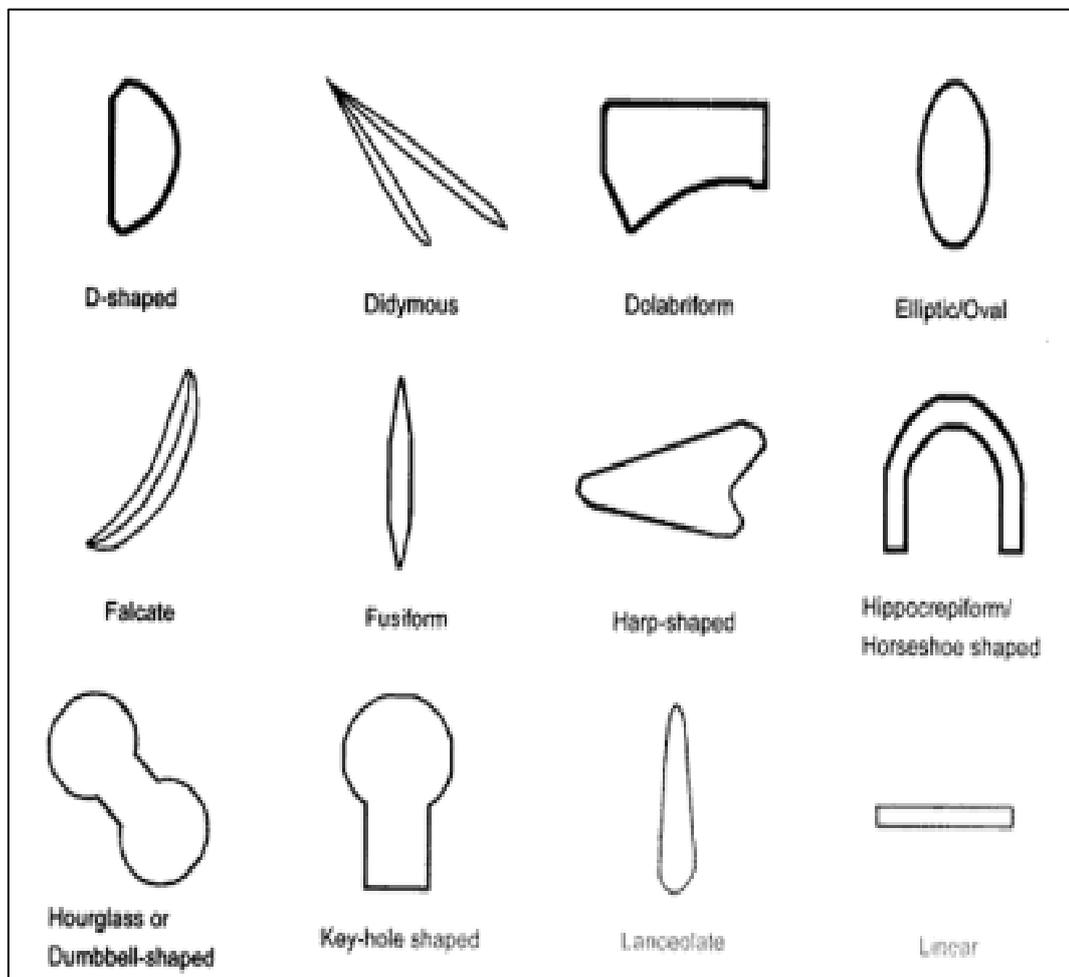


Figura 3. Formas de las semillas.
Fuente: (Murley, 1951)

3.4.2.2.3 Color

Para la determinación del color se empleó la metodología de Gunn (1984), quien, a través de la observación directa, contrastó el color que presentan las semillas con la carta de colores de Munsell (2000), como se evidencia en la Figura 4. Para la especie se utilizaron 15 semillas.

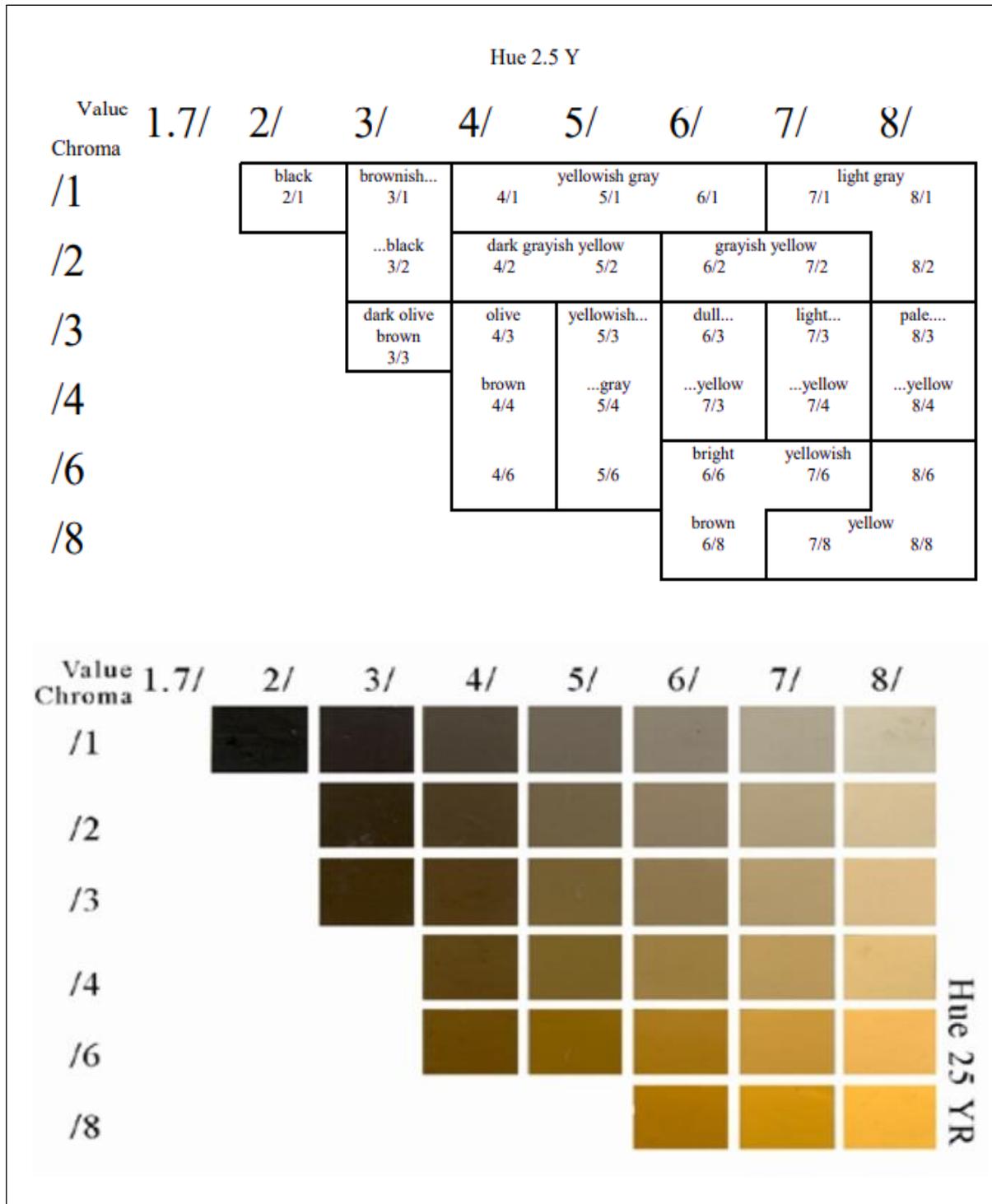


Figura 4. Cartilla de colores de Munsell

Fuente: Munsell (2000)

3.4.2.2.3 Brillo

Para la identificación del brillo se empleó lo indicado por Murley (1951) el brillo que presentan las semillas puede ser: brillante u opaca, citado por Bravato (1974) y Gunn (1984). Se preparó una placa que estuvo conformada por el papel bond colocado dentro de una caja Petri, posteriormente se colocaron las 15 semillas que fueron observadas a través del estereoscopio para visualizar la ausencia o presencia de brillo.

3.4.2.2.3 Textura.

Para la determinación de la textura se utilizaron 15 semillas. Se tomó como referencia la clasificación de Bravato (1974), en donde alude que la textura de las semillas puede ser: lisa, rugosa, porosa o con líneas de fractura. Esta característica se determinó mediante el empleo del sentido del tacto y la vista.

3.4.3 Primer y segundo ensayo de conservación

En el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la UTN, se establecieron dos ensayos que se diferenciaron por el factor tiempo, mismo que se detalla en la Tabla 3 y 4. Las semillas fueron sometidas a la aplicación de cada uno de los tratamientos de conservación, que se muestran en la Tabla 5 y 6. Cada tratamiento contenía 0.0155g de semillas (Anexo B, Figura 24). Al transcurso de cada nivel de tiempo por ensayo se realizó pruebas de germinación.

3.4.3.1 Diseño experimental

Se empleó un diseño tri-factorial: siendo el principal los envases, otro los medios y el último el tiempo, en los dos ensayos de conservación.

3.4.3.2 Factores de estudio

En el primer el primer ensayo de conservación, se evaluó tres factores con cuatro, dos y seis niveles, como se detalla en Tabla 3.

Tabla 3.

Factores y niveles que fueron estudiados en el primer ensayo.

Factor A (envases)	Factor B (medios)	Factor C (Tiempo)
A1 cristal translucido. A2 cristal ámbar. A3 funda plástica translucida. A4 funda plástica oscura.	B1 natural B2 refrigeración 6-8°C.	C1 tiempo (1 mes) C2 tiempo (2 meses) C3 tiempo (3 meses) C4 tiempo (4 meses) C5 tiempo (5 meses) C6 tiempo (6 meses)

En el segundo ensayo de conservación, se evaluó tres factores con cuatro, dos y cuatro niveles (Tabla 4).

Tabla 4.

Factores y niveles que fueron estudiados en el segundo ensayo.

