

# Morphology, imbibition and germination of *Caesalpinia glabrata* Kunth (Fabaceae) seeds distributed in a tropical dry forest

Morfología, imbibición y germinación de semillas de *Caesalpinia glabrata* Kunth (Fabaceae) distribuida en un bosque seco tropical

José M. Romero-Saritama<sup>1\*</sup>; Vanessa B. Orellana-Armijos<sup>2</sup>; María J. Balseca-Ruiz<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto, Marcelino Champagnat, 1101608, Loja, Ecuador, Tel. + 593(7) 3701444 ext 3024. jmromero@utpl.edu.ec (\*Corresponding author).

<sup>2</sup>Titulación en Gestión Ambiental. Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto, Marcelino Champagnat, 1101608, Loja, Ecuador.

## Abstract

Evaluating functional seed traits allows us to identify ecological strategies of plants in different habitats. However, there are few studies in species from arid tropical areas. The objectives in this study were to: a) identify and evaluate morphological seed traits of *Caesalpinia glabrata*; an endemic species of the dry forests in Ecuador; b) determine water absorption capacity in the seeds; and c) evaluate the percentage and speed of germination of seed. A total of fifteen morphological traits in seeds were evaluated, and different treatments of imbibition and germination were tested. The individual seed size was approximately 9.2 x 6.6 x 4.5 mm, weight of 0.18 g. The seeds were oval, with smooth, thick and impermeable seed coat which induces its physical dormancy. The seeds presented an axillary-inverted yellow embryo, occupying the entire interior of the seeds. The germination was high in the treatments, mainly when the seed coat part was removed, surpassing the 90 % in 10 days. Germination time was significantly different between treatments ( $P < 0.001$ ). Based on the traits evaluated in this study, *C. glabrata* have high probability of reproductive success over time under temporary aridity conditions, as well as great potential for use in reforestation and *ex situ* conservation programs.

**Keywords:** Morphological adaptation, physical dormancy, seeds desiccation, embryo plant, plant conservation, drylands.

## Resumen

Evaluar rasgos funcionales en semillas permite identificar estrategias ecológicas de las plantas en diferentes hábitats. Sin embargo son pocos los estudios en especies de zonas áridas tropicales. Los objetivos del trabajo fueron: a) identificar y evaluar características morfológicas de las semillas de *Caesalpinia glabrata*; especie endémica de los bosques secos del Ecuador, b) determinar la capacidad de absorción de agua en las semillas y c) evaluar el porcentaje y velocidad de germinación. Se evaluaron 15 rasgos morfológicos en las semillas y se probaron diferentes tratamientos de imbibición y germinación. El tamaño individual de las semillas fue aproximadamente 9.2 x 6.6 x 4.5 mm, con peso de 0.18 g. Las semillas son ovaladas con testa lisa, gruesa e impermeable, lo que induce dormición física. Embrión amarillo, axilar-invertido ocupando todo el interior de la semilla. La germinación fue alta en los tratamientos, principalmente cuando se removió parte la testa superando el 90 % en 10 días. El tiempo de germinación fue significativamente diferente entre los tratamientos ( $P < 0.001$ ). Basados en los rasgos evaluados, *C. glabrata* tienen alta probabilidad de éxito reproductivo bajo condiciones de aridez ambiental temporal, además de gran potencial de uso en programas de reforestación y conservación *ex situ*.

**Palabras clave:** Adaptación morfológica, latencia física, deshidratación de semillas, embriones vegetales, conservación vegetal, zonas áridas.

Please cite this article as follows (APA 6): Romero-Saritama, J. M., Orellana-Armijos, V. B., & Balseca-Ruiz M. J.(2016). Morphology, imbibition and germination of *Caesalpinia glabrata* Kunth (Fabaceae) seeds distributed in a tropical dry forest. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 15(2), 89-101. doi: 10.5154/r.rchsza.2016.05.004



## Introduction

Currently, there is great interest in the study of morphological and physiological traits in woody plants from their functionality. Identification and evaluation of functional traits has allowed to determine different ecological strategies of the species and to know the dynamics of the communities against environmental changes or processes of human disturbance (Yates, Andrew, Binns, & Gibb, 2014, Lohbeck et al., 2015). The knowledge of morphological traits in plants especially fruits and seeds; structures involved in the processes of natural regeneration of the species allow better understanding of the adaptations and mechanisms of survival of plants to changes in the environmental conditions of arid habitats (Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016a).

