



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS TOXICOLÓGICOS DE GLIFOSATO
SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ESPECIES
NATIVAS DE QUITO

Autora

Carolina Alexandra Monteros Herrera

Año
2018



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS TOXICOLÓGICOS DE GLIFOSATO
SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ESPECIES NATIVAS DE
QUITO

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniera Ambiental en Prevención y
Remediación

Profesor guía

M.Sc. Indira Fernandina Black Solís

Autora

Carolina Alexandra Monteros Herrera

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Determinación de los efectos toxicológicos de glifosato sobre la germinación de semillas de especies nativas de Quito), a través de reuniones periódicas con el estudiante, Carolina Alexandra Monteros Herrera, en el semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Indira Fernandina Black Solís
Máster en Conservación y Gestión del Medio Natural
CI. 171127356-3

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Determinación de los efectos toxicológicos de glifosato sobre la germinación de semillas de especies nativas de Quito, de Carolina Alexandra Monteros Herrera, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Marco Vinicio Briceño León
Master en Energías Renovables
CI. 171596731-9

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Carolina Alexandra Monteros Herrera
CI. 200006482-0

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mi madre, padre y familia que estuvieron siempre motivándome para poder concluir con esta etapa universitaria.

Adicionalmente retribuyo a la M.Sc. Indira Black por brindarme toda su ayuda y orientación durante la elaboración de este proyecto de Titulación.

DEDICATORIA

A mi madre Ruth, quien ha sido el ejemplo de lucha, constancia, perseverancia y dedicación para continuar con mi vida universitaria, y a mis familiares más cercanos.

RESUMEN

El uso de sustancias químicas para erradicar las malezas presentes en las áreas agrícolas (plantas), ha incrementado a nivel mundial, generando efectos negativos en los recursos: suelo, aire y agua y sobre la salud humana. Por esta razón se ha visto en la necesidad de implementar pruebas de biomonitorio a escala laboratorio, que permitan determinar de una manera rápida y económica la influencia de los herbicidas sobre los procesos de germinación en especies de semillas nativas (espino y acacia) de la ciudad de Quito. Los objetivos de este trabajo consistieron en determinar los efectos toxicológicos del glifosato sobre la germinación y longitud radicular de semillas *Berberis halli* y *Acacia Melanoxylon*.

Se seleccionaron 5 concentraciones, las 3 primeras (T1 = 50 ug/l; T2 = 200 ug/l; T3 = 500 ug/l) en base a la tesis de Macro-invertebrados y las 2 últimas (T4 = 800 ug/l y T5 = 1mg/l) por bibliografía. Los resultados se analizaron mediante dos métodos: análisis de varianza (ANOVA) y correlación simple de Tukey en el programa INFOSTAT. Se obtuvo un índice de germinación normalizado de baja toxicidad en todos los tratamientos del espino, mientras que en la acacia se demostraron efectos positivos por el crecimiento radicular de las semillas en los tratamientos (T2 y T4) y una baja toxicidad en T1, T3 y T5. Un porcentaje de elongación radical residual normalizado que mejoró el crecimiento radicular en espino y en acacia demostró efectos positivos (aumentó el crecimiento) y negativos por la baja toxicidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos se demostró la presencia de diferencias significativas en la longitud radicular del espino (efecto positivo), a diferencia de la acacia que no se evidencio ningún tipo de reacción (positiva o negativa) en las variables analizadas.

ABSTRACT

The use of chemical substances to eradicate weeds present in agricultural areas (plants), has increased worldwide, generating negative effects on resources: soil, air and water and on human health. For this reason, it has been necessary to implement biomonitoring tests at a laboratory scale, which allows to determine in a quick and economic way the influence of the herbicides on the germination processes in native seed species (hawthorn and acacia) of the city. Quito. The objectives of this work were to determine the toxicological effects of glyphosate on the germination and root length of *Berberis halli* and *Acacia Melanoxylon* seeds.

Five concentrations were selected, the first 3 (T1 = 50 ug / l, T2 = 200 ug / l, T3 = 500 ug / l) based on the Macro-invertebrate thesis and the last two (T4 = 800 ug / l) T5 = 1mg / l) by bibliography. The results were analyzed using two methods: analysis of variance (ANOVA) and simple Tukey correlation in the INFOSTAT program. A normalized germination index of low toxicity was obtained in all the hawthorn treatments, while in the acacia positive effects were demonstrated by the root growth of the seeds in the treatments (T2 and T4) and a low toxicity in T1, T3 and T5. A percentage of normalized residual root elongation that improved root growth in hawthorn and acacia showed positive effects (increased growth) and negative effects due to low toxicity.

According to the results obtained, the presence of significant differences in the root length of the hawthorn was demonstrated (positive effect), unlike the acacia that did not show any type of reaction (positive or negative) in the variables analyzed.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Objetivo general.....	4
1.2.2 Objetivos específicos.....	4
1.3 Hipótesis.....	4
1.4 Alcance	5
1.5 Justificación	5
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Glifosato, usos y efectos.....	8
2.1.1. Que es el glifosato y sus efectos	8
2.1.2. Problema del uso de glifosato a nivel del mundo.....	9
2.1.3 Problema del uso de glifosato en Ecuador	11
2.1.4. Impacto del uso de glifosato en el proceso de germinación de semillas.....	12
2.2 Vegetación en el Ecuador	13
2.2.1 Formaciones y vegetales del Ecuador	13
2.2.2 Tipos de plantas.....	15
2.3 Semillas	17
2.3.1 Estructura	17
2.3.2 Dormancia	18
2.3.3 Latencia	20
2.3.4 ¿Qué es germinación?.....	22
2.3.5 Factores que afectan la germinación	23
2.4 Descripción de las especies de estudio	25
3. METODOLOGÍA.....	31
3.1 Descripción de las especies de estudio	31

3.2	Descripción del área de recolección de semillas	32
3.3	Recolección y preparación del material vegetal.....	33
3.4	Tratamientos pre-germinativos	34
3.5	Preparación de soluciones con glifosato.....	35
3.6	Parámetros químicos medidos en las soluciones.....	36
3.6.1	pH.....	36
3.7	Siembra.....	37
3.8	Diseño experimental	38
3.9	Tratamiento y análisis de resultados	40
4	RESULTADOS	44
4.1	Parámetros químicos de soluciones de glifosato	44
4.2	Análisis de Respuestas biológicas	46
5	DISCUSIÓN	52
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
6.1	Conclusiones.....	58
6.2	Recomendaciones.....	58
	REFERENCIAS	60
	ANEXOS	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Berberis halli	26
Figura 2. Berberis halli	26
Figura 3. Hojas de Berberis halli	26
Figura 4. Flores de Berberis halli.....	27
Figura 5. Acacia melanoxylon	28
Figura 6. Hojas de Acacia melanoxylon	28
Figura 7. Flores de Acacia melanoxylon	29
Figura 8. Fruto de Acacia melanoxylon	29
Figura 9. Ubicación del Parque Metropolitano.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Soluciones de glifosato.....	36
Tabla 2 Variables independientes de espino y acacia.....	39
Tabla 3 Descripción de las variables y el diseño experimental utilizados en cada especie	40
Tabla 4 pH de las soluciones	44
Tabla 5 Conductividad de las soluciones	45
Tabla 6 Respuestas Biológicas determinadas en semillas de Berberis halli expuestas a diferentes concentraciones de glifosato.....	46
Tabla 7 Análisis de Varianza (Porcentaje de germinación-Espino)	47
Tabla 8 Análisis de Varianza (longitud promedio de radícula- Espino)	47
Tabla 9 Medias ajustadas y errores estándares de la longitud promedio de radícula en espino	48
Tabla 10 Respuestas Biológicas determinadas en semillas de Acacia melanoxylon expuestas a diferentes concentraciones de glifosato	49
Tabla 11 Análisis de varianza (Porcentaje de germinación- acacia)	50
Tabla 12 Análisis de varianza (Promedio radícula- acacia).....	50
Tabla 13 Correlación simple de Pearson - Espino	51
Tabla 14 Correlación simple de Pearson - Acacia.....	51

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En la actualidad el crecimiento demográfico a nivel mundial se ha presentado de una manera tal, que ha conllevado al incremento en la necesidad de producir mayores cantidades de alimentos en un tiempo corto, por esta razón millones de productores se han visto en la tarea de buscar nuevos métodos que impulsen el mejoramiento en cuanto respecta a los rendimientos de producción (Salazar y Aldana, 2011). Es por este motivo que se conoce que la superficie agrícola se ha extendido en un 12%, mientras que la producción alimentaria ha alcanzado un 40%, mismos que se han registrado principalmente en las zonas de regadío, en los últimos 50 años (March, 2014).

Hoy por hoy, con la finalidad de compensar las altas demandas de producción, se han implementado métodos que ayuden en la prevención y erradicación de las diferentes plagas presentes en los cultivos, a través de la ejecución de sustancias químicas, como son el uso de plaguicidas (Salazar y Aldana, 2011).

Los plaguicidas se encuentran dentro del grupo de los herbicidas, son utilizados principalmente en las actividades agrícolas, generando de esta manera efectos adversos sobre los diferentes ecosistemas acuáticos y terrestres, producidos generalmente por factores como son: la dispersión aérea (vientos), volatilización y arrastre por aguas de lluvia y riego (Sánchez y Ettiene, 2005).

A pesar de que estas sustancias son muy utilizadas y se las emplea en grandes cantidades, la mayoría se infiltra en los suelos, formando una gran cantidad de residuos, que a corto o largo plazo van a ocasionar altas concentraciones de contaminación. De acuerdo a diferentes estudios realizados se ha determinado que en Europa Central existen 51 CUP (productos cultivados) y 9 productos de transformación TP, en 75 suelos cultivables de la Republica Checa, posterior a la aplicación del pesticida. De

igual manera se constató la presencia de pesticidas en los diferentes niveles de suelo, sobrepasando los valores establecidos de acuerdo al umbral (0,01 mg/kg) (Hvezdová et al., 2018).

En la Unión Europea (UE), aun no se encuentra aprobado el uso de herbicidas a base de glifosato, puesto que es considerado como un tema preocupante, debido a los diversos efectos negativos sobre el medio ambiente y especialmente la salud humana. La presencia de residuos provenientes del herbicida en los cuerpos de agua europeos, se encuentra documentada, mientras que no existen suficientes datos o son obsoletos en lo que respecta a los suelos del continente (Vera et al., 2017).

Entre el 2004 y 2009, a nivel mundial se estima que se consumió un promedio de 763. 913,93 ton de plaguicidas, dentro de los cuales un 16,1% y 21,6% en el año 2009 fueron usados por México, considerándolo de esta manera como el país con mayor consumo mundial del herbicida glifosato, según cifras registradas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT) (Salazar y Aldana, 2011).

En Colombia, también es utilizado el herbicida glifosato para la implementación de las diversas actividades agrícolas y también para la erradicación de plantaciones de amapola y coca en donde solo el 14% es utilizado para este evento (Fallis, 2013).

Las constantes fumigaciones llevadas a cabo por parte de los colombianos, en el conocido Plan Colombia, han provocado fuertes impactos negativos en los recursos del medio ambiente y sobre la salud humana, ocasionando la presencia de enfermedades y en muchos casos hasta la muerte de las poblaciones que se localizan cerca de la frontera colombo- ecuatoriana (Curiae, 2001).

Benner, Mena y Schneider (2016) señala que las mediciones que se han realizado, específicamente en el territorio ecuatoriano, demuestran la existencia de cantidades significativas del aerosol glifosato que persisten en los diferentes ecosistemas y que se encuentran desplazándose aún más a Ecuador. El tamaño promedio de gota usado para el riego fue de 150 ml, dispersado a una altura de 80 m en las distintas zonas de ambos países.

En lo que refiere al Estado ecuatoriano, se han admitido diversas evidencias de sociedades, en donde aseguran haber presentado daños, por estar expuestas al glifosato, producto de las fumigaciones continuas por parte del territorio colombiano. Desde que se iniciaron las desinfecciones en los cultivos en años pasados, se han visto reflejados 109 reportes asociados a la exposición del glifosato, correspondiente a un 37,6% de toda la población localizada a los alrededores de la frontera (Maldonado, 2003).

El Ecuador a pesar de su pequeña extensión territorial, es considerado a nivel mundial como el país que mayor diversidad posee, y ha sido calificado como uno de los 12 países mega-diversos, según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, a pesar de ello, ahora se ha visto afectado por los constantes usos de glifosato sobre las áreas agrícolas.

Según ilustraciones realizadas por la Comisión Científica Ecuatoriana, se indica que los impactos presentados por las sustancias químicas que constituyen el glifosato, mediante las aspersiones aéreas son mucho mayores a las realizadas directamente en las zonas de cultivo con problemas de plagas.

Por todos estos antecedentes el País se ha visto en problemas en la reducción continua de sus recursos, causando de esta manera, rígidas complicaciones en los productores de las diferentes plantaciones de Ecuador (Schmid, 2013).

Por todos los efectos negativos que produce el uso de los herbicidas y con el fin de combatir las malas hierbas insertada en cultivos, ciertos autores

aconsejan una serie de procedimientos como, por ejemplo: escoger bien las semillas (que sean de buena calidad), segar, abonar y regar correctamente.

De acuerdo a estudios se ha comprobado que el glifosato no afecta a la viabilidad de la siembra, así se aplique antes o después, además de ello el efecto que causa al colocarlo en dosis bajas durante el periodo entre germinación y emergencia no es letal, si no que por el contrario ayuda a regular el crecimiento, a diferencia si se coloca dosis altas, ya que en este caso si resultaría letal para el proceso de crecimiento de las plántulas (Quílez, 2016).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar los efectos toxicológicos del glifosato sobre la germinación de semillas de *Berberis hallii* y *Acacia melanoxylon* especies nativas de Quito

1.2.2 Objetivos específicos

- ❖ Evaluar la respuesta germinativa y de elongación radicular en relación a diferentes concentraciones de glifosato
- ❖ Correlacionar la respuesta germinativa y de elongación radicular con parámetros químicos de las soluciones

1.3 Hipótesis

Ho.1 Los procesos de germinación y elongación de radícula de *Berberis hallii* no se ven influenciados por el glifosato utilizado en el riego.

H1.1 Los procesos de germinación y elongación de radícula de *Berberis hallii* se ven influenciados por el glifosato utilizado en el riego.

Ho.2 Los procesos de germinación y elongación de radícula de *Acacia melanoxylon* no se ven influenciados por el glifosato utilizado en el riego.

H1.2 Los procesos de germinación y elongación de radícula de *Acacia melanoxylon* se ven influenciados por el glifosato utilizado en el riego.