Factor A (envases)	Factor B (medios)	Factor C (Tiempo)
A1 cristal translucido. A2 cristal ámbar. A3 funda plástica translucida. A4 funda plástica oscura.	B1 natural B2 refrigeración 6-8°C.	C1 tiempo (1 semana) C2 tiempo (2 semanas) C3 tiempo (3 semanas) C4 tiempo (4 semanas)

3.4.3.3 Tratamientos

Se evaluaron 48 tratamientos durante el primer ensayo, producto de la combinación entre los factores A, B, C, los cuales fueron diferenciados por su respectiva codificación como se detalla en la tabla que está a continuación:

Tabla 5.*Descripción de tratamientos y factores evaluados en el primer ensayo.*

Tratamiento	Factor A	Factor B	Factor C	Código
T1	CT	R	T1	CTRT1
T2	CC	R	T1	CCRT1
T3	FT	R	T1	FTRT1
T4	FC	R	T1	FCRT1
T5	CT	N	T1	CRNT1
T6	CC	N	T1	CCNT1
T7	FT	N	T1	FTNT1
T8	FC	N	T1	FCNT1
T9	CT	R	T2	CTRT2
T10	CC	R	T2	CCRT2
T11	FT	R	T2	FTRT2
T12	FC	R	T2	FCRT2
T13	CT	N	T2	CRNT2
T14	CC	N	T2	CCNT2
T15	FT	N	T2	FTNT2
T16	FC	N	T2	FCNT2
T17	CT	R	T3	CTRT3
T18	CC	R	T3	CCRT3
T19	FT	R	T3	FTRT3
T20	FC	R	T3	FCRT3
T21	CT	N	T3	CRNT3
T22	CC	N	T3	CCNT3
T23	FT	N	T3	FTNT3
T24	FC	N	T3	FCNT3
T25	CT	R	T4	CTRT4
T26	CC	R	T4	CCRT4
T27	FT	R	T4	FTRT4
T28	FC	R	T4	FCRT4
T29	CT	N	T4	CRNT4
T30	CC	N	T4	CCNT4
T31	FT	N	T4	FTNT4
T32	FC	N	T4	FCNT4
T33	CT	R	T5	CTRT5
T34	CC	R	T5	CCRT5
T35	FT	R	T5	FTRT5
T36	FC	R	T5	FCRT5
T37	CT	N	T5	CRNT5
T38	CC	N	T5	CCNT5
T39	FT	N	T5	FTNT5
T40	FC	N	T5	FCNT5
T41	CT	R	T6	CTRT6
T42	CC	R	T6	CCRT6
T43	FT	R	T6	FTRT6
T44	FC	R	T6	FCRT6
T45	CT	N	T6	CRNT6
T46	CC	N	T6	CCNT6
T47	FT	N	T6	FTNT6
T48	FC	N	T6	FCNT6

Factor A (envases): CT= cristal traslucido; CC= cristal ámbar; FT=funda transparente; FC= funda oscura Factor B (medios): R= refrigeración; N= natural. Factor C (tiempos): T1= 1 mes; T2= 2 meses; T3= 3 meses; T4= 4 meses; T5= 5 meses; T6= 6 meses.

En el segundo ensayo, se evaluaron 32 tratamientos producto de la combinación entre los factores A, B, C. Estos fueron diferenciados por su respectiva codificación como se detalla en la siguiente tabla.

Tabla 6.

Descripción de tratamientos y factores estudiados en el segundo ensayo.

Tratamiento	Factor A	Factor B	Factor C	Código
T1	CT	R	T1	CTRT1
T2	CC	R	T1	CCRT1
T3	FT	R	T1	FTRT1
T4	FC	R	T1	FCRT1
T5	CT	N	T1	CRNT1
T6	CC	N	T1	CCNT1
T7	FT	N	T1	FTNT1
T8	FC	N	T1	FCNT1
T9	CT	R	T2	CTRT2
T10	CC	R	T2	CCRT2
T11	FT	R	T2	FTRT2
T12	FC	R	T2	FCRT2
T13	CT	N	T2	CRNT2
T14	CC	N	T2	CCNT2
T15	FT	N	T2	FTNT2
T16	FC	N	T2	FCNT2
T17	CT	R	T3	CTRT3
T18	CC	R	T3	CCRT3
T19	FT	R	T3	FTRT3
T20	FC	R	T3	FCRT3
T21	CT	N	T3	CRNT3
T22	CC	N	T3	CCNT3
T23	FT	N	T3	FTNT3
T24	FC	N	T3	FCNT3
T25	CT	R	T4	CTRT4
T26	CC	R	T4	CCRT4
T27	FT	R	T4	FTRT4
T28	FC	R	T4	FCRT4
T29	CT	N	T4	CRNT4
T30	CC	N	T4	CCNT4
T31	FT	N	T4	FTNT4
T32	FC	N	T4	FCNT4

Factor A (envases): CT= cristal traslucido; CC= cristal ámbar; FT=funda transparente; FC= funda oscura Factor B (medios): R= refrigeración; N= natural; Factor C (tiempos): T1= 1 semana; T2= 2 semanas; T3= 3 semanas; T4= 4 semanas.

3.4.3.5 Características de las pruebas de germinación por ensayo.

3.4.5.1.1 Primer ensayo.

Tratamientos: 48

Repeticiones: 4

Unidades experimentales: 192

Número de semillas por unidad experimental: 100

3.4.5.1.2 Segundo Ensayo

Tratamientos: 32

Repeticiones: 4

Unidades experimentales: 128

Número de semillas por unidad experimental: 100

3.4.3.6 Prueba de Tukey

Para el análisis funcional se empleó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad estadística.

3.4.3.7 Análisis estadístico

Tomando en cuenta el diseño experimental utilizado se aplicó los siguientes análisis de varianza en cada ensayos, como se detalla en la Tabla 7 y 8.

Tabla 7.

Análisis de Varianza para el primer ensayo.

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	$t - 1$	$48 - 1 = 47$
Factor A: envases	$e - 1$	$4 - 1 = 3$
Factor B: medios	$m - 1$	$2 - 1 = 1$
Factor C: tiempos	$a - 1$	$6 - 1 = 5$
A * B	$(e - 1)(m - 1)$	$(4 - 1)(2 - 1) = 3$
A * C	$(e - 1)(a - 1)$	$(4 - 1)(6 - 1) = 15$
C * B	$(a - 1)(m - 1)$	$(2 - 1)(6 - 1) = 5$
A * B * C	$(e - 1)(m - 1)(a - 1)$	$(4 - 1)(2 - 1)(6 - 1) = 15$
Error	$t(n - 1)$	$48(4 - 1) = 144$
Total	$tn - 1$	$(48 * 4) - 1 = 196$

e=envases, m=medios, a=tiempo, n=numero

Tabla 8.*Análisis de varianza para el segundo ensayo.*

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	$t - 1$	$32 - 1 = 31$
Factor A: envases	$e - 1$	$4 - 1 = 3$
Factor B: medios	$m - 1$	$2 - 1 = 1$
Factor C: tiempos	$a - 1$	$4 - 1 = 4$
A * B	$(e - 1)(m - 1)$	$(4 - 1)(2 - 1) = 3$
A * C	$(e - 1)(a - 1)$	$(4 - 1)(4 - 1) = 9$
C * B	$(a - 1)(m - 1)$	$(4 - 1)(2 - 1) = 3$
A * B * C	$(e - 1)(m - 1)(a - 1)$	$(4 - 1)(2 - 1)(4 - 1) = 9$
Error	$t(n - 1)$	$32(4 - 1) = 96$
Total	$tn - 1$	$(32 * 4) - 1 = 127$

e=envases, m=medios, a=tiempo, n=numero

3.4.5.5 Variables utilizadas para determinar la calidad de semillas

La calidad de las semillas se la determinó con base de las Normas ISTA (2016). Las variables que definieron la calidad para la especie se detallan a continuación:

- **La pureza**

Para determinar la pureza se tomó tres muestras de 1g de semillas. Luego se retiró las impurezas existentes en cada muestra y finalmente se realizó el pesaje de las semillas sin impurezas (Anexo B, Figura 21). Con los datos obtenidos se aplicó la fórmula prescrita por las ISTA (2016), en donde se dividió el peso total de las tres muestras de las semillas sin impurezas para el peso total inicial de las muestras y multiplicándolo por 100 para tener así el porcentaje de pureza.

$$P = \frac{\text{Peso de semillas pura}}{\text{peso total de la muestra}} * 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

- **Peso de 1000 semillas**

El peso de 1000 semillas se determinó con la ecuación establecida por ISTA (2016). Se tomaron ocho repeticiones de 100 semillas del componente de pureza (Anexo B, Figura 22). Las ocho repeticiones fueron pesadas individualmente; con el peso que se obtuvo por cada repetición se procedió a sacar el total y su media. Cabe mencionar que se tomó en cuenta que el valor del coeficiente de variación sea inferior al máximo de 4 % que prescribe la ISTA, por lo que se consideró la muestra sea homogénea y no sea necesario tomar nuevas muestras.

$$\delta \frac{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}{n(n-1)} \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde:

n = Número de muestras.

($\sum x^2$) = Sumatoria de cada muestra al cuadrado.

($\sum x$)² = Sumatoria total al cuadrado.

Coefficiente de variación = (Desviación típica/promedio) X 100

Finalmente se obtuvo el peso de la semilla con la siguiente fórmula:

$$\text{Peso de 1000 semillas} = \bar{X} * 10 \quad \text{Ec. (4)}$$

- **Contenido de humedad (CH)**

La determinación del CH se determinó con base a lo indicado por Normas ISTA (2016) mediante el método del horno bajo temperatura constante, es decir 17 horas a 103 °C y para ello se empleó tres repeticiones de 1g de semillas por cada una (Anexo B, Figura 23). El cálculo del CH se realizó una vez que se obtuvo el peso de las repeticiones que fueron sometidas al método del horno empleando la siguiente ecuación.

$$CH(\%) = \frac{\text{Peso original} - \text{Peso secado en estufa}}{\text{Peso original}} * 100 \quad \text{Ec. (5)}$$

- **Poder germinativo**

El poder germinativo se determinó con 400 semillas (100 semillas por repetición), tomadas para cada tratamiento con base a las Normas ISTA. Para cada repetición de semillas, se utilizaron cuatro cajas Petri estériles, éstas contenían una lámina de papel absorbente humedecida con agua destilada como sustrato inerte, además se colocó otra lámina para su tapado (Anexo B, Figura 25). Previo a la siembra se realizó una desinfección de semillas, se utilizó 1g de Vitavax disuelto en 1 l de agua. La siembra se realizó en condiciones de asepsia. Durante los ensayos, las cajas se mantuvieron en un cuarto de germinación en donde, se controló humedad y temperatura. Se consideró semilla germinada aquella que mostró un desarrollo visible de la radícula (1 mm), (Anexo B, Figura 27). Por consiguiente, se procedió

a realizar la toma de datos desde el primer día que fue establecido el ensayo con base a las Normas ISTA. Para el cálculo del poder germinativo se empleó la siguiente ecuación:

$$Pg = \frac{Tsg}{Tsc} * 100 \quad \text{Ec. (6)}$$

Donde:

Pg: Poder germinativo (%)

Tsg: Total de semillas germinadas (unidad)

Tsc: Total de semillas colocadas (unidad)

- **Vigor germinativo**

Se calculó a partir del registro de datos del poder germinativo. Se empleó la siguiente ecuación:

$$VG = VM * GDM \quad \text{Ec. (7)}$$

Donde:

VM: valor máximo o pico que se presenta entre los valores producto de la división del porcentaje acumulado de germinación y la cantidad de días que se tardó en obtenerse

GDM: es la germinación media diaria, calculada como la razón entre el porcentaje final de germinación (PG) y el número de días transcurridos hasta llegar a ese valor.