1.4 Alcance

En la investigación primaria de laboratorio se observaron las respuestas germinativas de 2 especies nativas de la ciudad de Quito: *Berberis halli* y *Acacia melanoxylon* (Espino y Acacia), frente a diferentes concentraciones de glifosato a las que fueron expuestas. Con los resultados que se obtuvieron se determinó los porcentajes de germinación y elongación radicular de las semillas de cada especie, y con ello se estableció el comportamiento frente a las diferentes soluciones en comparación al testigo.

Para el desarrollo del estudio se utilizaron 300 semillas por cada especie, se trabajó en ensayos de laboratorio, mediante el uso de agua sintética con diferentes concentraciones de glifosato, el número de tratamientos aplicados fue de 5, más el testigo (agua destilada), con 5 repeticiones por tratamiento y 10 réplicas por repetición.

Los resultados fueron medidos en el caso del espino hasta el 8avo día y en la acacia hasta el 29avo día, debido a que los procesos de germinación de ambas especies no eran semejantes.

1.5 Justificación

El glifosato puede causar un impacto en la biodiversidad y en el ser humano de distintas maneras, provocando efectos negativos ya sea a corto o largo plazo, y de forma directa e indirecto. En el caso de los humanos induciendo a la presencia de enfermedades letales y malformaciones en estados de gestación,

mientras que en las plantas y los organismos acuáticos provocando ciertos efectos como: aumento de la tasa de mortalidad, reducción de las tasas de reproducción y cambios en las estructuras de las especies (Riley, Cotter, Contiero y Watts, 2011).

Los estudios de fitotoxicidad se han realizado principalmente en semillas de lechuga (*L. sativa*), debido a que es considerada una especie importante desde el punto de vista hortícola y porque es de fácil y rápida germinación, lo que permite desarrollar los bioensayos en pocos días, además que es considerada una especie sensible al contacto con cualquier contaminante (Sobrero y Ronco, 2004). Pero no se han estudiado las respuestas tóxicas en otro tipo de especies, como por ejemplo especies de interés forestal.

La importancia de las especies nativas en la ciudad de Quito radica en cada una de ellas contribuye a enriquecer y a su vez sustentar la vida de otras especies, como, por ejemplo: brindar refugio y alimento a muchos insectos y aves.

Es por esta razón que en la ciudad se cuenta con las condiciones ideales, en el suelo, clima y demás factores ambientales, convirtiéndolo en un lugar con altos índices de biodiversidad. Está constituido por un total de 300 árboles patrimoniales del arbolado urbano de la ciudad, que son declarados como bienes patrimoniales, es decir protegidos y conservados (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2016).

Las riberas son de gran importancia desde el punto de vista, hidrológico, ecológico, económico y social, dado que representan una zona de transición entre el medio acuático (caudales) y el medio terrestre por el intercambio de agua, sedimentos y a su vez nutrientes. La vegetación de ribera es considerada transcendental, ya que presenta la ventaja de formar corredores biológicos para mejorar el movimiento y dispersión de la mayoría de especies, para encontrar alimento y refugio. Según datos obtenidos, se establece que cerca de

los 2 millones de ha, equivalentes al 4% del territorio nacional, corresponderían a la vegetación de ribera (González, 2002).

Actualmente la información propuesta referente a temas de toxicidad de glifosato frente a la germinación de especies nativas de la Ciudad de Quito, no existe, por la falta de investigación e interés frente a este tipo de problemática ambiental. Por lo tanto, se evidencia la necesidad de desarrollar este tipo de estudios, que pueden generar información a corto plazo y además, bajo costo, para de esta manera contribuir a la conservación de especies nativas de la ciudad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Glifosato, usos y efectos

2.1.1. Que es el glifosato y sus efectos

En el año 1974 se introdujo en el mercado el Roundup, un herbicida altamente tóxico, utilizado principalmente en las actividades agrícolas, para la erradicación de plagas, cuyo principal componente era el glifosato. Sus primeros casos de resistencia se presentaron en el País de Argentina en el año de 1996, en donde se observó la presencia de especies invulnerables al plaguicida, provocando su notoria reducción al encontrarse en contacto directo con las diferentes concentraciones a las que fueron expuestas (Villalba, 2009).

Debido a su alta eficiencia y efectividad en la eliminación de malas hierbas, presentes en las áreas de cultivos, es considerado como uno de los herbicidas más utilizados a nivel del mundo, aparte de Argentina, se lo usa también en los Estados Unidos, en donde según estudios realizados se indica que manipulan cerca de las 2000 a 4000 toneladas anuales (Civeira, 2012). Según lo establecido por las normas de cada País, y de Organismos internacionales, mediante análisis realizados en cultivos, cuyo principal plaguicida es el glifosato (Paz, 2011).

Se ha establecido que las concentraciones máximas para utilizar no deben sobrepasar las 0,7 partes por millón (ppm) en Estados Unidos, de 2 a 4 litros L/ha en Ecuador, 10,4 lts de glifosato/ha en Colombia y 2,5 L/ha en Canadá, puesto que este nivel de protección no podría causar ningún problema de salud potencial descrito (FAO, 2014).

Las constantes fumigaciones que se realizan con el herbicida, alcanzan concentraciones que sobrepasan el 26%, según las investigaciones realizadas por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los EEUU), con el propósito

de erradicar las malas hierbas presentes en los numerosos cultivos. A pesar de su alto rendimiento y elevado porcentaje de manejo a nivel mundial, se ha definido que causa severos daños en la salud de las personas, especialmente de aquellas que se encuentran en contacto directo con el mismo, provocando de esta manera la presencia de enfermedades como son: problemas transgénicos durante el embarazo, cáncer con cifras significativas que van desde los 37.000 casos anuales en adelante y la muerte, en caso de que el nivel de exposición sobrepase lo establecido según las normas señaladas en cada País (Maldonado, 2003).

Finalmente se menciona que el glifosato también causa un impacto en la biodiversidad, generando efectos negativos ya sea a corto o largo plazo, directos e indirectos. En el caso de las plantas y los organismos acuáticos induce al aumento de la tasa de mortalidad, reducción de las tasas de reproducción y cambios en las estructuras de las especies (Riley, Cotter, Contiero y Watts, 2011).

2.1.2. Problema del uso de glifosato a nivel del mundo

Los herbicidas a nivel mundial son ampliamente utilizados, en diversas actividades, principalmente aquellas destinadas a la agricultura, por cuanto es considerado, como uno de los mejores plaguicidas para el apartamiento de malas hierbas y mejora en las producciones de cosechas. Según cifras emitidas por el CASAFE, se indica que el glifosato es considerablemente consumido en el país de Argentina, en donde se indica que, a partir del año 2007, los valores de utilización alcanzados fueron mayores a los 254 millones de kg o litros, que representa a un 78% del total, seguido por un 9% perteneciente a los insecticidas (CONICET, 2009).

Kovach (1992) manifiesta que: el glifosato ocupa el puesto 110 en la lista de herbicidas, al constituir una serie ordenada, lo que significa que su impacto al ambiente es muy bajo en comparación a otros plaguicidas, que comúnmente son utilizados con mayor frecuencia.

A pesar de no encontrarse en un puesto tan significativo, para provocar daños, el glifosato es considerado altamente tóxico, por mostrar problemas, especialmente en los suelos y aguas, debido a que presenta una facilidad de descomposición por cualquier microorganismo que se encuentre en contacto. Su alto poder de persistencia, indica que puede permanecer un periodo de tiempo de 60 días en el suelo según la EPA y de 1 a 3 años, de acuerdo a estudios efectuados en los países de Suecia y Canadá. En lo que respecta al agua, se conoce que tiene un mayor porcentaje de solubilidad, siempre y cuando se encuentre a una temperatura de 25 grados centígrados, según datos emitidos por el País de Canadá (Maldonado, 2003).

En Europa, a pesar de no existir cultivos genéticamente modificados, se ha empezado a utilizar el herbicida en determinados cereales como son: la cebada, el centeno y el trigo, así como también en semillas oleaginosas de mostaza y linaza. Su aplicación es mínima en comparación a otros países, por cuanto se conoce los efectos que acarrearán su uso sobre los seres humanos y el medio físico.

Las cantidades manejadas se encuentran en un rango que va de 0,72 a 2,88 kg/ha, 3 veces al año. Según la Unión Europea la aplicación del herbicida no debe sobrepasar los 4,32 kg/ha, establecida como la tasa máxima anual. Mediante estudios realizados en los suelos de Polonia y Portugal, se ha detectado la presencia del glifosato, al presentar porcentajes mayores al 52% en los cultivos y tubérculos, lo que indica que el poder de impregnación y persistencia del plaguicida en los suelos es muy significativo (Silva, 2018).

La aplicación del herbicida a nivel del mundo, ha ido incrementando de una manera inexplicable, a raíz de que se optó por utilizar cultivos RG (Resistente al Glifosato), puesto que el volumen aplicado por parte de los agricultores incrementó 14,6 veces más de lo normal, reflejando cifras mayores a los 51 millones de kg anuales en 1995 y 747 millones de kg en el 2014. Los RG al estar constituidos por el gen resistente al glifosato, han permitido que muchos cultivos, especialmente los transgénicos presenten la resistencia al mismo y

ayuden a manejar las malezas de una manera mucho más eficiente, sin riesgo de causar daño alguno en alguna actividad agrícola. Se estima que en países como Brasil, Argentina, Paraguay, Uruguay y Bolivia el uso anual que le están dando al glifosato sobrepase los 600 millones litros (Naranjo, Bravo y Naranjo, 2016).

2.1.3 Problema del uso de glifosato en Ecuador

El glifosato o como también se lo conoce Roundup, al ser considerado un herbicida efectivo a nivel mundial en la eliminación de hierbas y plantas no deseadas en cultivos o cosechas, y que además de ello no genera mayor impacto ambiental como otros tipos de plaguicidas (López, 2014), se lo ha venido utilizando hace ya varios años en las constantes fumigaciones en la frontera colombo ecuatoriana, en donde a pesar de que se han visto violados los derechos de la fauna, flora y pobladores y que se encuentra considerado como un problema a nivel mundial por los daños y perjuicios, producto de las fumigaciones Ecuador lo continua utilizando para las actividades agrícolas.

Las fumigaciones aéreas, se iniciaron en el año 2000 bajo el Plan Colombia, en el mismo país y en la frontera ecuatoriana. Se presentaron varios casos producto de estas acciones por parte de los colombianos, en donde la población de la Provincia del Carchi y Esmeraldas (Mataje), fueron víctimas del herbicida. De igual forma en el año 2001, la Provincia de Sucumbíos, presentó problemas de contaminación en zonas aledañas a las fumigaciones, en los recursos naturales, principalmente en el Rio San Miguel, en la salud humana (principalmente niños) y en toda la vegetación presente en el lugar (Cordovez, 2008).

La presencia de fumigaciones aéreas de glifosato en la frontera colombo-ecuatoriana ha ocasionado un sinnúmero de inconvenientes en ambos países, como es el caso de algunos estudios realizados especialmente a mujeres que han recibido impacto de dichas fumigaciones realizadas a 80 km de la frontera. Según los resultados obtenidos se demostró que los porcentajes de daño celular se encontraban a un nivel medio. De acuerdo a porcentajes obtenidos

los daños que presentaron las mujeres tanto ecuatorianas como colombianas asciende a 36.5%, distribuidos para Ecuador con un 37.6% y en Colombia 35.5% (Maldonado, 2003).

De acuerdo a los resultados obtenidos se demuestra claramente que, si siguen los procesos de fumigaciones aéreas por parte del País Colombia los riesgos de incrementar daños celulares y generar a futuro problemas de cáncer, incluso aborto espontáneo va a ser mucho mayor en la población localizada especialmente cerca de la zona de la frontera (Maldonado, 2003).

Como resultado de las fumigaciones aéreas sobre la frontera colombo-ecuatoriana, se conoce que los efectos provocados en los ecuatorianos replican sobre los colombianos, que se han visto mayormente afectados por las aspersiones, de acuerdo a la información proporcionada por parte de las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales del estado colombiano. De acuerdo a los resultados emitidos por parte del Departamento Colombiano de Putumayo, se reportó que, como resultado de las constantes fumigaciones, miles de colombianos presentaron síntomas como: irritación ocular, problemas respiratorios, lesiones en la piel, ceguera temporal, parálisis temporal, entre muchos problemas más, adicional a ello se han visto afectados los animales y las cosechas, por pérdida de alimentos (Cordovez, 2008).

2.1.4. Impacto del uso de glifosato en el proceso de germinación de semillas

Según estudios que se han realizado se conoce que ha existido un incremento en la tolerancia al glifosato en diversas especies vegetales, las cuales se han realizado a través de la selección de determinadas variantes somaclonales, lo que a su vez demuestra que las pruebas se llevaron a cabo a través de medios de cultivos utilizando herbicidas.

De acuerdo a ensayos de invernadero realizados, se ha comprobado que después de la realización de un tratamiento con dosis cinco veces a la

recomendada para control de gramíneas anuales (76%), las plántulas (conjunto formado por el embrión y endosperma) expuestas al glifosato alcanzaron el estado adulto (plantas: vegetales formados con todos los órganos), a diferencia de los testigos, mismos que solo alcanzaban un 34% (Miranda et al., 1997).

Las respuestas al glifosato por parte de las pruebas de laboratorio realizadas, indicaron que no se logró generar plantas, es decir el herbicida interfirió en el proceso de germinación in vitro de las especies gramíneas analizadas.

Según estudios realizados en los cultivos de Argentina, en donde se pretendía observar la sensibilidad de glifosato en diferentes tasas de aplicación (0, 525, 1050, 2100, 4200 y 8400 g/ha) con especies nativas del lugar y con la aplicación de una tasa de herbicida requerida. Se pudo tener como resultado que a concentraciones mayores de 525 g/ha, las especies mostraron efectos letales o sub-letales, a concentraciones de 1050 g/ha mostró niveles de fitotoxicidad grave y muerte de las especies y finalmente a concentraciones mayores de 1470 g/ha se indicó reducción del crecimiento de las semillas estudiadas (Florencia, 2017).

2.2 Vegetación en el Ecuador

2.2.1 Formaciones y vegetales del Ecuador

Ecuador cuenta con 24,66 millones de ha ,2433 especies vegetales nuevas, dentro de las cuales 1663, son consideradas desconocidas para la ciencia, además de encontrarse conformado por 25 de las 32 zonas según la clasificación de Zonas de Vida y Formaciones Vegetales de Holdridge, (MAE, 2017). La variedad de ecosistemas, recursos genéticos, tradiciones y costumbres de la gente, lo consideran como uno de los 17 países mega diversos a nivel mundial (MAE, 2012).

Debido a la variedad de climas, elementos geográficos y geología volcánica que dispone el país, ha originado la existencia de 7,68% de especies de

plantas vasculares en el planeta. En Ecuador se registran 18.198 especies de flora dentro de las cuales 17.748 son consideradas nativas y 4.500 endémicas, por la presencia de esta diversidad, Ecuador se encuentra ocupando el séptimo lugar en lo que refiere a la riqueza vegetal a nivel mundial (León, 2005).

Según MAE (2012) las regiones del Ecuador se encuentran definidas de la siguiente manera:

Región Costa

Los bosques siempre verdes, se encuentran formados principalmente por especies arbóreas de las familias Myristicaceae, Moraceae, Fabaceae y Meliaceae, su dosel es de 40 metros de alto aproximadamente. En el sotobosque prevalecen las hemiepifitas arbustivas de los géneros Clusia y Philodendron. Bosque pie montano, se localiza a 900 m de altura, los fustes de sus árboles se encuentran cubiertos de aráceas, helechos y orquídeas. Los bosques deciduos de tierras bajas localizados hasta los 400 msnm, generalmente sus árboles crecen de 10 a 15 m de altura, a pesar que su dosel puede alcanzar los 25 m. Finalmente la parte occidental de la Provincia del Guayas se caracteriza por estar constituida de matorrales, bosques espinosos y deciduos.

Región Andes

Según MAE (2012) los bosques de montaña se identifican por presentar combinaciones de geomorfología, temperatura, humedad y diversidad de especies como las epifitas, hepáticas y briofitas.

En las estribaciones orientales prevalecen los bosques continuos y húmedos, a diferencia de las estribaciones occidentales donde se encuentran bosques extensos. El páramo se encuentra entre los 3300 a 3500 m al norte y 2800 m al sur, consta de vegetación zonal y azonal (*Plantago rígida*, *Werneria spp.*,

Distichia muscoides, *Oreobolus spp.*, *Sphagnum spp.*, entre otras más. Los valles que engloban a los matorrales secos y húmedos montano y matorrales húmedos montano bajos se presenta a una altitud que va de 1600 a 3000 m.

Los valles interandinos se encuentran dominados por plantaciones de *Eucalyptus globulus*, *Pinus radiata* y *Pinus patula*, especies introducidas. En áreas desérticas y semidesérticas sobresalen arbustos pequeños (*Acacia macracantha*, *Croton wagneri*, *Dodonaea viscosa*, *Caesalpinia spinosa* y *Aloe vera*). Por último, en los bosques semidecuidos montanos bajos se halla la presencia de escasos arboles de más de 20 me de altura.

Región Amazonía

Cuenta con 9260000 ha, distribuidas con el 30% del territorio nacional, de las cuales solamente el 2% corresponde a la Cuenca Amazónica. Se encuentra localizada a una altitud promedio que va de 180 a 190 msnm (parte baja) y 2900 msnm (cumbres amazónicas). Su vegetación se encuentra distribuida de la siguiente manera: bosques de tierra firme (473 especies de árboles > 5 DAP), bosques inundables por ríos de origen amazónico, moretales y bosques en sistemas lacustres-riparios de aguas negras.

2.2.2 Tipos de plantas

Existen 2 tipos de plantas, que se las clasifica de acuerdo al número de cotiledones que presentan las semillas y se las clasifica en:

Dicotiledóneas:

Las plantas angiospermas pertenecen a la División Magnoliophyta, la cual se divide en 2 clases: Magnoliopsida o llamadas también dicotiledóneas y las Liliopsida o Monocotiledoneas, contando con un total de 200.000 spp y 50.000 spp respectivamente (Rueda, 2015).

Las principales características físicas que presentan son:

- Sus semillas presentan dos cotiledones
- Sus raíces generalmente son axonomórfas o fasciculadas
- Sus tallos se localizan de manera transversal, los haces conductores se encuentran en forma de círculos y abiertos, ayudando de esta manera al crecimiento secundario en grosor.
- Las hojas pueden ser simples o compuestas, en otras palabras, este tipo de plantas se caracteriza por exhibir un peciolo muy bien diferenciado.
- Las flores se encuentran formando verticilos (conjunto de hojas, ramas o flores que nacen a una misma altura alrededor del tallo y brotan en un mismo nivel) de 5 meros o 4 meros, a diferencia de las monocotiledóneas que suelen presentar 3 meras (Hurrell, 2007).

Monocotiledóneas:

Según los estudios moleculares y morfológicos realizados son consideradas como las especies más antiguas de las plantas angiospermas. A nivel mundial se conoce que existen aproximadamente 52000 especies, de las cuales el 22% constituyen las Angiospermas y el 51% corresponde a las familias Orchidaceae (34%) y Poaceae (17%) en las que han sido clasificadas.

Dentro de las principales características que poseen se encuentran las siguientes:

- No presentan tallos ramificados, debido a que escasean de crecimiento secundario.
- Están conformadas por hojas con venación, lineal.
- No presenta diferenciación del peciolo, puesto que la lámina foliar es mucho más ancha que en las dicotiledóneas.

- Poseen un cotiledón que contiene a un embrión generalmente modificado (Fierro, 2005).

2.3 Semillas

2.3.1 Estructura

Las semillas se forman a partir del rudimento seminal, que se encuentra ubicado en el ovario de las flores, esto sucede posterior a producirse la fecundación por los granos de polen. El proceso de fecundación es diferente en las plantas, por ejemplo, en las angiospermas cada núcleo (ambos haploides) se une con la ovocélula y con los núcleos centrales, y así es como dan origen a una doble fecundación (Megias, 2015), a diferencia de las gimnospermas cuyo proceso de reproducción se da a partir de hojas fértiles modificadas en forma de escama, que posteriormente conformaran los conos o estróbilos. Los cuales dispondrán del polen que será llevado hacia los conos femeninos, mediante el viento, dando origen al embrión de una planta nueva (Fernández y Serrano, 2012).

La semilla está estructurada por: el embrión, endospermo y tegumento

Embrión:

Es considerado una planta en miniatura en estado de vida latente o letargo, el cual se va a desarrollar a partir de los óvulos de las flores. Se encuentra rodeado por sustancias de reserva, endospermo o albumen que va a dar como resultado al fruto (Carbio, 2009).

En el caso de las dicotiledóneas el embrión que es formado por una célula sufre una división por medio de un tabique longitudinal dando como efecto la formación de dos cotiledones, los cuales darán origen al epicotilo (parte superior) e hipocótilo (localizado por debajo) (Megias, 2015), a diferencia de las

monocotiledóneas, que no sufren ninguna división por presentan un cotiledón, en donde a veces el embrión es indiferenciado (Gonzáles, 1999).

Endospermo:

Se encuentra rodeando al embrión y su principal función consiste en almacenar nutrientes en el proceso de germinación y primeras etapas de la vida (Carbio, 2009). El tejido nutricio resultado de la formación del endospermo genera dos estructuras más como son el perispermo y endospermo.

Las semillas que sujetan al endospermo en estadios maduros son denominadas albuminosas o endospérmicas, a diferencia de las que lo consumen en los primeros estadios de maduración, a estas se las designa exalbuminosas o endospérmicas. Estas últimas mencionadas tienen la facilidad de almacenar el material de reserva solo en los cotiledones, como es el caso del guisante o la mostaza (Megias, 2015).

Tegumento:

También conocida con los nombres de piel o capa protectora, se encuentra localizada al exterior de la semilla, en forma de una envoltura, originadas a partir de los tegumentos internos y externos del rudimento seminal, los que posteriormente se convertirán en el tegmen y la testa de la semilla (Megias, 2015). Es más, o menos gruesa (de 2 a 3 capas de células de espesor) (González y Cristóbal, 2006), dependiendo del tipo de semilla, presenta un aspecto transparente o a su vez coloreada. Su principal función consiste en la protección de la semilla durante el periodo de vida latente de la misma (Carbio, 2009).

2.3.2 Dormancia

El significado de Dormancia según varios autores manifiesta que es la suspensión temporal del crecimiento en las estructuras que contienen

meristemas primarios, a pesar de tener todas las condiciones normales para germinar, ocasionando una resistencia máxima en la semilla por los mecanismos fisiológicos y físicos que presenta internamente y conllevando a la sobrevivencia de las especies en los diversos ecosistemas (Viveros y Hernández, 2007).

Según Saritama (2016) se ha demostrado que las especies de plantas difieren en su mayoría en los rasgos de las semillas, los cuales generalmente se encuentran asociados a la regeneración natural y los factores abióticos presentes en cada hábitat. Las características morfológicas, fisiológicas y fenológicas ayudan a determinar el rendimiento de una planta en su proceso de crecimiento, supervivencia y reproducción. Dentro de los principales rasgos que son tomados en cuenta al momento de establecer las características fenológicas se encuentran la masa, el tamaño, tipo de cotiledones y la testa, que se encuentran ampliamente relacionados con el proceso de germinación y dormancia de las semillas en determinadas especies.

Como ya se mencionó antes los procesos biológicos, dependientes del hábitat y de los mecanismos evolutivos reducen el riesgo de cambio de las semillas a plantas al encontrarse influenciados por la presión de selección. Baskin y Baskin (2004) señalan que esta presión debe favorecer a los patrones de germinación, longevidad y dormancia, mediante la estabilización de una planta en un determinado ambiente apto para su crecimiento. A pesar de ello se conoce que han existido altas tasas de mortalidad de plantas estando en condiciones naturales, lo que ha confirmado que las clases de dormancia y procesos de germinación incrementarán planes de restauración tropical (Montejo, 2015).

La dormancia se divide en primaria y secundaria, esto depende mucho de que la capacidad germinativa se encuentre bloqueada antes o después de su dispersión.

Primaria: Generalmente sucede en semillas ortodoxas (presentan la capacidad de tolerar una desecación en la última etapa de su desarrollo, mediante alteraciones celulares, bioquímicos y fisiológicos) (Fajardo et al., 2011), que ocurre durante la maduración de los órganos de dispersión de la planta madre.

Secundaria: Hace hincapié con los ciclos anuales de dormición en los bancos de semillas del suelo (Matilla, 2008).

La dormición depende de las características de la semilla, por este motivo se las ha clasificado de la siguiente manera:

- Fisiológica: Hace referencia a los métodos fisiológicos que interfieren en el aislamiento durante el proceso de crecimiento del embrión.
- Morfológica: Se presenta generalmente en los embriones inmaduros, por la presencia de compuestos que interfieren en el intercambio de agua entre el envoltorio de la semilla y el embrión.
- Morfo fisiológica: Consiste en la combinación de la dormición fisiológica y morfológica, a pesar de que no es muy común en las semillas.
- Física: Se relaciona con la obstrucción de la capa que envuelve a la semilla durante el paso del agua.

La Física es la que mayormente se presenta en las semillas

2.3.3 Latencia

Arana (2011) denomina como la incapacidad que presenta la semilla para germinar, puesto que se encuentra en un estado inactivo. La principal función que presenta es que restringe el proceso de germinación en la planta madre por no contar con condiciones medio-ambientales favorables para su desarrollo y conllevando a que el individuo genere un medio de supervivencia.

Existen cinco tipos de latencia que se van a describir a continuación:

1. **Latencia por la cubierta de las semillas o exógena:** Se divide en dos la física y mecánica.

La primera hace referencia a la impermeabilidad de las cubiertas de las semillas, permitiendo de esta manera que el embrión pueda resguardar las semillas con un nivel de humedad bajo durante mucho tiempo. En cambio, en la mecánica el problema que presentan los embriones es que las cubiertas de las semillas son muy duras y les impide expandirse, ocasionando un retardo en la germinación que conlleva a la latencia de la misma.

2. **Latencia morfológica o endógena:** Generalmente se presenta en las plantas, cuyo embrión no se desarrolló completamente durante el proceso de maduración. Se dividen en 2 grupos los embriones rudimentarios (morfológicamente inmaduros por presentar un embrión en forma de pro embrión dentro del endosperma) y embriones no desarrollados (pueden alcanzar un tamaño de hasta la mitad de la cavidad de la semilla).
3. **Latencia interna:** Se presenta por dos anómalos en particular, la semi-permeabilidad que es controlada por la testa de las semillas y el aturdimiento que presenta el embrión al estar expuesto a temperaturas frías.
4. **Latencia combinada morfo-fisiológica:** Radica a la mezcla que existe de inhibidores durante el transcurso de desarrollo del embrión.
5. **Latencia combinada exógena-endógena:** Se refiere a las combinaciones presentes de la cubierta de la semilla con el pericarpio.

La latencia es la incapacidad que presenta una semilla para poder germinar, debido a que las condiciones ambientales no son las apropiadas para el origen de una nueva planta, en cambio la dormición es la incapacidad que sufren algunas semillas viables y con condiciones ambientales ideales por mostrar problemas físicos y fisiológicos internos de la propia semilla (De la Cuadra, 2011).

Para romper la latencia se debe tener en cuenta que las condiciones ambientales sean las apropiadas, refiriéndonos a: la cantidad de agua (solo la necesaria para evitar un inhibimiento excesivo), la luz (sin presencia de luz), temperatura (que no sea excesivamente alta o baja) y finalmente el oxígeno (a mayor cantidad de oxígeno el porcentaje de latencia reducirá).

Para romper la dormición se pueden implementar diversos tratamientos, como, por ejemplo: escarificación mecánica, tratamientos ácidos, tratamientos con calor, lixiviación y estratificación fría (García y Villamil, 1999). Se considera como uno de los mejores métodos para romper la dormancia el tratarlas con agua hirviendo, ya que esto incrementará bruscamente la germinación, especialmente de semillas de *Glycine*, *Leucaena* y *Acacia* (Mérola y Díaz, 2012).

2.3.4 ¿Qué es germinación?

La germinación es considerada un proceso fisiológico, a través del cual brotan y se desarrollan las principales estructuras que conforman el embrión para de esta manera dar origen a una nueva planta (Morales, Peña, García, Aguilar y Kohashi, 2017).

La germinación comprende varias fases o etapas de gran importancia, dentro de las cuales se encuentran: la imbibición de agua, hidratación de tejidos, absorción de oxígeno, actividad enzimática, división celular, diferenciación celular y tejidos, crecimiento y diferenciación de tejidos y la emergencia de plántulas (Velásquez, 2008).

Es importante resaltar que existe un extenso rango de intensidades de latencia absoluta, por la cual la germinación no se produce bajo ninguna condición, es decir traspasa intensidades intermedias, a través de las cuales las semillas pueden germinar en un rango de condiciones ambientales estrechas. Lo contrario sucede cuando el nivel de latencia disminuye, ya que en este caso produciría un aumento en el proceso de germinación (Varela y Arana, 2011).

Por este motivo las aplicaciones de los tratamientos pre-germinativos son muy importantes, ya que a través de ellos se puede incrementar el porcentaje de germinación y producción de plantines a partir de cualquier tipo de semilla, en el caso de que estas presentaran dormición.

Dentro de los principales tratamientos se encuentran los siguientes:

Estratificación, Escarificación (mecánica y física), Lixiviación, Hormonas y otros estimulantes químicos y flotación (Varela y Arana, 2011).