- **Energía germinativa**

Aldhous (1972). la energía germinativa de las semillas se puede calcular cuando alcancen el 50% de germinación, para esto se emplea la ecuación de que se señala a continuación:

$$EG = \left(\frac{\sum Ni}{N} \right) x 100 \quad \text{Ec. (8)}$$

Donde:

Ni: Número de semillas germinadas cada día hasta alcanzar el 50%

N: Total de semillas a germinar

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización morfológica de la semilla.

4.1.1 Tamaño

Las 15 semillas valoradas mostraron tamaños entre 8 y 12.5 mm, para el largo de la semilla y valores entre 2 y 3mm de ancho (Figura 6).

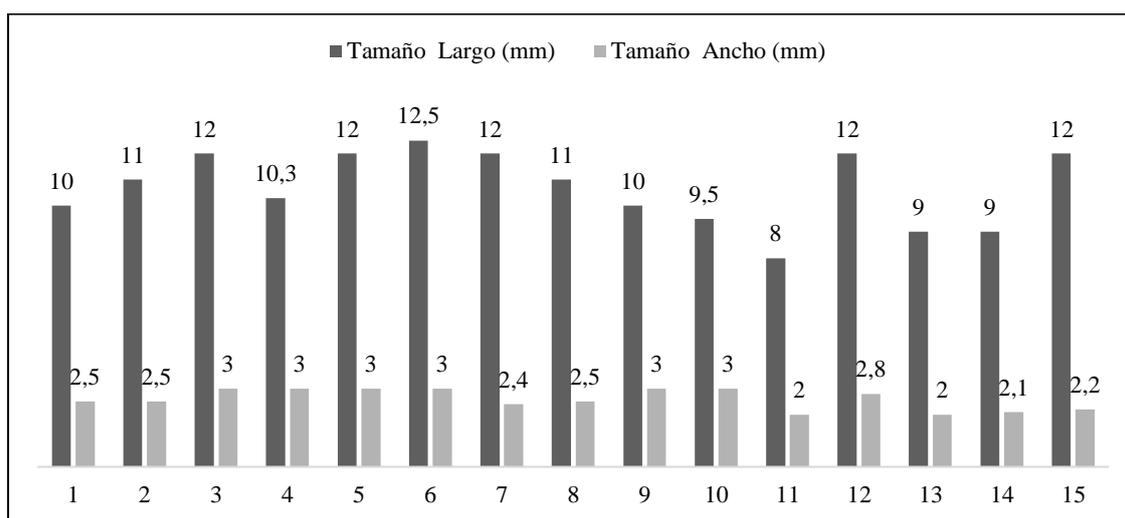


Figura 5. Tamaño (ancho y largo mm), que presentaron las 15 semillas.

En la investigación realizada por Silvera, Macedo, Rengifo, y Ducep (2016), obtuvieron valores de 10 a 12 mm de largo y 3.5 mm de ancho, por otro lado, la Fundación Charles Darwin (2018) determinó 7 a 12 mm de largo y 2.1 a 2.8 mm de ancho incluidas las alas dentadas de forma irregular. Estos resultados concuerdan con los valores que se muestran en la Figura 6, lo que corrobora que el tamaño de la semilla se corresponde a la característica propia de la especie.

4.1.2 Forma

Se determinó que la forma de la semilla de *C. pubescens* es fusiforme (Figura 6), esto se realizó con las categorías expuestas por Murley (1951). El resultado obtenido coincide con lo presentado por Silvera et al., (2016) en *C. pubescens* y Romero (2017) en *C. officinalis*. Estos resultados permiten plantear que esta forma de la semilla puede corresponder como característico del género *Cinchona*.

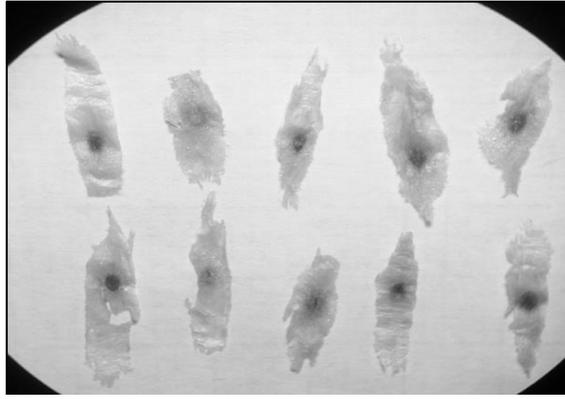
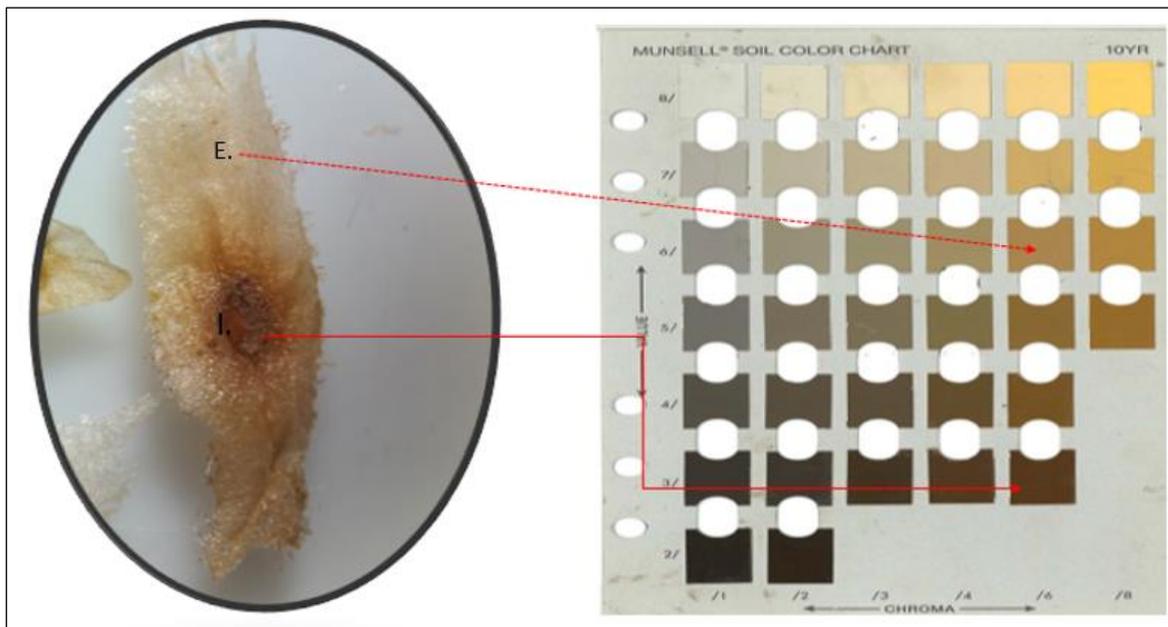


Figura 6. Observación de las semillas a través del estereoscopio.

4.1.3 Color

Para esta característica se obtuvo dos tonalidades correspondientes a la cartilla 10YR, de la tabla de Munsell: color, amarillo oliva para la parte externa (ala) y color marrón oliva oscuro para la parte central de la semilla (Figura 7). Este resultado tiene similitud con Romero (2017), que identificó el color marrón amarillento en semillas de *Cinchona officinalis*.



E= estructura externa de la semilla; *I*= estructura media de la semilla.
Figura 7. Contraste de coloración presente en semillas.

4.1.4 Brillo

El brillo se manifestó en la parte media y externa de la semillas, esta característica se clasifica como brillante según Murley, (1951). Este resultado confirma que el brillo de la semilla es una característica propia de la especie (Figura 9).

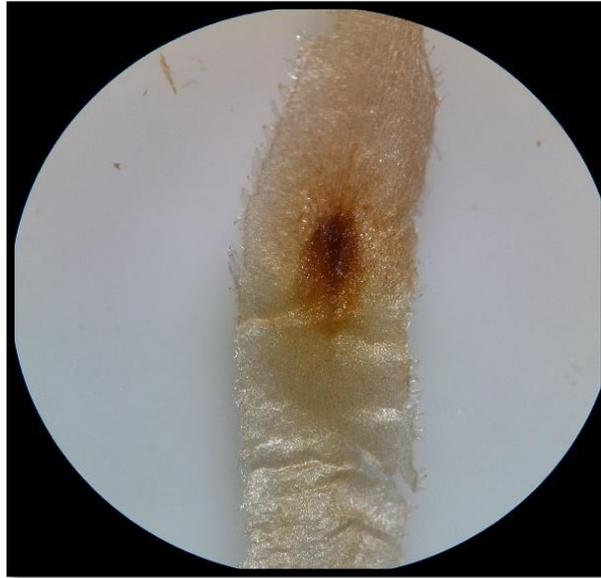


Figura 8. Brillo en la semilla.

4.1.5 Textura

Referente a la característica textura se determinó que las 15 semillas presentaron una textura rugosa, este resultado permite aseverar que la textura rugosa es una característica propia de la especie.

4.2 Determinación de la calidad de semillas para el segundo objetivo específico

4.2.1 La pureza

El resultado de peso sin impurezas de 2.273 g evidenció la existencia de pocas impurezas en la semilla. Sin embargo, para las repeticiones, se obtuvo porcentajes de pureza entre 82%, 67.1% y 78.2% respectivamente, y como promedio de estas el 75.8%. (Tabla 9). Los resultados obtenidos mostraron un alto porcentaje de pureza. Estos valores presentan similitud con otra especie del mismo género encontrada en la investigación de Campos, et al., (2014), quienes indican que *C. officinalis* presenta el 77,1% de pureza. Sin embargo, el alto nivel de pureza no garantiza que las semillas germinen. Por otra parte, el alto porcentaje de pureza se ve influenciado por tipo de fruto, ya que, al ser una cápsula, evita que el contacto con otras impurezas.