2.3.5 Factores que afectan la germinación

Los principales factores que afectan de manera negativa a que se dé una óptima germinación son:

INTRÍNSECOS:

Lallana (2013) indica que dentro de los principales factores se encuentran las limitaciones físicas por parte de los tegumentos, puesto que operan como barrera protectora para evitar el ingreso de cualquier tipo de sustancia, la presencia de bloqueos metabólicos, viabilidad, inhibidores y finalmente la longevidad.

Viabilidad: Tiene mucho que ver el tipo de semilla y las condiciones de almacenamiento que se le ha dado, por medio de este atributo se puede determinar la capacidad de la planta en el proceso de germinación.

Longevidad: Hace referencia al tiempo en que una semilla se encuentre factible para la siembra. El tiempo de germinación depende también de la especie, por esta razón se han clasificado en 3 principales: macrobionóticas (su proceso de germinación se puede dar en decenas o centenas de años), mesobionóticas (son las que mayor longevidad presentan que va de 3 a 15 años) y por último las microbionóticas (llegan a sobrevivir de días a meses).

EXTRÍNSECOS:

Son considerados el agua, oxígeno, temperatura y la luz, es muy importante tener en cuenta que estos factores presentan rangos, mediante los cuales se indican los límites en los que se puede presentar la germinación de acuerdo al tipo de semilla.

Agua: Es primordial que las semillas tengan la suficiente disponibilidad de agua para su rehidratación y de esta manera generen la humedad necesaria para que la actividad respiratoria incremente y produzca el crecimiento del embrión (Velasquez, 2008).

Temperatura: La temperatura juega un papel importante en el proceso de germinación de las semillas, siendo los rangos más óptimos, lo que van de 10 a 30 °C y de 20 a 25 °C. Las temperaturas por debajo de los 5 °C y superiores a los 35 °C imposibilitan el proceso de germinación (Lallana, 2005).

Temperatura mínima: No existe una germinación visible durante un periodo de tiempo razonable.

Temperatura máxima: No existe germinación alguna, puesto que es demasiado alta.

Temperatura óptima: Velásquez (2008) indica que es considerada la temperatura ideal, debido a que las semillas presentan un elevado porcentaje de germinación en un periodo de tiempo corto.

Oxígeno: Es fundamental la cantidad de oxígeno presente en el proceso de germinación, puesto que a mayor presencia del mismo generará un ambiente más adecuado para que se incremente la velocidad de absorción y velocidad de respiración del embrión.

Luz: La mayoría de especies requieren la presencia de ondas luminosas para incrementar su velocidad de germinación o en otros casos para romper el estado de dormancia y poder dar origen al embrión.

Tipos de germinación:

Existen 2 tipos que van a depender de la forma en que la semilla emerge durante el proceso de germinación y son EPIGEA o HIPOGEA.

Epigea: Se presenta cuando los cotiledones son llevados fuera del suelo.

Hipogea: A diferencia del anterior, los cotiledones se quedan bajo el suelo, un claro ejemplo de este tipo de germinación se presenta en las plantas de maíz.

2.4 Descripción de las especies de estudio

ESPINO

Berberis hallii

Familia: Berberidaceae

Nombre común: Espino amarillo

Distribución y hábitat

Generalmente se encuentra en los países de Ecuador y Perú, en un rango altitudinal que va de los 2500 a 3500 msnm.

Descripción

Es un arbusto que presenta espinos preponderantes, su madera es amarilla al igual que sus flores bien vistosas. Puede medir hasta 2m de alto (Oleas, Altamirano, Touma y Bustamante, 2016).



Figura 1. Berberis halli



Figura 2. Berberis halli

Hojas: Se encuentran formadas en grupos de tres o más que emergen claramente del tallo. La principal característica que presentan consiste en poseer espinos en sus bordes (Aguilar, Hidalgo y Ulloa, 2009).



Figura 3. Hojas de Berberis halli

Flores: Se presentan en multitudinarias cantidades, son de color amarillo y generalmente de pequeño tamaño.



Figura 4. Flores de *Berberis hallii*

Frutos: Son bayas carnosas que se presentan inicialmente en tonos verdes, y una vez ya maduros, cambian su tonalidad a morados y negros (Oleas et al., 2016).

Usos: Su madera se la considera muy apreciada, dado que se la utiliza principalmente para la elaboración de telares e instrumentos de labranza. En lo que refiere a la medicina sirve para curar la fiebre amarilla. Adicionalmente se la usa como cerca en las huertas (Aguilar et al., 2009).

Estado de Conservación: No se encuentra valorado, pero al parecer no es vulnerable (Jardín Botánico de Quito, 2018).

Acacia

Acacia melanoxylon

Familia: Leguminosae

Nombre común: Acacia negra

Distribución y hábitat

Es originaria del noreste de Australia e introducida a Chile a principios del siglo. Actualmente se la puede encontrar en el Sur de Tasmania, Victoria y Nueva de Gales (Instituto Forestal, 1998).

Descripción

Es un árbol que puede llegar a medir hasta los 40 m de altura en las condiciones idóneas para su desarrollo. Su madera presenta un color pardo oscuro y agrietado. (Álvarez y Abilleira, 2015).

Fuste: único

Copa: cónica.

Densidad de copa: densa.



Figura 5. Acacia melanoxylon

Hojas: Se presentan en formas de filodios (forma de hoz) con un aspecto cónico, lo que les permite soportar temperaturas extremas de calor (Urbano, 2007).



Figura 6. Hojas de Acacia melanoxylon

Flores: Se presentan en forma de globo y son de color amarillas, se la diferencia de otras especies porque presenta pequeños racimos que contienen de 3 a 5 cabezuelas (Instituto Forestal, 1998).



Figura 7. Flores de Acacia melanoxylon

Frutos: Tienen el aspecto de una pequeña legumbre torcida de color café rojizo, que contienen a la semilla en su interior (Instituto Forestal, 1998).



Figura 8. Fruto de Acacia melanoxylon

Semillas: Son alargadas de color negro, se encuentran rodeadas por una base seminal que presenta un tono rosado (Instituto Forestal, 1998).

Usos: Su madera es considerada muy buena para el uso como leña y postes. Esta especie se caracteriza por tener un alto poder de regeneración debido al brote de sus raíces (Urbano, 2007).

Estado de conservación: Se encuentra en un estado de amenaza según categorías UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (Hoffmann, 1983).

Semillas de Espino y Acacia

El conocimiento de la estructura interna y externa de las semillas forestales es de primordial importancia, ya que sirve de base para determinar que tratamiento y métodos deben aplicarse para su mejor germinación, siembra y obtención de plantas de óptima calidad (Ledesma, 2010).

El mejor tratamiento pre-germinativo para las semillas consiste en someterlas a calor, sumergirlas en agua a 50 grados centígrados por un periodo de tiempo de 10 minutos, dando como resultado un porcentaje de germinación del 62%, permitiendo de esta manera reducir el estado de latencia, en comparación a semillas que no recibieron ningún tipo de tratamiento alcanzado un 48%.

3. METODOLOGÍA

La presente investigación fue un trabajo experimental con *Berberis hallii* y *Acacia melanoxylon*, que se realizó en el laboratorio de Toxicología(LQ11), de Ingeniería Ambiental, en la Universidad de las Américas, Sede Queri.

3.1 Descripción de las especies de estudio

Para la investigación, se trabajó con una especie arbustiva (*Berberis hallii*) y una especie arbórea (*Acacia melanoxylon*), ambas nativas del Ecuador y presentes en la ciudad de Quito.

ESPINO (*Berberis hallii*)

Pertenece a la familia Berberidaceae. Es un arbusto que se caracteriza por presentar sus hojas con prominentes espinos, puede llegar a medir hasta 2m de alto, presenta vistosas flores de color amarillo, su fruto se exhibe en forma de baya. Su madera es utilizada principalmente para combustible. Se lo considera una especie apta para los programas de reforestación y restauración natural (Oleas et al., 2016).

ACACIA (*Acacia melanoxylon*)

Pertenece a la familia Mimosaceae. Es un árbol que puede alcanzar hasta los 30 m en estado adulto. Su principal característica es la de transformar sus hojas en filodios, los cuales le permiten soportar las altas temperaturas, posee sus frutos en forma de legumbres con semillas negras, rodeadas por una envoltura naranja. El principal uso de su madera es para la elaboración de leña y postes para cercas. Presenta una tasa de crecimiento rápida y una longevidad que va de 10 a 20 años (Urbano, 2007).

3.2 Descripción del área de recolección de semillas

Las semillas se colectaron en el Parque Metropolitano de la ciudad de Quito.

En el año 1980 fue creado el Parque Metropolitano, localizado en la Provincia de Pichincha (Salazar, 2014), específicamente al nororiente de la zona centro-norte de Quito, se localiza a una altitud que va desde los 2890 a 2980 msnm (Noguera, 2012) y cuenta con un área aproximada de 557 ha.

Prevalecen las especies foráneas (eucalipto), a pesar de que también existen matorrales, arbustales de vegetación nativa del lugar (28 especies), cuenta con zonas de pradera (pastos plantados) y vegetación herbácea en estado de recuperación (Salazar, 2014).

Generalmente los días son soleados en verano, a pesar de que es más vulnerable a las lluvias, puesto que cuenta con una variedad de vegetación y bosque. En invierno las presencias de lluvias son muy frecuentes (Torres, 2013).

Rango Altitudinal: 2890 a 2980 msnm

Temperatura media anual: 11 °C

UBICACIÓN EN GOOGLE EARTH

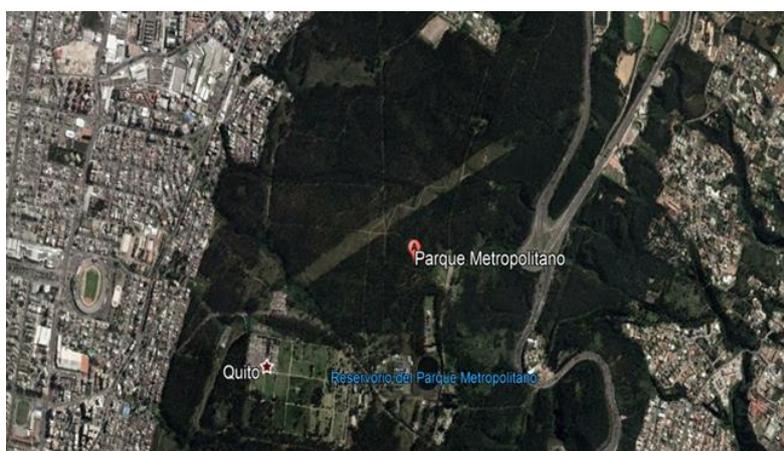


Figura 9. Ubicación del Parque Metropolitano

Tomado de (Google Earth, 2018)

3.3 Recolección y preparación del material vegetal

Se colectaron 500 semillas por especie como reserva en caso que se requirieran más durante el proceso de experimentación.

ESPINO

El material vegetal fue recolectado el 23 de enero, de 5 arbustos que se encontraban localizados en los alrededores del Parque Metropolitano, para seleccionar el tipo de semillas a recoger, se consideró aquellas que se encontraban en bayas menos abiertas y más largas, ya que eran las que mayor cantidad de semillas contenían en su interior (5 a 6 semillas por baya).

Para la recolección se tomó en cuenta la presencia de flores color amarillo, el estado y apariencia del fruto, el cual demostró tonos que iban de morados a negros, lo que indicó que ya se encontraban en un estado de madurez, listos para ser recolectados.

De igual manera se observó la presencia de frutos caídos en el suelo y la facilidad de las semillas para desprenderse de ellos, todos estos aspectos fueron de gran relevancia al momento de realizar la selección, ya que permitió se obtuviera semillas viables.

No se sustrajeron semillas de frutos pequeños, debido a la escases de sustancias de reserva en su interior y las que mostraron alguna anomalía fueron desechadas para evitar se diera algún tipo de contaminación con el lote. Para su preparación, solo se extrajeron una a una las semillas del interior de las bayas con ayuda de una pinza y se las colocó en una funda de papel, previa a su siembra.

ACACIA

Las semillas se colectaron el 28 de enero, de 7 árboles adultos, para la selección de los individuos se supuso tomar en cuenta las que se hallaban colgando en las legumbres más largas, puesto que eran las que tenían cantidades mayores (4 a 5 semillas por legumbre).

Los aspectos que se tomaron en cuenta para su recolección, consistieron principalmente en el estado, la cantidad de frutos caídos, la facilidad de las semillas para desengancharse de ellos y la apariencia del fruto, que tomaba tonos de café a rojizos, lo que indicó se encontraban en el estado óptimo para la obtención de semillas factibles para su posterior siembra.

Las semillas que presentaron algún tipo de problema, como diferente color, rasgaduras o consistencia blanda fueron desechadas.

Se cogió cada legumbre y se quitó cada semilla con la mano. Con una pinza se eliminó las envolturas naranjas que las rodeaba y se las almacenó en fundas de papel para su posterior siembra.

3.4 Tratamientos pre-germinativos

Se realizaron tratamientos previos con las dos especies elegidas en la investigación, los cuales permitieron conocer los porcentajes de germinación y el tipo de tratamiento idóneo para romper el estado de latencia y dormancia.

En el caso del espino, fueron puestas 10 semillas en contacto con agua hirviendo durante un periodo de tiempo de 15 minutos, posterior a ello se las retiró y se tuvo como resultado que el 60% germinó, mientras que el 40% restante no logró romper su latencia, a pesar de ello ninguna se contaminó.

Las semillas de acacia fueron sometidas a 2 tratamientos (agujero en la testa y calor), el que mejor resultado mostró fue el primero, con un 71.4% de semillas germinadas, mientras que el porcentaje restante permaneció en estado de dormancia.

A pesar de los resultados que se tuvieron, al momento que se realizaron los ensayos con glifosato, los efectos fueron negativos, puesto que casi todas se contaminaron, por ese motivo se decidió utilizar el tratamiento de calor, que dio un porcentaje de germinación del 76%.

3.5 Preparación de soluciones con glifosato

Se preparó una solución de 1mg/l a partir de la solución concentrada, a través de la cual se realizó el siguiente cálculo:

480 g/l (Solución madre)



1 mg/l

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

$$C1 = 480 \text{ g/l} \quad \rightarrow \quad 480.000 \text{ ug/l}$$

$$V1 = \frac{1 \frac{\text{mg}}{\text{l}} * 1000 \text{ ml}}{480.000 \text{ mg/l}} \quad \text{(Ecuacion 1)}$$

$$V1 = ?$$

$$C2 = 1 \text{ mg/l}$$

$$V1 = 2,08 \text{ ul/l de la Sol M}$$

$$V2 = 1 \text{ lt}$$

Se tomó como punto de partida el 1 mg/l (concentración tratamiento 5) para obtener los valores de las otras concentraciones, aplicando la ecuación mencionada anteriormente.