Tabla 9.*Datos del porcentaje de pureza de las semillas.*

Repeticiones	Peso semilla (g)		
	Peso con Impureza	Peso sin impurezas	Pureza (%)
1	1	0.820	82
2	1	0.671	67.1
3	1	0.782	78.2
Promedio	3	2.273	75.8

4.3.1.2 Peso de 1000 semillas

En cuanto al peso de las 1000 semillas, el resultado que se obtuvo fue de 0.31 g (Tabla 10), valor superior al de Campos, et al., (2014), quienes en su investigación indicaron que las semillas de *C. pubescens* presentaron un peso de 0.24 g. Sin embargo, al tratarse de la misma especie, se debe recalcar que el peso varía según el lugar de procedencia. Por otra parte, el peso de semillas en la especie es una desventaja, ya que, al ser pequeñas y livianas aprovechan muy pronto sus reservas, provocando que no se dé la germinación.

Tabla 10.*Datos del peso de 1000 semillas.*

Réplicas	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	Media	Peso 1000
Peso (g)	0.0308	0.0284	0.0315	0.0338	0.0276	0.0327	0.0325	0.0276	0.25	0.0315	0.31

4.3.1.3 Contenido de humedad

El contenido de humedad por repetición presentó resultados entre 16.7%, y 12 %, con un promedio del 14% (Tabla 11). Estos resultados se corroboran con Campos-Ruíz et al. (2014), quienes obtuvieron un 16,67% para *C. pubescens*. El bajo porcentaje de CH se considera como un influyente que afecta negativamente en la germinación.

Tabla 11.*Datos del Contenido de Humedad de las semillas por repetición.*

Repeticiones	CH (%)
1	12
2	12.1
3	16.7
Promedio	14

CH= Contenido de humedad.

4.3 Pruebas de Germinación para el primer y segundo ensayo

4.3.1 Primer ensayo

Los resultados de germinación a partir del primero al quinto mes de conservación presentaron el 0% de germinación, para todos los tratamientos (Anexo A, Tabla 16). Estos resultados sustentan lo señalado por Acosta (1947), quien indica que las semillas del género *Cinchona* pierden rápidamente su viabilidad, cuando están frescas germinan entre un periodo de 11 y 20 días y si son viejas el porcentaje de germinación disminuye según sea el periodo de almacenamiento. Por otra parte, los resultados que se obtuvieron fueron constantes por lo cual, no fue necesario la realización del análisis de varianza.

4.3.2 Segundo ensayo

Se obtuvo en el segundo ensayo de germinación porcentajes que van de 12% a 2% en la primera semana, 8% a 0% en la segunda semana, 4% a 0% en la tercera semana y de 1% a 0% en la cuarta semana de germinación (Anexo A, Tabla 17). Los resultados permiten evidenciar que los tratamientos de conservación en tiempos de 1 a 4 semanas bajan el porcentaje de germinación conforme se aumenta el tiempo de conservación (Anexo B, Figura 27). En este sentido, no es recomendable conservar la semilla en un periodo largo de tiempo para evitar la pérdida de viabilidad.

En el análisis de varianza para el segundo ensayo, se obtuvo un coeficiente de variación de 45.59% que indica heterogeneidad en los tratamientos. Por otra parte, para las fuentes de variación tratamientos, factor A (envases); factor C (tiempo) y las interacciones A x B y A x C presentaron un valor de Fisher calculado altamente significativo. Por tal motivo, se asevera que los tratamientos investigados son estadísticamente diferentes. Por otra parte, el factor B (medios), las interacciones B x C y A x B x C registraron un valor de Fisher calculado no significativo, como se indica en la siguiente tabla.

Tabla 12

Análisis de Varianza de germinación en el segundo ensayo de conservación.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F α	p-valor	F $\alpha_{0.05}$	F $\alpha_{0.01}$	
TRATAMIENTOS	1049.12	31	33.84	16.1	**	<0.0001	1.57	1.89
Envases	107.34	3	35.78	17	**	<0.0001	2.7	3.9
Medios	5.7	1	5.7	2.71	ns	0.103	3.94	6.9
Tiempo	808.15	3	269.38	128	**	<0.0001	2.7	3.9
Envases*Medios	41.4	3	13.8	6.57	**	0.0004	2.7	3.9
Envases*Tiempo	73.51	9	8.17	3.89	**	0.0003	1.97	2.59
Medios*Tiempo	1.34	3	0.45	0.21	ns	0.8879	2.7	3.9
Envases*Medios*Tiempo	11.7	9	1.3	0.62	ns	0.7788	1.97	2.59
Error	201.75	96	2.1					
Total	1250.87	127						

CV=45.59

4.2.3.1 Análisis de factores

Los resultados de la germinación una vez que se aplicó las pruebas de rango múltiple de Tukey al 95%, generaron cuatro rangos diferentes para el factor A y C, y dos rangos en el factor B (Anexo A, Tablas 18,19,20), en el cual sobresalen: factor A: funda transparente, factor B el medio de conservación en refrigeración y factor C: tiempo de conservación a la primera semana (Figura 9).

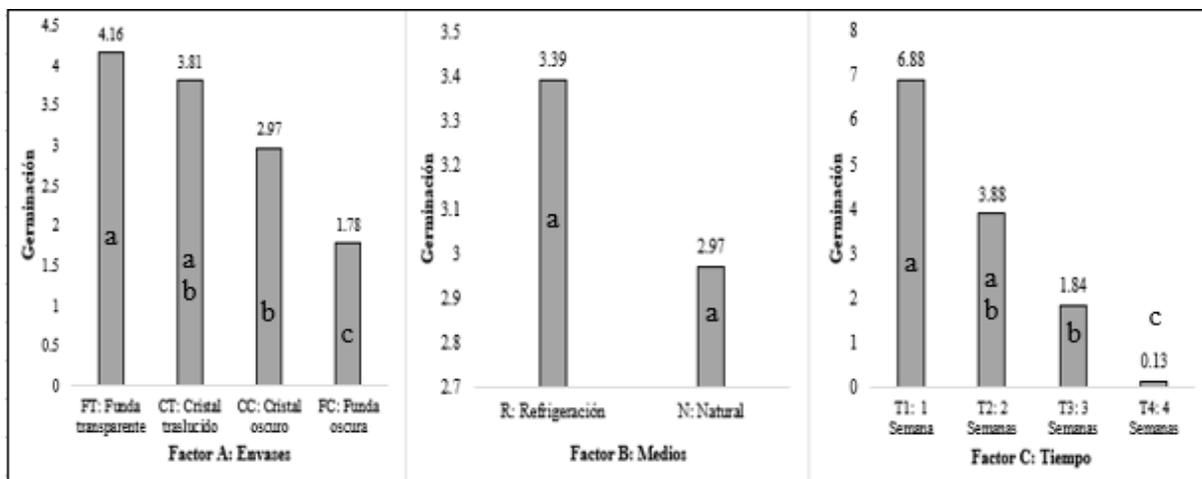
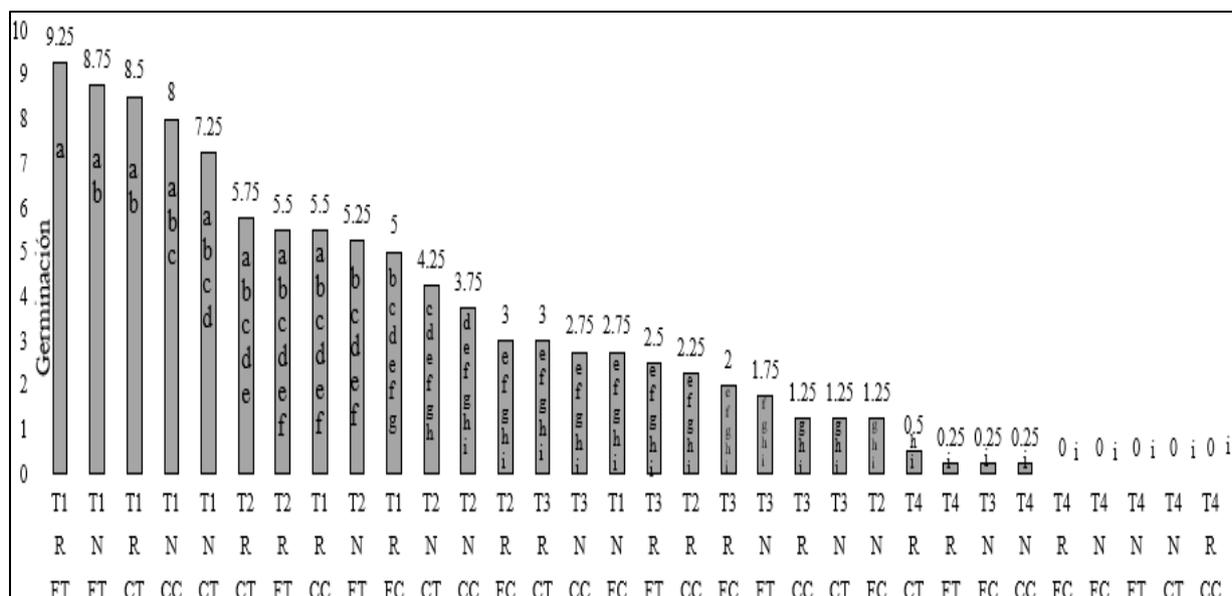


Figura 9 Germinación en el segundo ensayo de conservación, según envase, medios y tiempo de conservación.

Cabe mencionar, que el mejor tratamiento de conservación para *C. pubescens* con relación al envase, medio y tiempo de conservación fue de 4.16% (funda transparente), seguido de 3.30 % y 9% (refrigeración) y 6.80 y 8% (semana 1) respectivamente.

En cuanto a las interacciones de los factores A x B, A x C y B x C (Anexo A; Tablas 21, 22, 23). Se destacan con mayor germinación las interacciones CTR (cristal traslucido, refrigeración), FTT1 (funda transparente; semana uno), CTT1 (cristal traslucido; semana uno), con 4.44; 9 y 7.88 % respectivamente (Anexo B, Figuras 29,30,31).

En la interacción de los factores A x B x C formaron nueve rangos en la prueba de Tukey, los resultados demuestran que existe una mayor germinación dada por FTTRT1(Funda transparente, refrigeración, semana uno) con 9, 25%. Por otra parte, el tratamiento (CCRT4) no manifestó germinación, como se muestra en la Figura 10. Estos resultados difieren con Carreño (2012) quien obtuvo un 52.5 % de germinación, Apolo (2012), quien alude que la germinación de las semillas de *C. pubescens* procedentes de Loja y Galápagos a nivel de laboratorio, sobrepasan el 80% de germinación y finalmente con Herrera (2016) quien obtuvo el 73.5% de germinación para *C. officinalis* L., del 73,5 %.