Tabla 1
Soluciones de glifosato

Tratamientos	Concentraciones
T1	50 ug/l
T2	200 ug/l
T3	500 ug/l
T4	800 ug/l
T5	1mg/l

Nota: Concentraciones de glifosato en los cinco tratamientos

3.6 Parámetros químicos medidos en las soluciones

3.6.1 pH

Se utilizó el pHmetro HANNA constituido por un electrodo que permite determinar las concentraciones de iones presentes en las soluciones.

Se colocó cada una de las soluciones de glifosato en 5 vasos de precipitación con 50ml y finalmente se procedió a realizar la medición (equipo previamente calibrado), para lo cual se sumergió el electrodo en las soluciones hasta que el equipo se estabilizara para poder obtener valores exactos. Para mayor seguridad se realizaron dos mediciones por muestra.

3.6.2 Conductividad

Se utilizó el conductivímetro HANNA Hi9829 Multiparameter, compuesto por dos electrodos que van a permitir medir la conductividad de cualquier solución.

Para este análisis se tomaron las soluciones con diferentes concentraciones de glifosato en 5 tubos de ensayo, seguidamente se introdujo la sonda de medición del equipo (electrodo calibrado) y se registró la medición dada. Para mayor seguridad se realizaron 2 mediciones por solución.

3.7 Siembra

ESPINO Y ACACIA

Para cada especie se trabajó con 300 semillas.

El material de siembra fueron cajas petri de plástico de 100 mm de diámetro, para evitar algún tipo de contaminación externa y para un mejor y seguro manejo durante el periodo de manipulación de las mismas, se utilizaron 30 cajas por especie.

El sustrato que se utilizó fue papel absorbente de 6 mm de espesor, para asegurar una excelente capacidad de retención de líquido (Sobrero y Ronco, 2004), durante el riego, esto se realizó por c/u de las cajas.

Para la siembra de las semillas en las cajas Petri, se procedió a coger cada individuo con una pinza y se las ubicó a una determinada distancia para facilitar el crecimiento de las radículas y epicotilos.

El riego se realizó posterior a la siembra de las semillas en las cajas Petri. Se manipularon 6 goteros de 10 ml por tratamiento incluyendo el testigo para evitar algún tipo de alteración en los resultados durante los procesos de germinación de las semillas. Se utilizó 2ml de solución para cada riego en las dos especies. En el caso del espino se realizaron 2 riegos, durante 9 días y en la acacia 5 riegos por 29 días, tiempo que duró el proceso de investigación.

Ambas especies se mantuvieron en la oscuridad durante el proceso de germinación.

3.8 Diseño experimental

Se planteó un diseño de cinco tratamientos y un blanco, con cinco repeticiones y diez réplicas cada uno. El periodo de observación fue cada 2 días durante un periodo de 9 y 29 días. Los tratamientos que se aplicaron fueron de 0 (control), 50, 200, 500, 800 ug/l y 1mg/l.

Las concentraciones 50, 200 y 500 ug/l se establecieron mediante los valores ya utilizados en la Tesis de Macro-invertebrados (Sánchez, 2018), mientras que las concentraciones de 800ug/l y 1mg/l se determinaron mediante bibliografía (Camino y Aparicio, 2010).

Las variables y niveles que se emplearon durante los ensayos de germinación de toxicidad, fueron aplicados de forma aleatoria a cada tratamiento y de acuerdo a las 2 especies de semillas que se seleccionaron.

Dentro de las variables independientes se contó con 1 factor: El glifosato y 5 niveles, que correspondieron al número de tratamientos que se realizaron, de acuerdo a las diferentes concentraciones que tuvo el contaminante, asimismo se obtuvo un testigo, lo que generó un total de 6 tratamientos, 5 repeticiones y 10 réplicas, lo que dio como resultado un total de 300 semillas por cada especie.

Como variables dependientes o de respuesta se consideraron 2:

El porcentaje de germinación (%) y el tamaño de la radícula (mm).

Parámetros Constantes:

- **Luz(Fotoperiodo):** 24 horas en oscuridad
- **Humedad:** Riego en una medida de 2ml de agua destilada en un periodo cada dos días
- **Sustrato inerte:** Papel absorbente
- **Temperatura:** De 15 a 20 grados centígrados (Temperatura ambiente)
-

Tabla 2

Variables independientes de espino y acacia

Tratamientos	Concentraciones de glifosato
T1	50 ug/l
T2	200 ug/l
T3	500 ug/l
T4	800 ug/l
T5	1 mg/l
T6	00

Nota: Concentraciones de glifosato en los cinco tratamientos, incluyendo el testigo

Tabla 3

Descripción de las variables y el diseño experimental utilizados en cada especie

Variables	Niveles	Soluciones	Repeticiones	Réplicas
Concentraciones de glifosato	T1	50 ug/l	5 Rep * Tratamiento	10 Répli * Rep
	T2	200 ug/l		
	T3	500 ug/l		
	T4	800 ug/l		
	T5	1 mg/l		
	T6	0		

Variables Dependientes:

Germinación de semillas: Se consideró que la semilla había germinado cuando se empezó a notar la presencia de un pequeño brote en cada una de ellas, por la formación de los embriones y crecimiento de la radícula (mayor de 3mm) (Rodríguez, Adam y Duran, 2015). Los valores que se obtuvieron de esta variable fueron presentados en %.

Longitud de la radícula: Se realizaron 2 mediciones por cada una de las especies, en la primera no se tomó en cuenta las radículas con un tamaño menor o igual a 0,1 cm, en la segunda se midieron todas sin excepción alguna. Los datos se presentaron en mm.

3.9 Tratamiento y análisis de resultados

Porcentaje relativo de germinación:

El GRS constituye el porcentaje de semillas que germinaron en los 5 tratamientos con respecto a aquellas que germinaron en el testigo.

Se empleó la expresión añadida a continuación para la obtención de los datos durante los bioensayos de toxicidad que se efectuaron por cada tratamiento.

(Ecuación 2)

$$GRS (\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas con la muestra de agua problema}}{\text{Número de semillas germinadas en agua dura(testigo)}} * 100$$

Crecimiento relativo de la radícula:

R

representa el porcentaje de crecimiento de la radícula de las semillas que fueron puestas en contacto con las diferentes concentraciones de glifosato, con respecto a las semillas del testigo. Se la puede determinar mediante la siguiente expresión:

(Ecuación 3)

$$CRR(cm) = \frac{\text{Longitud promedio de la radícula con la muestra de agua sintética}}{\text{Longitud promedio de la radícula en agua dura(testigo)}} * 100$$

Índice de germinación:

Hace referencia al producto de la germinación relativa de semillas en los diferentes niveles en relación por el crecimiento relativo de la radícula de cada unidad experimental.

(Ecuación 4)

$$IG (\%) = \frac{GRS * CRR}{100}$$

Donde:

GRS: porcentaje de la germinación relativa de semillas (%)

CRR: crecimiento relativo de la radícula (%)

Índices del porcentaje de germinación residual normalizado:

Se lo determina mediante los valores adquiridos de las semillas germinadas en cada uno de los tratamientos a los que fueron expuestos, menos el porcentaje de semillas germinadas en el Testigo. Los valores que se obtuvieron en este índice, indican la presencia de un gradiente de toxicidad en ambas especies.

(Ecuación 5)

$$IGN = \frac{Germ(x) - Germ(t)}{Germ(t)}$$

Donde:

Germ (x): Porcentaje promedio de semillas germinadas en cada tratamiento

Germ (t): Porcentaje de semillas germinadas en el testigo

Los valores establecidos para toxicidad según el índice de germinación normalizado se encuentran distribuidos de la siguiente manera: de 0 a -0,25 baja toxicidad, de -0,25 a -0,5 toxicidad moderada, de -0,5 a -0,75 muy toxico y de -0,75 a -1, toxicidad muy alta. Los Valores que sean > 0 indican crecimiento de la radícula u hormesis.

Índices del porcentaje de elongación radical residual normalizado

Se calculan con los datos obtenidos de la diferencia de longitudes radiculares en cada dilución, con respecto a los valores de longitud promedio de la radícula de la muestra testigo. Demuestran la presencia de niveles de toxicidad en los distintos tratamientos.

(Ecuación 6)

$$IER = \frac{Elong(x) - Elong(t)}{Elong(t)}$$

Donde:

Elong (x): Longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en cada tratamiento

Elong(t): Longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo.

Según el índice de elongación residual los valores establecidos para establecer los niveles de toxicidad se clasifican de la siguiente manera de 0 a -0,25 baja

toxicidad, de -0,25 a -0,5 toxicidad moderada, de -0,5 a -0,75 muy toxico y de -0,75 a -1, toxicidad muy alta; valores del índice > 0 indican crecimiento de la radícula u hormesis.

ANOVA:

Consiste en la realización de análisis de varianza clásica en estudios y diseños experimentales, de determinados valores obtenidos durante un proceso de experimentación (Otero, Sánchez y Moral, 2005).

Los resultados que se obtuvieron de las dos variables de respuesta: germinación de semillas y longitud de radícula de ambas especies (Espino y Acacia), se compararon con los valores del testigo, mediante análisis de varianza(ANOVA) en el programa INFOSTAT. Previo a los análisis se realizó un test de distribución normal de Swilking, y posterior al ANOVA se evaluó la prueba de Tukey, con datos normalizados en log base -10.

CORRELACIÓN DE PEARSON

El coeficiente de Pearson es una medida de magnitud existente entre la asociación lineal de dos variables, independientes de las variables originales. Sus valores varían entre -1 y 1, estableciendo correlaciones máximas, pero en sentidos opuestos (Balzarini et al., 2011). Las correlaciones se llevaron a cabo tomando en cuenta los valores de pH, conductividad, germinación y longitud radicular, previamente normalizados (log base -10).

PROGRAMA ESTADÍSTICO UTILIZADO

Se utilizó el programa INFOSTAT, un software estadístico que permite manejar cualquier tipo de dato de una manera más avanzada, mediante la importación y exportación de los mismos en formato Word o Excel (Infostat, 2008). Se normalizaron los datos obtenidos de cada especie para realizar un ANOVA paramétrico.

4 RESULTADOS

4.1 Parámetros químicos de soluciones de glifosato

Tabla 4
pH de las soluciones

Tratamientos	pH	Escala de pH
T1 (50ug/l)	5,08	Ligeramente Acido
T2 (200ug/l)	5,04	Ligeramente Acido
T3 (500ug/l)	5,13	Ligeramente Acido
T4 (800ug/l)	5,48	Ligeramente Acido
T5 (1mg/l)	4,50	Ligeramente Acido
T6 (00) (testigo)	7,40	Neutro

Nota: pH- Escala de pH y temperatura de cada tratamiento

Los valores de pH obtenidos por las diferentes concentraciones de glifosato, indicaron que las 5 muestras permanecieron en una escala ligeramente acida, a diferencia del T6(testigo) que se mostró en un estado neutro, siendo el T5 (1mg/l) el que menor valor registró (4,50) y el T6 (testigo) con el valor mayor de 7,40. El comportamiento del pH se lo pudo clasificar como variado, dado que en los primeros dos tratamientos (T1 y T2) disminuye, en el T3 y T4 aumenta, en el T5 disminuye y finalmente en el testigo vuelve a incrementar su valor.

Tabla 5
Conductividad de las soluciones

Tratamientos	Conductividad	Dureza
T1 (50ug/l)	3,0 uS	Muy blanda
T2 (200ug/l)	5,1 uS	Muy blanda
T3 (500ug/l)	7,0 uS	Muy blanda
T4 (800ug/l)	8,6 uS	Muy blanda
T5 (1mg/l)	10,4 uS	Muy blanda
T6 (00) (testigo)	2,4 uS	Muy blanda

Nota: Conductividad y dureza de los cinco tratamientos

El tratamiento 5 fue el que tuvo una conductividad alta de 10,4 uS, en comparación al T1 y T6 que obtuvieron 3,0 y 2,4 uS respectivamente. El comportamiento de este parámetro fue en sentido ascendente, es decir que, a mayor concentración de glifosato, mayor conductividad, con la única excepción del testigo, cuyo valor fue relativamente bajo.

4.2 Análisis de Respuestas biológicas

ESPINO

Tabla 6

Respuestas Biológicas determinadas en semillas de Berberis halli expuestas a diferentes concentraciones de glifosato

Respuesta	Espino									
	Media T1	T1	Media T2	T2	Media T3	T3	Media T4	T4	Media T5	T5
GRS (%)	84,12	133,3±62,5	98,88	128,6±70	94,52	133,3±50	97,67	133,3±75	77,88	100±28,6
CRR (%)	109,46	153,43±85,20	117,32	150,61±85,98	135,41	173,72±102,13	134,44	162,14±106,77	153,96	176,83±109,71
IG (%)	92,84	138,50±53,25	113,006	135,72±84,29	126,68	204,25±76,60	131,41	175,89±80,07	125,49	161,83±31,35
Longitud radícula (mm)	6,96	8,85±5,70	7,48	8,69±5,60	8,63	10,67±6,83	8,61	9,96±7,14	9,91	11,62±7,15
IGN	-0,16	0,33±-0,37	-0,01	0,28±-0,30	-0,05	0,33±-0,50	-0,02	0,33±-0,25	-0,22	0±-0,71
IER	0,094	0,534±-0,14	0,173	0,50±-0,14	0,35	0,73±0,021	0,341	0,62±0,068	0,53	0,76±0,09

Nota. GRS =Porcentaje de germinación relativa de semillas, CRR = Crecimiento relativo de radícula, IG = índice de germinación, IGN = Índices del porcentaje de germinación residual normalizado, IER = Índice de elongación radical residual normalizado, en donde los colores verdes indican los valores mayores y los de color amarillo los valores menores de cada índice.

En el espino, se obtuvo un mayor porcentaje de germinación relativa de semillas (GRS) en el tratamiento T2, que presentaba una concentración de 200 ug/l de glifosato, alcanzando un valor promedio de 98,88 %, a diferencia del Tratamiento T5, que presentó un valor de 77,88 %, al tener una concentración de 1 mg/l.

En el crecimiento relativo de radícula (CRR), los resultados fueron inversos al GRS, puesto que el T5 demostró un porcentaje promedio de longitud radicular de 153,96% a diferencia del T1 que solo generó un 109,46%.

Todos los tratamientos T2 (200 ug/l), T4 (800 ug/l), T3 (500 ug/l), T1 (50 ug/l) y T5 (1 mg/l) presentaron valores de IGN que fueron de -0,01; -0,02; -0,05; -0,16

y -0,22, esto significa que mostraron una baja toxicidad, dado que los valores se encontraron dentro del rango definido que va de 0 a -0,25.