Factor A (envases): CT= cristal traslucido; CC= cristal ámbar; FT=funda transparente; FC= funda oscura
 Factor B (medios): R= refrigeración; N= natural
 Factor C (tiempos): T1= 1 semana; T2= 2 semanas; T3= 3 semanas; T4= 4 semanas.
 Letras diferentes indican diferencias significativas al 95% de probabilidad estadística
Figura 10. Germinación para el segundo ensayo, en base a la interacción de los tres factores

Campos, Cerna y Chico, (2014) indican que las semillas de *C. pubescens* presentan dificultades en su germinación, las cuales están influenciadas directamente por la maduración

fisiológica de las semillas, por lo que se debe tomar en cuenta el momento óptimo de recolección de este tipo de semillas.

Se acepta la hipótesis alterna en la cual las semillas *C. pubescens*, presentan diferentes comportamientos en lo que respecta a la germinación en al menos uno de los envases, tiempos y en una de las condiciones de temperatura.

- **Poder germinativo, vigor y energía germinativa**

Los resultados obtenidos para el segundo ensayo en cuanto al poder germinativo fueron de 3.2% y el vigor germinativo 0.4% en las semilla, como promedio de todos los tratamientos, (Tabla 13) y una energía germinativa nula, ya que, ninguno de los tratamientos alcanzo el 50% de poder germinativo (Anexo A, Tabla 25). El bajo porcentaje obtenido en el poder y vigor germinativos se ve influenciado por el tiempo de conservación de las semillas, los resultados sin aplicación de tratamientos para el poder germinativo 10.93% y el vigor germinativo de 1.71% (Anexo A, Tabla 26) con estos resultados se puede inferir que la semilla necesariamente debe ser colectada y sembrada para que no pierda su viabilidad.

Tabla 13

Poder germinativo, vigor germinativo de semillas de C. pubescens.

Especie	Pg (%)	Vg (%)
<i>C. pubescens</i>	3.2	0.4

Pg= Poder germinativo; Vg= Vigor germinativo.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La semillas de *C. pubescens* registran mayor porcentaje de germinación al ser conservadas en fundas transparentes en refrigeración durante una semana.

Las características morfológicas evaluadas son el punto de partida, para alcanzar el máximo rendimiento en la efectuación de programas de conservación de semillas de esta especie.

La calidad que presentaron las semillas es mala, ya que a medida que se aumentó el tiempo de conservación, estas mostraron una pérdida del poder germinativo.

5.2 Recomendaciones

Debido a que las semillas en *C. pubescens*, son pequeñas y su dispersión es inmediata cuando se abre el fruto, se recomienda realizar una colecta tomando en cuenta el color del fruto, posterior a esto realizar la siembra en forma inmediata, no exceder en el tiempo de almacenaje para evitar la pérdida de viabilidad.

Realizar más investigación sobre las condiciones de conservación de las semillas, ya que, en la actualidad, no se encuentran trabajos relacionados la conservación de las semillas específicamente para esta especie.

Realizar futuras investigaciones propagación sexual en *C. pubescens*, tomando en cuenta el calendario fenológico, el empleo de hormonas y distintos sustratos con la finalidad de obtener resultados satisfactorios para la conservación y germinación de las semillas.

Realizar más investigaciones que involucren los rasgos morfo-anatómicos en las semillas con la finalidad de saber el comportamiento interno de la misma.

CAPITULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Acosta, M. (1989). *La cinchona o quina planta nacional del Ecuador*. Rev. Acad. Colomb. Cien. 17 (65) : 306 - 311.

Acosta, M. (1960). *Maderas económicas del Ecuador y sus usos*. Quito: Ed. Casa de la Cultura Ecuatoriana.

Acosta, M. (1950). *Cinchonas del Ecuador*. Quito: Ecuador-Carrera Guayaquil N° 1457.

Agrocalidad. (2014). *Procedimientos específicos para análisis de calidad de semillas*. Quito, Ecuador.

Albán, J. (2012). *Humedad y tiempo de almacenamiento en la germinación de semillas de Cinchona krauseana L. researchgate*.

Anacafe (1960). *Anacafé*. Obtenido de:

http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Cultivo_de_quina

Antuna, O., Rincón, F., Gutiérrez, E., Ruiz, N., & Bustamante, L. (2003). Componentes genéticos de caracteres agronómicos y de calidad fisiológica de semillas en líneas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26(1), 11-17. Recuperado el 11 de Febrero del 2019, de <http://redalyc.org/articulo.oa?id=61026102>

Armijos, & Sinche. (2013). *Multiplicación sexual y asexual de Cinchona officinalis, con calidad de mejorar la propagacion in vivo de la especie*.

Asamblea Constituyente. (2008). *Constitucion de la República del Ecuador*. Quito: Asamblea Costituyente. Recuperado el 19 de Junio de 2018, de <http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/es/ec/ec030es.pdf>

Asamblea Nacional. (2017). *Código Orgánico del Ambiente*. Quito.

Asociación Internacional de Análisis de Semillas [ISTA]. (2016). *Normas de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas*.

- Baena, M., Jaramillo, S., & Esteban., M. J. (2003). *Material de Apoyo de Capacitación . Conservación in situ de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas*. Cali, Colombia: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos.
- Barranantes, G., Chávez, H., & Vinuesa, M. (2010). *El Bosque en Ecuador. Una visión transformada para el desarrollo y la conservación*. Quito.
- Baskin, C., & Baskin, J. (2014). *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of Dormancy and Germination*. California.: 2a. ed. Kentucky, USA: Elsevier.
- Bastidas, A. (2017). *Evaluar la propagación sexual y asexual de la Cascarilla (Cinchona officinalis L.), con fines de potencial reproductivo en el vivero Catiglata del Consejo Provincial de Tungurahua*. Tungurahua.
- Bonner, T. (1974). *Análisis de Semillas Forestales. Traducción libre del inglés por Dante Arturo Rodríguez Trejo. Serie de apoyo No. 47 Universidad. Autónoma Chapingo*. México.
- Bonner, T. (1990). *Storage of seeds: potential and limitations for germoplasm conservation*. For. Ecol. Manage 35:35-43.
- Bravato, M. (1974). *Estudio morfológico de frutos y semillas de las Mimosoideae (Leguminosae) de Venezuela*. . Acta Bot. Venez. 9(1-4): 317-361.
- Buitron, X. (1999). *Ecuador, Uso y Comercio de Plantas Medicinales*. . Cambridge.
- Camacho, F. (1994.). *Dormición de semillas: causas y tratamientos*. . México: DF: Editorial Trillas 128 p.
- Campos. (1992). *Las quinas y su aclimatación en México conferencia leída en la Biblioteca de la Secretaría de Agricultura y Fomento el día 30 de junio de 1921*. México.
- Castelán, M., Ciotti, E., Tomei, C, Masat, W., & Hack, C. (2016). *Rendimiento, distribución en el perfil de suelo y poder germinativo de semillas de Arachis pintoi*. Recuperado el 11 de 2 de 2019, de <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/agr/article/view/466>
- Crawford, M. (2007). *Para Desterrar las Dudas y Adulteraciones:" Experiencia científica y los intentos de hacer un mejor ladrillo para el Monopolio Real de Quina (1751-1790)*. *Revista de Estudios Culturales Españoles vol. 8*, 193- 212.
- Cuvi, N. (2009). *Ciencia e imperialismo en America Latina: La misión de Cinchona y las Estaciones Agrícolas Cooperativas (1949-1945)*. Barcelona.

- Cuvi, N. (2018). Tecnociencia y colonialismo en la historia de las Cinchonas. *ASCLEPIO*, 70 (1): p215.
- Díaz, S. (2008). Historia de La Medicina, Las Quinas en el Mundo y en Colombia. *encolombia*, 01-08.
- FAO. (1996). Enseñanza ecológica rural. *Las plantas*.
- Fernández, L. (2013). Islands of Knowledge: Science and Agriculture in the History of Latin America and the Caribbean. *The University of Chicago Press on behalf of The History of Science Society*, 788-797.
- Fundación, Charles Darwin. (2018). *Cinchona pubescens* III-4 *Cinchona pubescens* VAHL, 1790. *researchgate*, 1-14.
- Galarraga, T. O. (1982). *Evaluación de la calidad de semilla certificada producida en el país, de cuatro cultivares de trigo (Triticum vulgare L.)*. Quito: (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Obtenido de Evaluación de la calidad de semilla certificada producida en el país, de cuatro cultivares de trigo (Triticum vulgare L.).
- Garmendia. (1999). *El árbol de la quina (Cinchona spp.): Distribución, caracterización de su hábitat y arquitectura*. Madrid. : Universidad Complutense de Madrid.
- Gómez, A. S., Ponce, A. R., Romero, J. M., Martínez, F. R., Rosado, D. E., & Pérez, C. M. (2018). Energía germinativa en guaje ("Leucaena leucocephala" cv. Cunningham) con diferentes métodos de escarificación de la semilla. *Agrociencia*, 52(6), 863-874. Recuperado el 11 de 2 de 2019, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6612369>
- Gunn. (1984). *Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Faba-ceae)*. Washington DC.: Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Faba-ceae). Technical BuAgricultural Research Service. Uni-tes States Departament of Agriculture.
- Hodge, W. H. (1947). *Cinchona Procurement in Latin America. Economic Botany*. . : University of Massachusetts (229-257 p.).
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología [INAMHI]. (2015). *Boletín climatológico*.
- IPCC. (2001). Tercer informe.
- IPCC. (2001). Tercer informe.

- Iriondo, A. (2001). Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas. *Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas*. España: Dpto. Biología Vegetal, E.U.I.T. Agrícola, Universidad Politécnica de Madrid.
- Jäger, H. (2018). *Cinchona pubescens III-4 Cinchona pubescens Vahl, 1790*.
- Lallana, V., Garcia, L., & Elizalde, J. H. (2011). *Germinación*. Paraná: Oro Verde.
- Lamba, S., Buch, K., Lewis, H., & y Lamba, J. (2000). Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, p457–496.
- Larreátegui, D., & Lizeth, L. (2013). Revisión Historica Médica: El árbol de quina, 400 años de su descubrimiento en el Ecuador. *Metro Ciencia*, 01-08.
- Lastra, J., López, M., & López, S. (Diciembre de 2008). Tendencias del cambio climático global y los eventos extremo asociados. *Ra Ximhai*, 625 - 633.
- Ledig, F. T. (1998). The Conservation of Diversity in Forest Trees. *BioScience*, 9.
- Leython, S., & Jáuregui, D. (31 de Julio de 2008). Morfología de la semilla y anatomía de la cubierta seminal de cinco especies. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)*, Vol. 56 (3): 1075-1086.
- Loján, L. (2003). *El Verdor de los Andes Ecuatorianos. Realidades y Promesas. Proyecto de Apoyo al Desarrollo Forestal Comunal DFC*.
- MAE. (2016). REDD+ Ecuador bosques para el buen vivir 2016-2025. Ecuador.
- Marqués, S. (2013). *Farmacopea Española. Primary source edition*. Madrid.
- Ministerio de Agricultura, Acuacultura, Ganadería y Pesca [MAGAP]. (2016). *Manual de procedimiento para identificación de fuentes semilleras y árboles plus*. Guayaquil.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador [MAE]. (2016). Estrategia Nacional de Biodiversidad 2015-2030. En M. d. Ecuador, *Estrategia Nacional de Biodiversidad 2015-2030* (pág. 225). Quito: Primera edición.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador [MAE]. (2013). Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Quito, Ecuador: Subsecretaría del Patrimonio Natural.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2012). Estrategia nacional del cambio climático del Ecuador. Quito, Ecuador.