Finalmente, en el índice de elongación radical (IER), se pudo observar que todos los tratamientos presentaron valores positivos, pero con una cierta diferencia, mostrando en el T1 (50 ug/l) 0,094 y en el T5 (1 mg/l) 0,53, lo que demostró un efecto positivo, ya que estimuló el crecimiento de la radícula en todos los tratamientos, pero notándose una diferencia significativa mayor en el tratamiento 5 que presentaba una concentración mayor.

Tabla 7

Análisis de Varianza (Porcentaje de germinación-Espino)

Germinación de semillas de Espino				
FV	SC	CM	F	<i>p</i>
Tratamientos	0,08	0,02	0,88	0,507

Nota: Porcentaje de germinación del espino

El análisis de varianza, indicó que F alcanzó un valor de 0,88 y una *p* de 0,50, lo que significa que no existe diferencia entre las medias, puesto que los seis tratamientos analizados tenían porcentaje de germinación similar.

Tabla 8

Análisis de Varianza (longitud promedio de radícula- Espino)

Longitud radicular del Espino				
FV	SC	CM	F	<i>p</i>
Tratamientos	0,12	0,02	4,70	0,0039

Nota: Longitud promedio de radícula del espino

En la tabla 8 se muestra los resultados que se consiguieron según análisis de varianza, en la cual mostró que existe diferencias significativas entre las

medias de los tratamientos, presentando un F de 4,70 y una *p* de 0,0039, por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa.

Tabla 9

Medias ajustadas y errores estándares de la longitud promedio de radícula en espino

Tratamientos	Medias	E.E	Agrupaciones
T6	0,81	0,03	A
T1	0,84		A
T2	0,87		A B
T3	0,93		A B
T4	0,93		A B
T5	0,99		B

En los resultados obtenidos en cada tratamiento, se mostraron medias significativamente iguales en T3, T4 y T5, siendo el T5 el que mayor media presentó con 0,99; de igual manera medias iguales en el T1, T2 y T6, ambos grupos presentaron diferencias significativas entre sí, a pesar de que su concentración fue la más alta (1mg/l), el nivel de toxicidad fue bajo, lo que generó un mayor crecimiento de la radícula a diferencia del T1 (0,84), con menor concentración de glifosato (50 ug/l), que se traduce en un menor crecimiento radicular.

ACACIA

Tabla 10

Respuestas Biológicas determinadas en semillas de Acacia melanoxylon expuestas a diferentes concentraciones de glifosato

Respuesta	Acacia									
	Media T1	T1	Media T2	T2	Media T3	T3	Media T4	T4	Media T5	T5
GRS (%)	95,62	160 ± 66,67	114,35	160 ± 80	88,70	120 ± 60	101,27	140 ± 60	89,11	140 ± 50
CRR (%)	99,20	141,80 ± 76,55	112,89	134,24 ± 90,41	75,01	139,77 ± 23,41	106,10	157,74 ± 50,25	105,15	159,21 ± 51,32
IG (%)	95,48	181,20 ± 65,61	130,89	214,78 ± 82,93	65,61	108,71 ± 20,06	103,70	167,55 ± 51,44	93,62	152,76 ± 25,66
Longitud radícula (mm)	19,7	24,2 ± 12,4	22,6	28,7 ± 18,6	14,7	22,5 ± 5,3	20,5	25,3 ± 10,7	20,1	25,6 ± 12,8
IGN	-0,04	0,60 ± -0,33	0,14	0,60 ± -0,20	-0,11	0,20 ± -0,40	0,01	0,40 ± -0,40	-0,11	0,40 ± -0,50
IER	-0,01	0,42 ± -0,23	0,13	0,34 ± -0,10	-0,25	0,40 ± -0,76	0,06	0,58 ± -0,50	0,05	0,59 ± -0,49

Nota. CRR = Crecimiento relativo de radícula, IG = índice de germinación, IGN = Índices del porcentaje de germinación residual normalizado, IER = Índice de elongación radical residual normalizado, en donde los colores verdes indican los valores mayores y los de color amarillo los valores menores de cada índice.

Los tratamientos T2 y T4 que corresponden a las concentraciones de 200 ug/l y 800 ug/l presentaron los valores promedio de GRS más altos (114,35 % y 101,27 %), mientras que los tratamientos T1, T3 y T5 mostraron los datos promedio más bajos de germinación relativa, lo que se evidenció por la reducción en el porcentaje de germinación relativa de las semillas.

Los valores que se obtuvieron de los tratamientos T2, T4 y T5 mostraron un crecimiento mayor de la radícula (CRR), puesto que alcanzaron valores de 112,89 %; 106,10 % y 105,15 % respectivamente, mientras que las semillas expuestas a las concentraciones correspondientes a los tratamientos T1 y T3 presentaron un crecimiento radicular inferior (99,20 % y 75,01 %) en comparación a los primeros tratamientos, ya mencionados anteriormente.

El T2 (200 ug/l) y T4 (800 ug/l) generaron índices de germinación normalizado (IGN) de 0,14 y 0,01; lo que significa que existió una estimulación en el crecimiento de la radícula (hormesis), a diferencia de los T1, T3 y T5, cuyos valores resultantes se encontraron con signo negativo (-0,04 ; -0,11 y -0,11), lo que indica que tuvieron un nivel de toxicidad bajo.

Los tratamientos T2, T4 y T5 presentaron valores de IER de 0,13; 0,06 y 0,05, lo que indica, la existencia de una respuesta estimulante del crecimiento de la radícula por presentar un gradiente de toxicidad bajo, a diferencia del T1 que presentó el valor de -0,01y el T3 con un -0,25, lo que demostró niveles bajo del toxico.

Tabla 11
Análisis de varianza (Porcentaje de germinación- acacia)

Germinación de acacia				
FV	SC	CM	F	<i>p</i>
Tratamientos	0,05	0,01	2	0,114

Nota: Porcentaje de germinación de la acacia

En el porcentaje de germinación de la acacia, F alcanzó un valor de 2 y una *p* de 0,11, lo que confirmó la inexistencia de alguna diferencia entre las medias, a pesar de que el valor del testigo fue relativamente menor en comparación a los cinco tratamientos.

Tabla 12
Análisis de varianza (Promedio radícula- acacia)

Longitud radicular de acacia				
FV	SC	CM	F	<i>p</i>
Tratamientos	0,18	0,04	1,52	0,221

Nota: Longitud promedio radicular de la acacia

No se observó la presencia de algún tipo de diferencia entre las medias, registrando un valor de 1,52 para F y 0,22 para la probabilidad. Debido a que las longitudes promedio de las radículas eran similares.

Correlación entre parámetros físico-químicos y respuestas biológicas

Tabla 13

Correlación simple de Pearson - Espino

	Germinación	Radícula	pH	Conductividad
Germinación	1,00	0,76	0,13	0,40
Radícula	0,06	1,00	0,01	2,8E-05
pH	0,28	-0,50	1,00	2,6E-05
Conductividad	-0,16	0,69	-0,69	1,00

De acuerdo a la tabla 13, se indica que existió una correlación positiva entre la germinación y la longitud de la radícula (0,76), a diferencia de los datos marcados en rojo, que presentaron valores negativos en sus variables (reducción): es decir que a mayor conductividad la germinación se reduce en un -0,16. A un incremento de pH la longitud de la radícula disminuye en un -0,50 y finalmente a un incremento de conductividad el pH se ve reducido con -0,69.

Tabla 14

Correlación simple de Pearson - Acacia

	Germinación	Radícula	pH	Conductividad
Germinación	1,00	0,21	0,22	0,21
Radícula	0,24	1,00	0,78	0,58
pH	0,23	0,05	1,00	2,6E-05
Conductividad	-0,24	-0,11	-0,69	1,00

De acuerdo a los datos obtenidos se demuestra una correlación positiva entre la longitud de la radícula y el pH (0,78). Las correlaciones negativas se presentaron en la conductividad, es decir a mayor conductividad las variables de germinación, radícula y pH disminuyeron.

5 DISCUSIÓN

La presencia de malezas resistentes a los herbicidas ha ido incrementando con el pasar de los años, tanto ha sido así que en el 2006 se estimó la presencia de 183 especies resistentes, de los cuales 73 correspondían a especies monocotiledóneas y 110 a dicotiledóneas, provocando daños a más de 270.000 campos a nivel mundial (Palou, Ranzenberger y Larios, 2007).

Uno de los principales herbicidas utilizados en Ecuador, específicamente en la Sierra, es el glifosato, dado que es considerado como una sustancia de amplio espectro, de acción enzimática y sobre todo por su alta eficiencia en la erradicación de las malezas (Pengue, Walter, Monterosso, Iliana y Binimelis, 2009), a pesar de ello presenta problemas en la contaminación de los recursos suelo, aire, agua y genera efectos negativos en las plantas, animales y el ser humano, al ser altamente toxico.

Al presentarse estos problemas se ha visto afectado de una u otra manera la vegetación genéticamente modificada que son sensibles al uso de este plaguicida (Palou, Ranzenberger y Larios, 2007).

La implementación de ensayos de laboratorio demostró la inferencia del glifosato sobre el proceso de germinación de semillas nativas de la ciudad de Quito (espino y acacia). Presentando una respuesta positiva en los porcentajes de germinación relativa de semillas (GRS), crecimiento relativo de radícula (CRR) e índice de germinación (IG).

El índice de germinación residual normalizado (IGN) demuestra una baja toxicidad en todos los tratamientos, en el caso del espino, lo que indica no perjudicó el proceso de IGN. A diferencia de la acacia que en los tratamientos T2 y T4 (200 ug/l y 800 ug/l) mostraron un crecimiento radicular, evidenciando una mejora en el proceso, mientras que en los tratamientos restantes T1, T3 y T5 no se demostró alteración alguna por presentar niveles de toxicidad bajo.

La elongación radical residual normalizado (IER) muestra un crecimiento radicular (hormesis) en todos los tratamientos del espino y en el T2, T4 y T5 (200 ug/l, 800 ug/l y 1mg/l) de la acacia, por lo que se demostró una mejora en el índice y un nivel bajo de toxicidad en las concentraciones de 50 ug/l y 500 ug/l correspondientes a los tratamientos T1 y T3, lo que indica que no perjudicó al IER en el caso de la acacia.

Las semillas estudiadas se encontraron en un estado de latencia, por lo que fue indispensable aplicar tratamientos para su ruptura (Flores, Poggi, García, Catraro y Gariglio, 2017) y de esta manera incrementar el porcentaje de germinación.

En el caso de la acacia se obtuvo que la germinación del testigo fue del 38%. Superada por el T2 (200 ug/l) con un 41% y en todas las otras concentraciones la germinación se vio reducida, lo que concuerda con lo propuesto por Gonzalez, Nicao, Muiño, Perez y Sanchez (2015), que señalan que hay especies que mejoran su porcentaje de germinación a ciertas concentraciones de pesticida, por ejemplo, el glifosato.

En cuanto al espino respecta, este no demostró similitud con lo ocurrido en la acacia, dado que todos sus tratamientos presentaron una inhibición en la germinación, por tener valores menores al del testigo, lo que concuerda con lo que manifiesta CONICET (2009), en donde indica que el herbicida glifosato intercepta con la biosíntesis de la fenilalina y del ácido corismico, conllevando a la alteración de la enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa, evitando las reacciones con el ácido indolacetico e incrementando la inhibición de germinación en las semillas.

Los porcentajes de germinación de acuerdo a los resultados obtenidos al comparar ambas especies, se pudo determinar que el espino presentó una reducción en sus porcentajes en comparación de la acacia, dado que según señala Méndez (2011) las semillas del espino al ser más pequeñas y blandas

en su testa, almacenan mayor humedad en un periodo de tiempo corto, con menos tiempo de envejecimiento, lo que conlleva a un deterioro severo en la reducción de los porcentajes de germinación, después de haber aplicado algún tipo de tratamiento.

El parámetro químico de pH en el espino presentó una correlación negativa, lo que significó que a mayores valores de pH, se mostraba una reducción en los porcentajes de germinación de la especie, este comportamiento es igual al establecido por Moltedo (2016), en donde indica que la enzima que actúa sobre el herbicida es la encargada de formar aminoácidos fenilalina, triptófano y tirosina, que pueden modificar las estructuras de las proteínas, actividades enzimáticas y por ende generar cambios significativos en la variable, ocasionando los porcentajes de reducción de los individuos. En la acacia se presentó el mismo comportamiento del espino.

Garsaball, Natera y Figueroa (2008) manifiestan que el incremento de los niveles de salinidad causa endurecimiento de la pared celular y por ende un aumento en la conductividad hídrica de la membrana plasmática, incrementando el influjo de iones externos y afectando de manera negativa el proceso de germinación. En las especies estudiadas actuó de la misma manera en el espino, a diferencia de la acacia que no demostró correlaciones negativas tan bajas, es por ello que esta especie presenta un porcentaje de germinación relativamente mayor al del espino.

En la acacia la longitud promedio radicular del testigo fue de 20,23mm, mientras que de los tratamientos T2(200 ug/l) y T4(800 ug/l) mostraron 22,61mm y 20,52mm correspondientemente, a pesar de ello no se evidenció una variación significativa en ninguno de los cinco tratamientos analizados en comparación al blanco, lo que coincide con Duque y Romero (2015) que indican que, a concentraciones menores a 0,50 ppm del glifosato, este no genera efectos significativos en el desarrollo o rendimiento de semillas o plantas. En lo tanto que el espino, en todos sus tratamientos presento valores

mayores al del testigo, presentando un comportamiento ascendente, es decir a mayores concentraciones de glifosato la longitud aumenta su tamaño, lo que resulta por la condición de estrés moderada que presenta el espino, al ser una semilla más sensible en comparación a la acacia, generando de esta manera como respuesta, un incremento en la longitud de las raíces de las semillas o plantas expuestas al glifosato, según lo ostenta Blanco, Sandoval y Torres (2016).

De los datos obtenidos en la acacia se generó una correlación positiva de 0,78 entre la radícula y el pH, lo que indicó que los niveles se encontraron en un rango ligeramente ácido, que en este caso estimuló el crecimiento de la radícula a concentraciones de 200 ug/l y 800 ug/l correspondientes a los tratamientos T2 y T4, indicando diferencias significativas entre los tratamientos restantes ya que resultaron menor al testigo, lo que va acorde a lo mencionado por García (2009) en donde indica que esta relación se da debido a que los embriones expulsan iones, durante el proceso de inhibición, liberando K^+ (ion de las semillas), provocando pérdida de la rigidez de las paredes celulares y por ende generando crecimiento radicular por la presencia de acidificación (composición del glifosato) en las paredes celulares.

En el espino ocurrió de manera diferente, dado que la correlación fue negativa con -0,50, señalando que a mayor pH el crecimiento de la radícula disminuye lo que resulta similar a lo establecido por López (2014) ya que el glifosato al ponerse en contacto con el agua de grifo genera cationes (k^+) y aniones (-), que demuestran la facilidad de formar enlaces con los cationes de los carbonatos presentes en el agua, provocando de esta manera una reducción en la eficacia del herbicida y por ende generando cierta disminución en el crecimiento radicular.