- Mostacero, J., & Mejía, F. (2002). Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú. En J. Mostacero, & F. y. Mejía, *Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú* (pág. 1323). Trujillo: Nomas Legales SAC.
- Murley, M. (1951). Seeds of Cruciferae of nortestas tern North America. . *The American Midland Natruralist* , 46 (1): 1-81.
- Naciones Unidas. (2012). Protocolo de Kioto de la convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático. Kioto, Japon.
- Naturaleza y Cultura Internacional. (2006). *Naturaleza y Cultura Internacional*. Obtenido de Naturaleza y Cultura Internacional : <http://www.naturalezaycultura.org/spanish/htm/ecuador/ecuador.htm>
- Normas, ISTA. (2007). *Normas de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas*.
- Ortiz, R., Fé, C. d., & Ponce, M. (2004). *Evaluación de métodos de almacenaje de semilla de soya (Glycine max. (L.) Merrill) en condiciones de bajos insumos*. La Habana, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
- Palacios, W. (2014). *Árboles del Ecuador*. Ibarra.
- PDOT-GAD Apuela. (2015). *Plan de desarrollo y de Ordenamiento del canton Cotacachi*. Cotacachi.
- PDOT-GAD Ibarra. (2015). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de Ibarra*. Ibarra.
- Poponoe. (1942). CAPITULO V- Habitat y distribución de las cinchonas en el Ecuador . En *Cultivo de Quina [Cinchona]*. Guatemala.
- Rao, N., Hanson, J., Dulloo, M., Ghosh, K., Nowell, D., & Larinde, M. (2006). *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma*. Recuperado el 11 de 2 de 2019, de http://bioversityinternational.org/uploads/tx_news/manual_para_el_manejo_de_semillas_en_bancos_de_germoplasma_1261_01.pdf
- Registro de Campo. (2018). *Datos de ubicacion de predio Don Miguel Sierra, para fase de campo*. Ibarra.
- Registro de Laboratorio. (2018). *Datos climatológicos al interior del Laboratorio de Biotecnología Vegetal*. Ibarra.
- Registro de Laboratorio. (2018). *Datos de ubicación de Laboratorio de Biotecnologia UTN*. Ibarra.

- Romero, (2017). Rasgos morfológicos de frutos, semillas y embriones de *Cinchona officinalis* L (RUBEACEAE) en el sur del Ecuador. *Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 36(1-2), 27-35.
- Rosillo, I. (2017). Cortezas de Esperanza-Cascarilla.
- Seednews.(2003). Envases, funciones, tipos y avances . *Seednews*. Obtenido de <https://seednews.com.br/edicoes/248-envases-de-semillas-vii-%7C-02-marco-2003>
- SENPLADES, (2017). *Plan Nacional del Buen Vivir 2017 - 2021*. Quito, Ecuador: Juan León Mera N.º 1936 y Patria, Edif. Senplades.
- Sierra, M. (2018). Especie Forestal *Cinchona pubescens*, Vahl conocida como: La "cascarilla". (Y. Cuasque, Entrevistador)
- Silvera, A. G., Macedo, L. A., Rengifo, O. J., & Ducep, E. L. (2016). *Identificación de lregeración natural de la quina roja o cascarilla: Cinchona pubescens, Vahl, por la morfología de sus estadios naturales en el bosque de neblina de Upaypitec, distrito de Kañaris, región Lambayeque*. Recuperado el 6 de Febrero de 2019, de <http://repositorio.inia.gob.pe/handle/inia/575>
- Simón, G. V., & Pire, R. (2010). Efecto de dos condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de uva de playa (*Coccoloba uvifera* (L.) Jacq.). *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia*, 27(4), 559-573. Recuperado el 11 de 2 de 2019, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3661505>
- Suárez, J. (2018). *Caracterización de las semillas de Cinchona capuli L. Andersson y C. lancifolia Mutis y el efecto de las rizobacterias promotoras del crecimiento en la germinación y la formación de plántulas* . Lima.
- Unigarro, C. (2010). Patrimonio cultural aliemtario. Quito, Ecuador: Ministerio de Cultura del Ecuador.
- Valverde, L. (2010). *Evaluation of Latin America Materia Medica and is influence in therapeutic*. Granada: Publicaciones, S.L. Granada.
- Verveen, G. 1. (1984). *Hexágono Roche; La Malaria. (11-16 p.)*. Lima: (11-16 p.).
- Villamañán, E., Armada, E., & Ruano, M. (2015). Prolongación del intervalo QT inducido por fármacos: ¿conocemos sus riesgos? . *Medicina Clínica*, 144(6), 269–274. .
- World Wildlife Fund. (2016). Planeta vivo informe 2016. Madrir, España.

Worrall, E., Basu, S., & Hanson, K. (2005). Is malaria a disease of poverty? A review of the literature. *Tropical Medicine and International Health*, 10 (10) 1047-1059.

Yaguana, K. (2016). Potencial reproductivo y análisis de calidad de semillas de *Cinchona officinalis* L., provenientes de relictos boscosos en la Provincia de Loja – Ecuador. *Revista Investig. Altoandin*, 01-10.

CAPITULO VII

ANEXOS

Anexo A - Tablas.

Tabla 14.

Registro de variables dasométricas y fenotípicas.

Nºárbol	Georreferenciación		Variables Dasométricas				Variables Fenotípicas	
	X	Y	Ht (m)	DAP (cm)	Dia_copa (m)	Esp_corteza (cm)	For_fust	Estado sanitario
								Enf. Sano
1	782 416	43194	6.5	18	6.1	1.5	Fuste recto	X
2	782 423	43183	6.8	10	6.2	1.2	Torcedura aguda	X
3	782 433	43217	12	21	5.7	1.2	Torcedura leve	X
4	782 434	43228	12.5	20	5.6	1	Fuste recto	X
5	782 451	43087	9.5	8	5.2	0.5	Torcedura leve	X
6	782 450	43090	15	20	6.2	1	Fuste recto	X
7	782 451	43091	6	10	3.7	0.7	Fuste recto	X
8	782 434	43082	15	23	6.0	0.6	Torcedura leve	X
9	782 440	43037	18	18	5.0	1	Torcedura leve	X
10	782 445	43034	8.5	22	4.9	0.8	Torcedura leve	X
11	782 434	43029	11	13	6.0	0.5	Torcedura leve	X
12	782 439	43037	12	19	4.7	0.7	Torcedura leve	X
13	782 434	43031	9	12	5.2	0.4	Torcedura leve	X
14	782 431	43039	7.5	13	5.3	0.1	Torcedura leve	X
15	782 440	43044	15	18	5.9	0.6	Torcedura leve	X
16	782 436	43035	12	20	5.1	1	Torcedura leve	X
17	782 432	43036	10	12	5.4	1.1	Torcedura leve	X
18	782 442	43017	6.5	12	6.2	1	Fuste recto	X
19	782 439	43009	8	15	5.7	1.3	Fuste recto	X
20	782 437	43003	11	15	3.8	1.2	Torcedura leve	X
21	782 432	43001	9	14	4.4	1	Torcedura leve	X
22	782 430	43012	15	19	3.3	0.9	Torcedura leve	X
23	782 446	43020	9	11	4.8	1.1	Torcedura leve	X
24	782 445	43019	10.5	11	4.5	1	Torcedura leve	X
25	782 450	43012	11	17	4.9	1.1	Torcedura leve	X
26	782 460	43016	9	16	4.0	0.9	Torcedura leve	X
27	782 453	42998	6	17	5.2	1	Torcedura aguda	X
28	782 461	42998	16	16	5.2	1.2	Torcedura aguda	X
29	782 474	43003	11	17	4.2	1.1	Torcedura leve	X
30	782 481	43007	12	17	5.8	1	Torcedura leve	X

Ht=altura total; DAP= Diámetro a la altura del pecho; Esp= espesor

Tabla 15.

Resultado de los 15 árboles que se obtuvieron del análisis estadístico de correlación.

N.º árbol	Variables		
	DAP (cm)	Ht (m)	Esp_corteza (cm)
4	20	12.5	1
6	20	15	1
7	10	6	0.7
16	20	12	1
17	12	10	1.1
21	14	9	1
22	19	15	1
23	11	9	1.1
24	11	10.5	1
25	17	11	1.1
29	17	11	1.1
30	17	12	1
10	22	18.5	0.8
18	12	6.5	1
26	16	9	0.9

Ht=altura total; DAP= Diámetro a la altura del pecho; Esp= espesor

Tabla 16.

Resultados de Germinación en el primer ensayo a partir del primer mes finalización del ensayo de conservación.

Tratamientos	Código	R1	R2	R3	R4
T1	CTRT1	0	0	0	0
T2	CCRT1	0	0	0	0
T3	FTRT1	0	0	0	0
T4	FCRT1	0	0	0	0
T5	CCNT1	0	0	0	0
T6	CTNT1	0	0	0	0
T7	FTNT1	0	0	0	0
T8	FCNT1	0	0	0	0
T9	CTRT2	0	0	0	0
T10	CCRT2	0	0	0	0
T11	FTRT2	0	0	0	0
T12	FCRT2	0	0	0	0
T13	CCNT2	0	0	0	0
T14	CTNT2	0	0	0	0
T15	FTNT2	0	0	0	0
T16	FCNT2	0	0	0	0
T17	CTRT3	0	0	0	0
T18	CCRT3	0	0	0	0
T19	FTRT3	0	0	0	0
T20	FCRT3	0	0	0	0
T21	CCNT3	0	0	0	0
T22	CTNT3	0	0	0	0
T23	FTNT3	0	0	0	0
T24	FCNT3	0	0	0	0
T25	CTRT4	0	0	0	0
T26	CCRT4	0	0	0	0
T27	FTRT4	0	0	0	0
T28	FCRT4	0	0	0	0
T29	CCNT4	0	0	0	0
T30	CTNT4	0	0	0	0
T31	FTNT4	0	0	0	0
T32	FCNT4	0	0	0	0
T33	CTRT5	0	0	0	0
T34	CCRT5	0	0	0	0
T35	FTRT5	0	0	0	0
T36	FCRT5	0	0	0	0
T37	CCNT5	0	0	0	0
T38	CTNT5	0	0	0	0
T39	FTNT5	0	0	0	0
T40	FCNT5	0	0	0	0
T41	CTRT6	0	0	0	0
T42	CCRT6	0	0	0	0
T43	FTRT6	0	0	0	0
T44	FCRT6	0	0	0	0
T45	CCNT6	0	0	0	0
T46	CTNT6	0	0	0	0
T47	FTNT6	0	0	0	0
T48	FCNT6	0	0	0	0

Tabla 17.

Resultados de Germinación en el segundo ensayo a partir de la primer semana hasta la cuarta semana de conservación.

Tratamientos	Código	R1	R2	R3	R4
T1	CTRT1	9	9	10	6
T2	CCRT1	4	4	5	9
T3	FTRT1	10	9	7	11
T4	FCRT1	6	7	3	4
T5	CCNT1	8	8	9	7
T6	CTNT1	8	6	10	5
T7	FTNT1	12	11	7	5
T8	FCNT1	3	2	3	3
T9	CTRT2	8	6	5	4
T10	CCRT2	3	4	1	1
T11	FTRT2	4	6	8	4
T12	FCRT2	4	1	3	4
T13	CCNT2	4	3	5	3
T14	CTNT2	1	7	7	2
T15	FTNT2	5	4	7	5
T16	FCNT2	0	4	0	1
T17	CTRT3	4	3	3	2
T18	CCRT3	2	1	1	1
T19	FTRT3	4	2	3	1
T20	FCRT3	4	1	1	2
T21	CCNT3	1	3	3	4
T22	CTNT3	1	1	2	1
T23	FTNT3	1	2	3	1
T24	FCNT3	0	0	0	1
T25	CTRT4	1	0	1	0
T26	CCRT4	0	0	0	0
T27	FTRT4	0	0	1	0
T28	FCRT4	0	0	0	0
T29	CCNT4	0	0	0	1
T30	CTNT4	0	0	0	0
T31	FTNT4	0	0	0	0
T32	FCNT4	0	0	0	0

Tabla 18.*Prueba de Tukey para el factor A (Envases)*

Factor A	Medias	Rango		
FT: Funda Transparente	4.16	a		
CT: Cristal traslucido	3.81	a	b	
CC: Cristal ámbar	2.97		b	
FC: Funda oscura	1.78			c

Tabla 19.*Prueba de Tukey para el factor B (Medios)*

Factor B	Medias	Rango		
R: Refrigeración	3.39	a		
N: Natural	2.97	a		

Tabla 20.*Prueba de Tukey para el factor C (Tiempos)*

Factor C	Medias	Rango			
T1: 1 Semana	6.88	a			
T2: 2 Semanas	3.88		b		
T3: 3 Semanas	1.84			c	
T4: 4 Semanas	0.13				d

Tabla 21.*Prueba de Tukey para la Interacción entre factores A y B (envases*medios)*

Factor A	Factor B	Medias	Rango			
CT: Cristal traslucido	R: Refrigeración	4.44	a			
FT: Funda Transparente	R: Refrigeración	4.38	a			
FT: Funda Transparente	N: Natural	3.94	a	b		
CC: Cristal ámbar	N: Natural	3.69	a	b	c	
CT: Cristal traslucido	N: Natural	3.19	a	b	c	
FC: Funda oscura	R: Refrigeración	2.5		b	c	d
CC: Cristal ámbar	R: Refrigeración	2.25			c	d
FC: Funda oscura	N: Natural	1.06				d

Tabla 22.*Prueba de Tukey para la Interacción entre el factor A y C (envases*tiempo)*

Factor A	Factor C	Medias	Rangos			
FT: Funda Transparente	T1: 1 Semana	9	a			
CT: Cristal traslucido	T1: 1 Semana	7.88	a	b		
CC: Cristal ámbar	T1: 1 Semana	6.75	a	b	c	
FT: Funda Transparente	T2: 2 Semanas	5.38		b	c	d
CT: Cristal traslucido	T2: 2 Semanas	5			c	d
FC: Funda oscura	T1: 1 Semana	3.88				d e
CC: Cristal ámbar	T2: 2 Semanas	3				d e f
FC: Funda oscura	T2: 2 Semanas	2.13				e f g
FT: Funda Transparente	T3: 3 Semanas	2.13				e f g
CT: Cristal traslucido	T3: 3 Semanas	2.13				e f g
CC: Cristal ámbar	T3: 3 Semanas	2				e f g
FC: Funda oscura	T3: 3 Semanas	1.13				f g
CT: Cristal traslucido	T4: 4 Semanas	0.25				g
FT: Funda Transparente	T4: 4 Semanas	0.13				g
CC: Cristal ámbar	T4: 4 Semanas	0.13				g
FC: Funda oscura	T4: 4 Semanas	0				g

Tabla 23.*Prueba de Tukey para la Interacciones entre el factor B y C (medios *tiempo)*

Factor B	Factor C	Medias	Rango			
R: Refrigeración	T1: 1 Semana	7.06	a			
N: Natural	T1: 1 Semana	6.69	a			
R: Refrigeración	T2: 2 Semanas	4.13		b		
N: Natural	T2: 2 Semanas	3.63		b	c	
R: Refrigeración	T3: 3 Semanas	2.19			c	d
N: Natural	T3: 3 Semanas	1.5				d e
R: Refrigeración	T4: 4 Semanas	0.19				e
N: Natural	T4: 4 Semanas	0.06				e

Tabla 24.

Prueba de Tukey para los factores A x B x C del segundo ensayo.

Factor A	Factor B	Factor C	Medias	Rangos
FT: Funda transparente	R: Refrigeración	T1: 1 Semana	9.25	a
FT: Funda transparente	N: Natural	T1: 1 Semana	8.75	a b
CT: Cristal translucido	R: Refrigeración	T1: 1 Semana	8.5	a b
CC: Cristal ámbar	N: Natural	T1: 1 Semana	8	a b c
CT: Cristal translucido	N: Natural	T1: 1 Semana	7.25	a b c d
FT: Funda transparente	R: Refrigeración	T2: 2 Semanas	5.5	a b c d e f
CC: Cristal ámbar	R: Refrigeración	T1: 1 Semana	5.5	a b c d e f
FT: Funda transparente	N: Natural	T2: 2 Semanas	5.25	b c d e f
FC: Funda oscura	R: Refrigeración	T1: 1 Semana	5	b c d e f g
CT: Cristal translucido	N: Natural	T2: 2 Semanas	4.25	c d e f g h
CC: Cristal ámbar	N: Natural	T2: 2 Semanas	3.75	d e f g h i
FC: Funda oscura	R: Refrigeración	T2: 2 Semanas	3	e f g h i
CT: Cristal translucido	R: Refrigeración	T3: 3 Semanas	3	e f g h i
CC: Cristal ámbar	N: Natural	T3: 3 Semanas	2.75	e f g h i
FC: Funda oscura	N: Natural	T1: 1 Semana	2.75	e f g h i
FT: Funda transparente	R: Refrigeración	T3: 3 Semanas	2.5	e f g h i
CC: Cristal ámbar	R: Refrigeración	T2: 2 Semanas	2.25	e f g h i
FC: Funda oscura	R: Refrigeración	T3: 3 Semanas	2	e f g h i
FT: Funda transparente	N: Natural	T3: 3 Semanas	1.75	f g h i
CC: Cristal ámbar	R: Refrigeración	T3: 3 Semanas	1.25	g h i
CT: Cristal translucido	N: Natural	T3: 3 Semanas	1.25	g h i
FC: Funda oscura	N: Natural	T2: 2 Semanas	1.25	g h i
CT: Cristal translucido	R: Refrigeración	T4: 4 Semanas	0.5	h i
FT: Funda transparente	R: Refrigeración	T4: 4 Semanas	0.25	i
FC: Funda oscura	N: Natural	T3: 3 Semanas	0.25	i
CC: Cristal ámbar	N: Natural	T4: 4 Semanas	0.25	i
FC: Funda oscura	R: Refrigeración	T4: 4 Semanas	0	i
FC: Funda oscura	N: Natural	T4: 4 Semanas	0	i
FT: Funda transparente	N: Natural	T4: 4 Semanas	0	i
CT: Cristal translucido	N: Natural	T4: 4 Semanas	0	i
CC: Cristal ámbar	R: Refrigeración	T4: 4 Semanas	0	i

Tabla 25.*Resultados del Poder germinativo; Vigor germinativo de semillas de Cinchona pubescens.*

Tratamiento	% poder germinativo	% vigor germinativo
CTRT1	8.5	1.3
CCRT1	5.5	1.0
FTRT1	9.2	1.4
FCRT1	5.0	0.6
CCNT1	8.0	1.1
CTNT1	7.3	0.9
FTNT1	8.8	1.3
FCNT1	2.8	0.3
CTRT2	5.8	0.7
CCRT2	2.3	0.1
FTRT2	5.5	0.6
FCRT2	3.0	0.3
CCNT2	3.8	0.5
CTNT2	4.3	0.4
FTNT2	5.3	0.7
FCNT2	1.3	0.1
CTRT3	3.0	0.5
CCRT3	1.3	0.1
FTRT3	2.5	0.2
FCRT3	2.0	0.2
CCNT3	2.8	0.1
CTNT3	1.3	0.1
FTNT3	1.8	0.3
FCNT3	0.3	0.0
CTRT4	0.5	0.0
CCRT4	0.0	0.0
FTRT4	0.3	0.0
FCRT4	0.0	0.0
CCNT4	0.3	0.0
CTNT4	0.0	0.0
FTNT4	0.0	0.0
FCNT4	0.0	0.0

Tabla 26*Resultados del Poder y Vigor germinativos de semillas sin aplicación de tratamientos.*

Especie	Pg (%)	Vg (%)
<i>C. pubescens</i>	10.9	1.7

Anexo B - Figuras.



Figura 11. Sistema silvopastoril



Figura 12. Medición de diámetro a la altura del pecho (DAP) y espesor de corteza.



Figura 13. Medición de altura total y diámetro de copa



Figura 14. señalización y georreferenciación de individuos seleccionados.



Figura 15. Recolección de material vegetativo.