La variable de la longitud de la raíz en el espino presentó un valor mayor en el T5(1 mg/l) con 9,91mm mientras que en los tratamientos con concentraciones de 50 ug/l y 200 ug/l se vio un crecimiento menor de 6,96 mm y 7,48 mm, a

pesar de que todos los tratamientos se encontraron con valores menores al testigo, esto sucedió dado que las semillas presentaron condiciones de estrés frente a las diferentes concentraciones de glifosato a las que se encontraron sometidas, lo que resulta igual a lo establecido por Blanco, Sandoval y Torres (2016), ya que indica que semillas sensibles como el frijol, en las que se realizaron estudios mostraron niveles de estrés moderados al estar en contacto con sales de Na Cl, provocando que se presente desde la raíz una síntesis de ácido abscísico y generando cambios fisiológicos como reducción de la conductividad hidráulica y estimulando al aumento en la longitud del sistema radical del frijol.

Se puede decir entonces, que las concentraciones utilizadas de glifosato (50 ug/l; 200 ug/l; 500 ug/l; 800 ug/l y 1mg/l) inhibieron la germinación del espinoso, dado que todos los valores se encontraron por debajo del testigo.

Los niveles de toxicidad de IGN(Índice de germinación normalizado) en el espinoso fueron bajos, a diferencia de la longitud radical, ya que en el IER(Índice de elongación radical) todos los tratamientos reflejaron una estimulación en el crecimiento radicular, esta clasificación concuerda según lo establecido por Romero et al., (2014) en donde indica que los rangos para determinación de toxicidad según análisis realizados en semillas de lechuga se los clasifica: 0 a -0,25 baja toxicidad, -0,5 a -0,75 muy toxico, -0,75 a -1 toxicidad muy alta y mayores a 0 hormesis (crecimiento radicular).

En la acacia se presentó inhiación de la germinación en los tratamientos T1, T3, T4 y T5, mientras que en el T2 (0,82%) fue superior en relación al testigo (0,76%), lo que indica que a concentraciones bajas se incrementó la germinación.

El IGN en la acacia mostró variaciones en cuanto a su nivel toxico, demostrando que en los tratamientos T1, T3 y T5 los niveles de toxicidad fueron relativamente bajos, mientras que el T2 y T4 demostraron un proceso de hormesis.

En la longitud radicular de la acacia los tratamientos T1, T3 y T5 fueron menores al testigo, a diferencia de los tratamientos restantes que sufrieron un incremento notorio de la variable, resultado de que el IER presente niveles de toxicidad bajos en los tratamientos T1 y T3 y un incremento en la longitud radicular de los tratamientos T2, T4 y T5, según los criterios establecidos por Romero et al., (2014).

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Las semillas de *Berberis halli* (espino) y *Acacia melanoxylon* (acacia) presentan bajos efectos toxicológicos en relación al glifosato.

La germinación de espino se ve inhibida en todas las concentraciones, por presentar un efecto de toxicidad bajo, a diferencia de la longitud radicular que muestra valores mayores al testigo en todos los tratamientos, induciendo a una estimulación en el crecimiento radicular.

En la acacia la germinación se ve inhibida en los tratamientos T1 (50 ug/l), T3 (500 ug/l), T4 (800 ug/l) y T5 (1mg/l) por mostrar una baja toxicidad, mientras que el T2 (200 ug/l) supera los datos del testigo, generando una estimulación del crecimiento de la longitud radicular.

En el espino se muestran correlaciones positivas entre la germinación y el crecimiento de la radícula (0,76), y correlaciones negativas en la conductividad, dado que, al incrementar esta variable, se produce un menor porcentaje de germinación (-0,16) y a valores bajos de pH se presenta una reducción (-0,50) en el crecimiento radicular.

La acacia demuestra correlaciones positivas (0,78) entre la radícula y el pH, y relaciones negativas ya que, a mayor conductividad, la germinación y radícula se ven reducidas en un (-0,24) y (-0,11) respectivamente.

6.2 Recomendaciones

Para el desarrollo de experimentaciones futuras basadas en determinación de efectos toxicológicos en semillas, se recomienda realizar nuevamente ensayos de germinación, para garantizar que los resultados obtenidos sean una

respuesta a los tratamientos de toxicidad y no a la eficiencia germinativa de la semilla.

Realizar un número mayor de ensayos en la especie de acacia para determinar la relación entre concentración y el crecimiento radicular.

Al momento de realizar la siembra, es importante se tenga en cuenta las condiciones en las que se las lleva a cabo, para de esta manera evitar se presente contaminación de los materiales (cajas Petri) y por ende prevenir la alteración de resultados durante el tiempo de experimentación.

Se recomienda utilizar concentraciones de glifosato mayores a 1 mg/l para obtener mejores resultados en cuanto a la determinación de toxicidad en las variables de germinación y longitud radicular de ambas especies, por ejemplo, mediante la prueba con plántulas para de esta manera ver cuál es la respuesta con estas.

En el caso de ambas especies, evitar regarlas muy seguido, debido a que puede causar daños y no permitir se presente el proceso de germinación de una manera adecuada.

Es importante se tome en cuenta las condiciones ambientales (luz, temperatura, humedad) que se brindará a las especies, durante el tiempo de experimentación, puesto que pueden alterar los resultados a obtener.

Debido a que el glifosato es un herbicida tóxico, así sea utilizado en pequeñas concentraciones, al momento de realizar los riegos y mediciones correspondientes a la longitud radicular de los individuos, se recomienda utilizar los respectivos EPP (guantes, mascarillas y mandil).

Al trabajar con diferentes soluciones de glifosato, es trascendental, el uso de materiales variados (vasos de precipitación, pinzas y goteros por solución), para evitar algún tipo de contaminación cruzada.

REFERENCIAS

- Actual, R. P. (2009). Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las Asociaciones Administradoras del Acueducto, (ASADAS), de cada distrito de Grecia, cantón de Alajuela, noviembre del 2008. **9**, 125–134.
- Aguilar, Z., P. Hidalgo y C. Ulloa. (2009). Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador. Proyecto de Manejo y Aprovechamiento Sustentable de Alpacas en los Páramos de Zuleta. PPA-EcoCiencia. Quito.
- Alcivar, M. (2016). Estudio de la fitotoxicidad del herbicida glifosato sobre la cespitosa *Lolium perenne*.
- Arana, S. V. & V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Unidad de Genética Ecológica Y Mejoramiento Forestal, INTA EEA Bariloche Arana@agro.uba.ar*, (1), 1–10.
- Arana, S. V. & V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Unidad Genética Ecológica y Mejor. INTA EEA Bariloche Recuperado el 15 de julio de 2018 de arana@agro.uba.ar* 1–10.
- Aut, C. & Julio, B. A. (2009). COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE CONSEJO CIENTÍFICO INTERDISCIPLINARIO Creado en el ámbito del CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET) EVALUACIÓN DE LA INFORMACIÓN CIENTÍFICA Resumen Ejecutivo.
- Balzarini, M. Di, Rienzo, Tablada, M., Gonzalez, L., Bruno, Córdoba, M. Robledo, W y Casanoves, F. (2011). Estadística y Biometría. Ilustraciones del Uso de InfoStat en problemas de Agronomía.
- Baquero, F., Sierra, R., Ordóñez, L., Tipán, M., Espinosa, L., Rivera, M., Soria, P. (2004). La Vegetación de los Andes del Ecuador.
- Baskín, J., Baskín, C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. (14): 1-16

- Benner, P., Mena, H., & Schneider, R. (2016). Modeling Glyphosate aerial spray drift at the Ecuador-Colombia border. *Applied Mathematical Modelling*, 40(1), 373–387. <https://doi.org/10.1016/j.apm.2015.04.057>
- Bermúdez, X., Abilleira, F. (2015). *Conservación y restauración del bosque de ribera*. Impacto de especies invasoras.
- Camino, M. & Aparicio, V. C. (2010). Aspectos Ambientales del Uso de Glifosato. *Ediciones INTA* 114.
- Carbio, H. M. (2009). Boletín técnico. La Semilla *Arcelor Mittal*, N 7, 1–6.
- Chacón, T. N. (2012). “Evaluación preliminar del estado de conservación del Parque Metropolitano y del Parque Itchimbia ” “ Evaluación preliminar del estado de conservación del Parque Metropolitano.
- Cagua Romero, P. & Duque Nivia, G. (2015). Evaluación de la toxicidad del Roundup en la germinación de semillas de maíz (*Zea mays*). *Ingenium Cienc. y Tecnol.* **9 (23)**, 11–16.
- Córdovez. (2008). Demanda de Introducción de Procedimiento. República del Ecuador. Ministerio de Relaciones Exteriores, 1-15.
- Cuadra, C. (2011). Germinación, latencia y dormición de las semillas. *Intern. Med.* **50**, 1089–1092
- Curiae, A. (2001). Impactos en Ecuador de las fumigaciones a cultivos ilícitos en Colombia, 1–77.
- Del, D. I. *et al.* (2014). Rep14/pr programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comisión del codex alimentarius 37. 5–10.
- Distrito, M., Quito, M. D. E. & Yáñez-muñoz, M. (2016). EN EL ÁREA DEL PARQUE METROPOLITANO (DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO).. [doi:10.13140/RG.2.1.4573.0323](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4573.0323)
- Fallis, A. (2013). Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato (PECIG) y de los cultivos ilícitos en la salud humana y en el medio ambiente. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Fave, R. & Agrarias, C. (2017). Ruptura de la dormición y exigencias de luz para la germinación de semillas de. **16**.

- Fernández, I. & Serrano, M. (2012). Talleres de botánica las gimnospermas. *Real Jard. Bot.* **1**, 8.
- Fierro, F. (2005). 3. Monocotiledóneas 3.1., (2000), 1–4.
- Florencia, F. M., Carolina, T., Enzo, B., & Leonardo, G. (2017). Effects of the herbicide glyphosate on non-target plant native species from Chaco forest (Argentina). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *144*, 360–368. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.049>
- Garsaball, L., Natera, J., Figueroa, M. (2008). Efecto de la salinidad y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. Recuperado el 20 de junio de 2018 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43211943002>.
- González, A. N. A. M. (2006). Ontogenia del óvulo y semilla de. **15**, 63–77.
- González, F.G. (1999). BOTÁNICA MONOCOTILEDONEAS y DICOTILEDONEAS: UN SISTEMA DE CLASIFICACIÓN QUE ACABA. *Botánica* **23**, 10.
- González, M. (2002). Las Riberas, Elementos Clave Del Paisaje Y En La Gestión Del Agua. 13.
- Hilmig, V., & Méndez, J. (2007). Relación de la calidad fisiológica de semillas de maíz con pH y conductividad eléctrica. Relation of physiological quality of corn seeds with pH and electrical conductivity. 91–101.
- Hoffmann. (1983) El Árbol Urbano en Chile. Chile.
- Hurrell, J. A., Delucchi, G., Bazzano, D. H., & Delucchi, G. (2007). *Dicotiledóneas Nativas y exóticas Literature of Latin America*.
- Hvězdová, M., Kosubová, P., Košíková, M., Scherr, K. E., Šimek, Z., Brodský, L., Hofman, J. (2018). Currently and recently used pesticides in Central European arable soils. *Science of the Total Environment*, *613–614*, 361–370. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.049>
- Instituto Forestal, I. (1998). *Caracterización de Acacia Melanoxylon R. Br. Infor. Jardín Botánico de Quito*. (2018). Plantas Nativas de la Hoya de Quito.
- Joseph, A. *et al.* (2014). Índices de germinación y elongación radical de. **30**, 307–316.

- Kovach, J., Petzoldt, C., Degni, J. and Tette J. (1992). A method to measure the environmental impact of pesticides. New York's Food and Life Sciences Bulletin. NYS Agricul. Exp. Sta. Cornell University, Geneva, NY, 139. 8 pp
- Lallana, M. C. (2013). Determinación de reducción del crecimiento radical (CE50) por una formulación de glifosato utilizando lechuga y trigo como especies bioindicadoras Determination of root length reduction (EC50) by a glyphosate formulation using lettuce and wheat as biological indicator species. **45**, 143–151.
- Lallana, V. h, Elizalde, J. H., Garcia, L. F., & Plan de Estudios. (2005). Germinación y Latencia de semillas y yemas, 1–22.
- Ledesma, G. (2010). Evaluación de tres tratamientos pregerminativos con cuatro tipos de sustratos para la propagación de pumamaqui, 108.
- León-yáñez, S. *et al.* (2005). Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador.
- López, A. (2014). Composición florística y estructura de un bosque montano alto en Patichubamba, provincia de Pichincha, Ecuador.
- López, E. (2014). Efectos Sinérgicos del Sulfato de Amonio y el Glifosato N-(Fosfometil) Glicina sobre el control de malezas en el cultivo de banano; Ayutla, San Marcos (1997-2012). Estudio de Caso.
- MAE. (2012). Bosques Secos. *Bosques Secos En Ecuador Y Su Diversidad*, 162–187. Recuperado el 25 de junio de 2018 de <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/Bosques-Secos4.pdf>
- Maldonado. (2003). Daños genéticos en la frontera de ecuador por las fumigaciones del plan colombia, 1–18.
- March, G. J. (2014). *Agricultura y Plaguicidas: un análisis global*. Recuperado el 4 de junio de 2018 de http://fundacionfada.weebly.com/uploads/9/8/5/0/9850131/agricultura_y_plaguicidas._e-book._28.04.14.pdf
- Matilla, A. J. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, (August), 537–558.

- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (2015). Organos vegetales. *Atlas de Histología Vegetal Y Animal*, 5. Recuperado el 05 de julio de 2018 de <http://webs.uvigo.es/mmegias/inicio.html>
- Merola, R. & Díaz, S. (2012). Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras. 41.
- Molledo, E., César, J., Olivera, S. & Fernando, G. (2016). Evaluación in vitro del efecto tóxico de una formulación comercial de glifosato de amonio sobre cinco especies representantes de diferentes hábitats y niveles tróficos In vitro assessment of toxic effects of a commercial formulation ammonium salt of glyphosate over five species representing different trophic levels and habitats. **12**, 48–54.
- Montejo, L., Gamboa, A., & Albert-puentes, D. (2015). Germinación y dormancia de arbustos y trepadoras del bosque siempreverde de la Sierra del Rosario , Cuba Germination and dormancy of shrubs and climbing plants of, *38*(1), 11–28.
- Moral, E. M. (2005). Análisis de la varianza (anova).
- Morales-Santos, M. E., Peña-Valdivia, C. B., García-Esteva, A., Aguilar-Benítez, G., & Kohashi-Shibata, J. (2017). Características Físicas Y De Germinación En Semillas Y Plántulas De Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) Silvestre, Domesticado Y Su Progenie. *Agrociencia*, *51*(1), 43–62.
- Muñoz, E. H. *et al.* (2015). BIOENSAYO DE GERMINACIÓN DE LECHUGA Organic Fertilizer Toxicity Estimated by a Lettuce Germination Bioassay. 179–185.
- Naranjo, A., Bravo, E., & Naranjo, A. (2016). América Latina fumigada y crisis de las commodities . El caso del glifosato de Monsanto, *11*, 229–250.
- Oleas, Nora & Rios-Touma, Blanca & Peña Altamirano, Paola & Bustamante, Martín. (2016). Plantas de las Quebradas de Quito. Guía Práctica de Identificación de Plantas de Ribera.
- Paz-y-Miño, C., Muñoz, M.J., Maldonado, A., Valladares, C., Cumbal, N., Herrera, C., Robles, P., Sánchez, M.E., López-Cortés, A. (2011). Baseline determination in social, health, and genetic areas in

- communities affected by glyphosate aerial spraying on the northeastern Ecuadorian border *Reviews on Environmental Health*, 26 (1), pp. 45-51.
- Pengue, W., Monterroso, I. & Binimelis, R. (2009). El caso del Sorgo de Alepo (SARG) en la agricultura argentina. *Bioinvasiones y Bioeconomía* 1.
- Pérez García, F. & Pita Villamil, J. M. (1999). Dormición de semillas. *Hojas Divulg. Minist. Agric. Aliment. y Medio Ambient. Gob. España*. 2103 HD, 1–19.
- Pérez, R. H. & Sánchez, D. G. (2015). Efecto in vitro de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A- 34 In vitro effect of comercial pesticides on *Trichoderma harzianum* strain A- 34- 34. 47.
- Quintana Blanco, W. A., Pinzón Sandoval, E. H. & Torres, D. F. (2016). EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CV ICA CERINZA, BAJO ESTRÉS SALINO. *U.D.C.A Actual. Divulg. Científica* 19, 87–95.
- Rangel Fajardo, M. A., Córdova Téllez, L., López Andrade, A. P., Alvarado, A. D., Zavaleta Mancera, H. A., & Villegas Monter, Á. V. (2011). Tolerancia a la desecación en semillas de tres orígenes genéticos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(3), 175–182.
- Riley Pete, Cotter Janet, Contiero Marco, W. M. (2011). Tolerancia a Herbicidas y Cultivos Transgénicos. *Greenpeace* 1–58.
- Romero, A., Salazar, C., Picos, R., Lopez, E., Diaz, J., Dorantes, A. (2014). Índice de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del rio Chalma.
- Salazar, N. J., & Aldana, M. L. (2011). Herbicida Glifosato : Usos , Toxicidad Y Regulación. *Revista de Ciencias Biológicas T de La Salud de La Universidad de Sonora, Volumen XI*, 23–28. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212002000300005>
- Sánchez, C. (2018). “Determinación de cambios fisiológicos del genero *Nectopsyche* (Leptoceridae: Trichoptera) en presencia de aguas con diferentes concentraciones de glifosato.
- Sánchez, J. M., & Ettiene, G. (2005). Determinación de glifosato en muestras de agua en la Cuenca del Río Catatumbo. *Ciencia*, 13(June), 211–217.

- Saritama, M. R. (2016). Caracterización morfofisiológica de semillas de especies leñosas distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur del Ecuador.
- Sc, M., Agr, I., & Civeira, G. (2012). Recopilación sobre los efectos del Glifosato en agroecosistemas.
- Schmid, P. (2013). Universidad internacional del ecuador, 147.
- Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H. G. J., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2017). Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.093>
- Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H. G. J., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2018). Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of the Total Environment*, 621, 1352–1359. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.093>
- Silva, S., Rodríguez-Quilon, I., & Adam, G. (2013). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas.
- Sobrero, M. C. & Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. *Imta* 55–67. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Taberner, A. P., Ranzenberger, A. C. & Zaragoza, C. L. (2007). Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas. *Organ. las Nac. Unidas para la Agric. y la Aliment.* 34–59.
- Teresa, M., & Prieto, M. (1997). No Title, 1–5.
- Urbano, A. (2007). Especies más representativas.
- Usuario, M. (2008). InfoStat.
- Velásquez, J., Monteros, A., & Tapia, C. (2008). Semillas, Tecnología de Producción y Conservación.
- Villalba. (2009). Resistencia a herbicidas . Glifosato * Resistance to Herbicides . Glyphosate *, 2009, 169–186.

Viveros, H. & Hernandez, J. (2007). Dormancia en yemas de especies forestales. *Bosque* **3**, 1–14.

ANEXOS

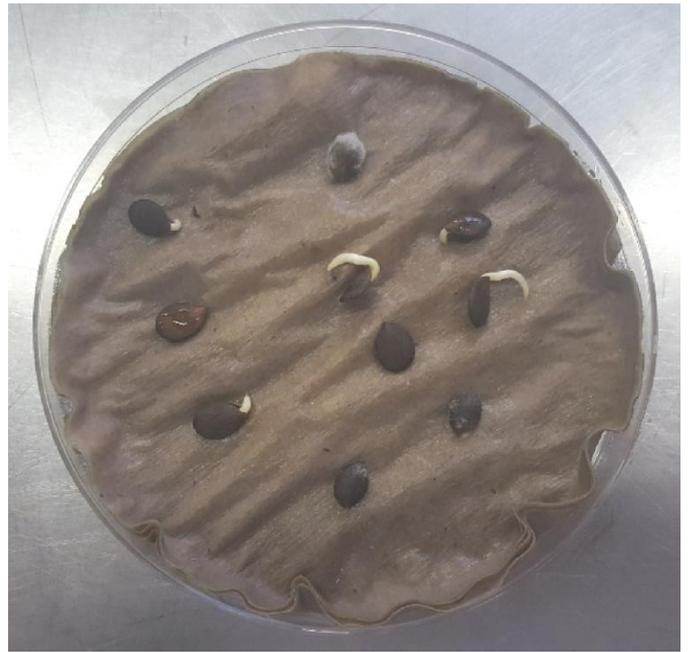
Anexo 1. Tabla resumen de las concentraciones de glifosato y los parámetros constantes utilizados

Tratamientos	Repeticiones	Concentraciones de glifosato	Oscuridad	Humedad	Sustrato	Temperatura
T1	R1	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	50 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
T2	R1	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	200 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
T3	R1	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	500 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
T4	R1	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	800 ug/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
T5	R1	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	1 mg/l	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
T6	R1	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R2	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R3	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R4	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R5	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente
	R6	Testigo	24 h	riego 2ml	Papel absorbente	Ambiente

Anexo 2. Primera medición de espino



Explicación: A) Testigo, superior izquierda B) Tratamiento 1 (50 ug/l), superior derecha C) Tratamiento 2 (200 ug/l), inferior izquierda D) Tratamiento 3 (500 ug/l), inferior derecha

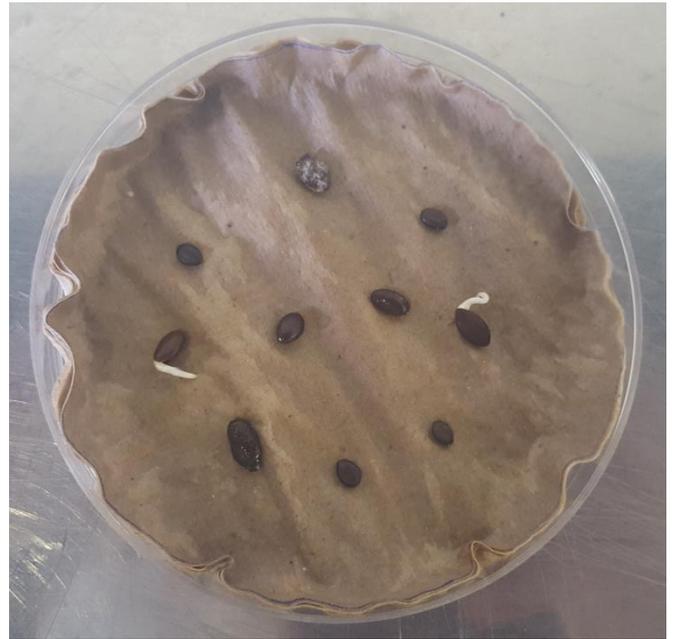


Explicación: E) Tratamiento 4 (800 ug/l), superior izquierda F) Tratamiento 5 (1 mg/l), superior derecha

Anexo 3. Primera medición de Acacia



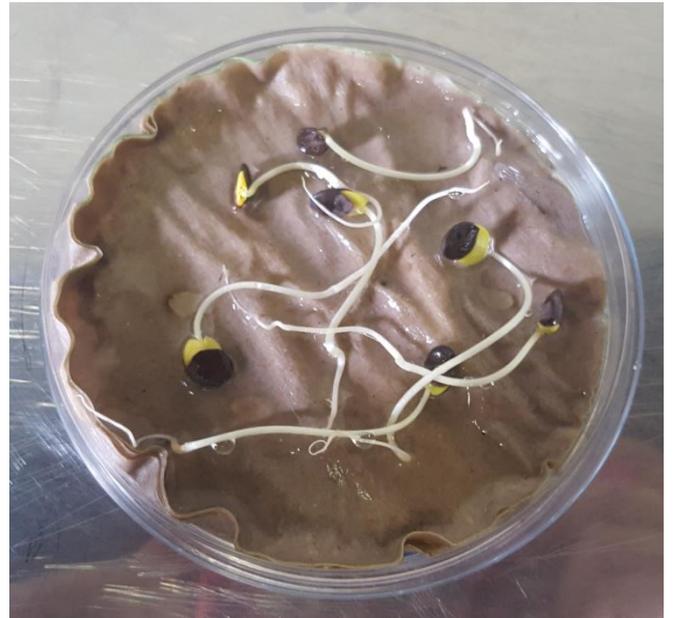
Explicación: A) Testigo, inferior izquierda, B) Tratamiento 1 (50 ug/l), inferior derecha



Explicacion: C) Tratamiento 2 (200 ug/l), superior izquierda D) Tratamiento 3 (500 ug/l), superior derecha E) Tratamiento 4 (800 ug/l), inferior izquierda F) Tratamiento 5 (1mg/l), inferior derecha

Anexo 4. Medición final de Espino



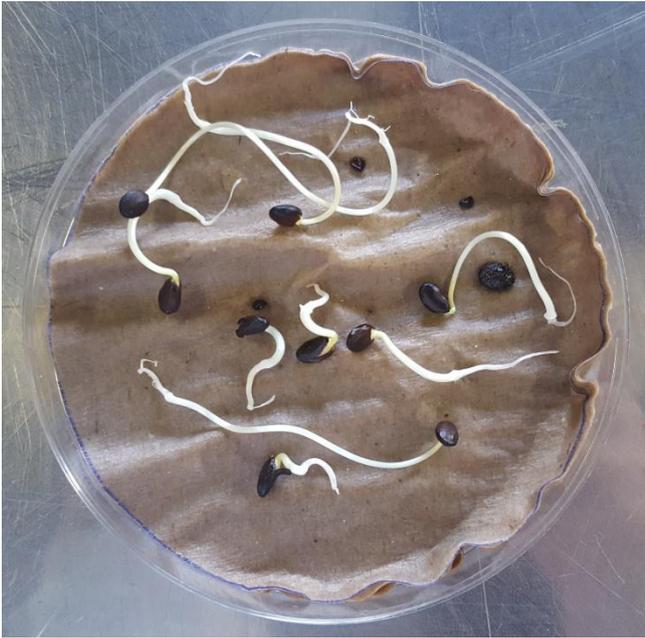


Explicacion: A) Testigo, superior izquierda B) Tratamiento 1 (50 ug/l), superior derecha C) Tratamiento 2 (200 ug/l), inferior izquierda D) Tratamiento 3 (500 ug/l), inferior derecha



Explicación: E) Tratamiento 4 (800 ug/l), superior izquierda F) Tratamiento 5 (1mg/l) superior derecha

Anexo 5. Medicion final de Acacia



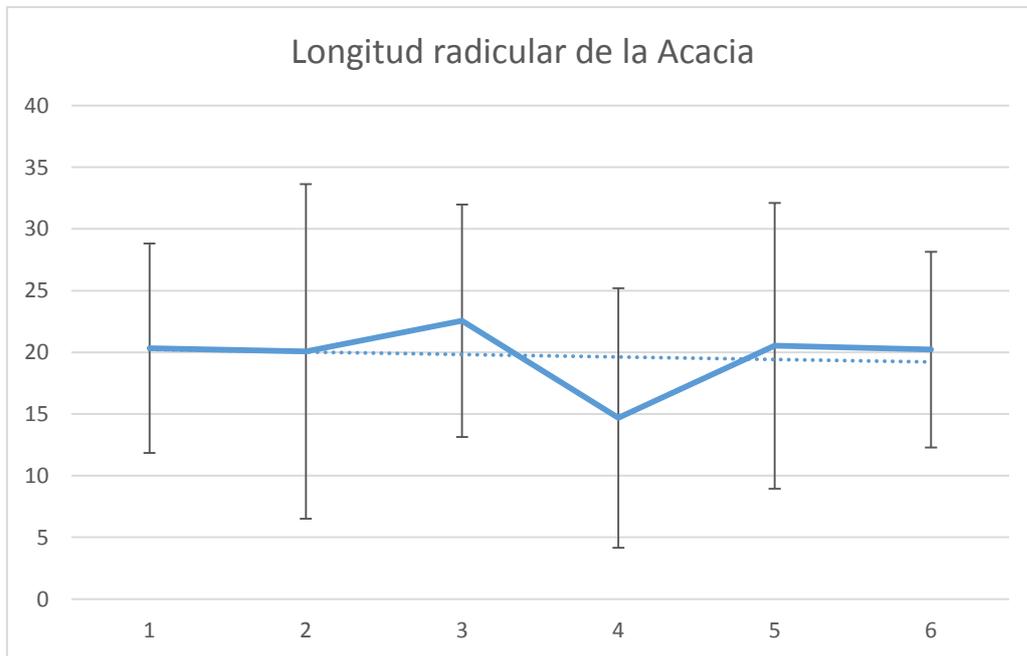
Explicación; A) Testigo, inferior izquierda B) Tratamiento 1 (50 ug/l), inferior derecha





Explicacion: C) Tratamiento 2 (200 ug/l), superior izquierda D) Tratamiento 3 (500 ug/l), superior derecha E) Tratamiento 4 (800 ug/l), inferior izquierda F) Tratamiento 5 (1 mg/l), inferior derecha

Anexo 6. Desviación y valores promedios de la longitud radicular de la Acacia



Explicación: Valores promedios y de desviación estándar del testigo, tratamiento 1, tratamiento 2, tratamiento 3, tratamiento 4 y tratamiento 5 (identificados de izquierda a derecha).