Figura 16. Empacado de frutos tomando en cuenta la coloración



Figura 17. Secado homogéneo de los frutos



Figura 18. Selección de frutos considerando su estado fitosanitario y extracción de semillas.



Figura 19. Preparación de placa utilizadas para la caracterización de semillas



Figura 20. Observación de placas a través del estereoscopio



Figura 21. Pureza



Figura 22. Peso de 1000 semillas



Figura 23. Contenido de Humedad



Figura 24. Conservación de semillas al natural y en refrigeración



Figura 25. Preparación de placas para el ensayo



Figura 26. Ensayo de germinación establecido



Figura 27. Germinación

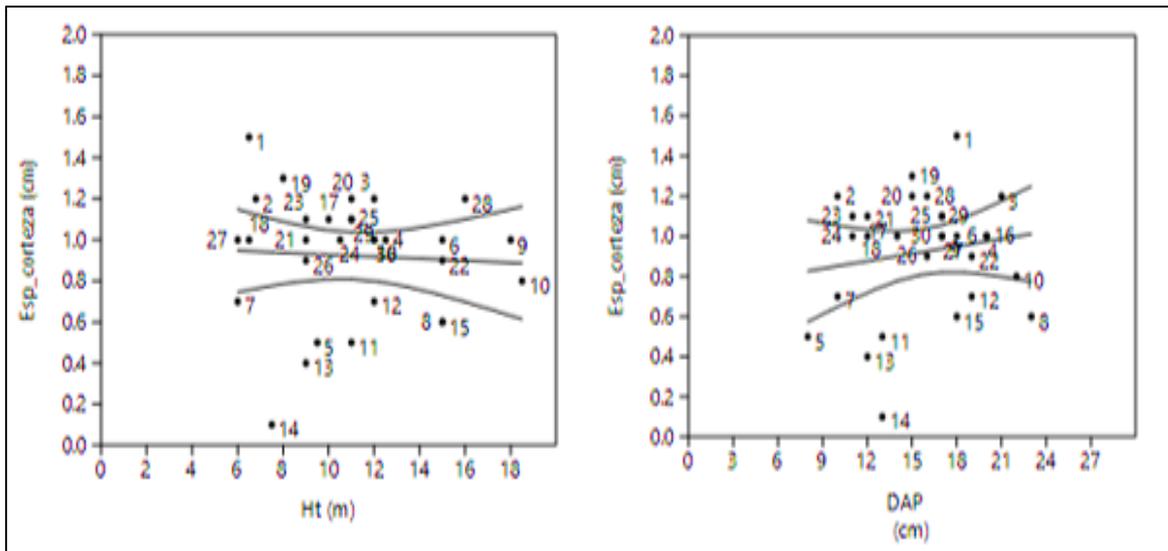
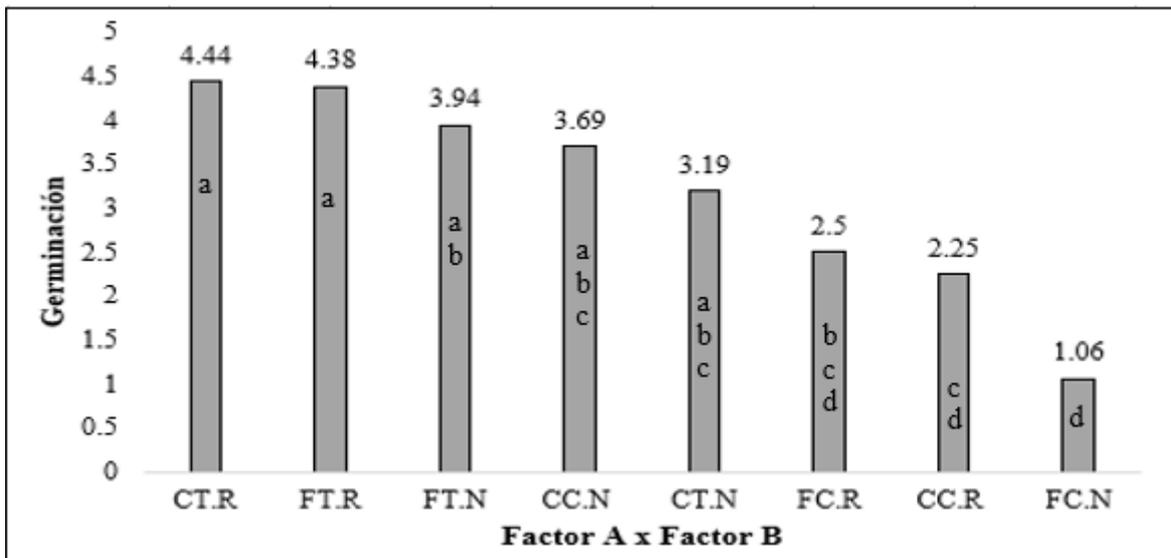
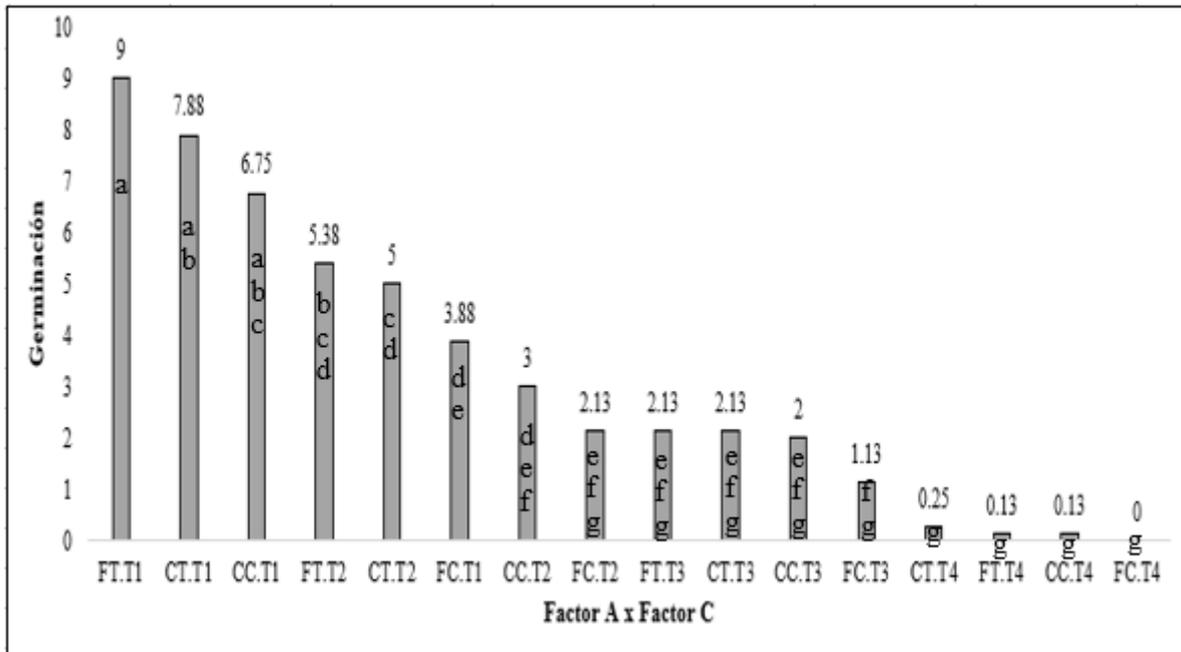


Figura 28. Análisis de correlación (Altura total - Espesor de corteza) y (DAP - Espesor de corteza).



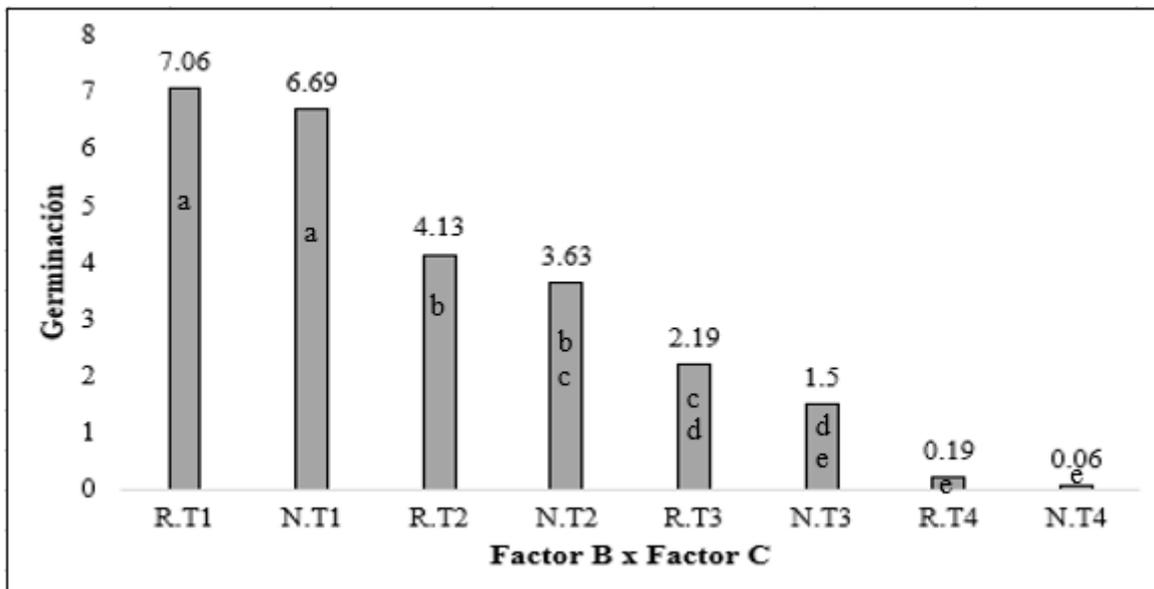
Factor A(envases): CT= Cristal traslucido; FT= Funda transparente; CC=Cristal ámbar; FC=Funda oscura.
 Factor B(medios): R= Refrigeración; N=Natural

Figura 29. Germinación a las cuatro semanas, según la interacción entre envases y el medio.



Factor A(ensaves): CT= Cristal traslucido; FT= Funda transparente; CC=Cristal ámbar; FC=Funda oscura.
 Factor C(tiempos): T1= 1 Semana; T2=2 Semanas; T3= 3 Semanas; T4= 4 Semanas.

Figura 30. Germinación a las cuatro semanas, según la interacción entre envases y el tiempo de conservación.



Factor B(medios): R= Refrigeración; N=Natural

Factor C(tiempos): T1= 1 Semana; T2=2 Semanas; T3= 3 Semanas; T4= 4 Semanas.

Figura 31. Germinación a las cuatro semanas, según la interacción entre medios y el tiempo de conservación.