The morphological traits of the seeds have been an essential tool in the taxonomy, these traits have allowed to establish similarities and differences among different taxa (Boelcke, 1946; Escala, 1994). In contrast, knowledge of seed ecology and biology is an important factor in determining patterns in species abundance and distribution (Dalling, 2002). However, these aspects have been especially addressed in species found in temperate areas and areas of tropical rainforest (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1993), leaving aside species of South American tropical dry habitats (Romero-Saritama & Pérez, 2016a), where the optimum environmental conditions for the natural regeneration of the plants are short, which in the seeds generates morphological and physiological adaptations to cope with environmental uncertainty conditions (Venable & Brown, 1988).

In tropical countries like Ecuador, which has a great diversity of species and plant formations, a high proportion of taxa still have to describe morphologically all its components from a functional perspective (Romero-Saritama, 2015), even more in endemic forest seed species distributed in dry areas. As part of the Ecuadorian arid zones we find the forest dry; ecosystem distributed along the coast and in some inter-Andean valleys (Aguirre, Linares-Palomino, & Kvist, 2006). These ecosystems constitute the so-called Tumbesina region or currently known as the Ecuadorian province according to the latest classification of Neo-tropic regionalization shared between Ecuador and Peru (Morrone, 2014). The dry forest is characterized by an average annual rainfall of 1,500 mm (Best & Kessler 1995) and a pronounced dry season of 4-7 months (Murphy & Lugo, 1986; Miles et al., 2006). Due to the high levels of endemism and diversity of woody species, dry forests are considered areas of great biological importance (Parker & Carr, 1992, Aguirre, Kvist, & Sánchez, 2006). However, these ecosystems are becoming increasingly threatened, with the risk of disappearing in the immediate future

## Introducción

Actualmente existe un gran interés por el estudio de rasgos morfológicos y fisiológicos en las plantas leñosas desde su funcionalidad. La identificación y evaluación de rasgos funcionales ha permitido determinar diferentes estrategias ecológicas de las especies y conocer la dinámica de las comunidades frente a cambios ambientales o procesos de perturbación humana (Yates, Andrew, Binns, & Gibb, 2014, Lohbeck et al., 2015). El conocimiento de características morfológicas en plantas especialmente de frutos y semillas; estructuras involucradas en los procesos de regeneración natural de las especies, permite conocer mejor las adaptaciones y mecanismos de sobrevivencia de las plantas a los cambios en las condiciones ambientales de los hábitats áridos (Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016a).

Las características morfológicas de las semillas han sido una herramienta indispensable en la taxonomía, han permitido establecer similitudes y diferencias entre distintos taxones (Boelcke, 1946; Escala, 1994). En cambio, el conocimiento de la ecología y biología de semillas constituyen un factor importante para determinar patrones en la abundancia y distribución de las especies (Dalling, 2002). Sin embargo, aquellos aspectos han sido abordados especialmente en especies presentes en zonas templadas y áreas de selva húmeda tropical (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1993), dejando a un lado especies de hábitats secos tropicales sudamericanos (Romero-Saritama & Pérez, 2016a), donde las condiciones ambientales óptimas para la regeneración natural de las plantas son cortas, lo que genera en las semillas adaptaciones morfológicas y fisiológicas para hacer frente a las condiciones de incertidumbre ambiental (Venable & Brown, 1988).

En países tropicales como Ecuador, que posee gran diversidad de especies y formaciones vegetales, una alta proporción de taxones todavía falta por describir morfológicamente todos sus componentes desde una perspectiva funcional (Romero-Saritama, 2015), más aún en semillas de especies forestales endémicas distribuidas en zonas secas. Formando parte de las zonas áridas ecuatorianas encontramos al bosque seco; ecosistema distribuido a lo largo de la costa y en algunos valles interandinos (Aguirre, Linares-Palomino, & Kvist, 2006). Estos ecosistemas constituyen la denominada región Tumbesina o actualmente conocida como provincia Ecuatoriana según la última clasificación de regionalización del Neo-tropico compartida entre Ecuador y Perú (Morrone, 2014). El bosque seco se caracteriza por un promedio de precipitaciones anuales de 1,500 mm (Best & Kessler 1995) y una estación seca pronunciada de 4-7 meses (Murphy & Lugo, 1986; Miles et al., 2006). Por los altos niveles de endemismo y diversidad de especies leñosas los bosques secos son considerados zonas de gran importancia biológica

(Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016b). Some species are already included in the IUCN Red List. It is important to work urgently on mechanisms for the conservation of woody species in dry forests.

An alternative that is presented to contribute to the immediate conservation of forest species is the collection and storage of seeds (Leon-Lobos, Way, Aranda, & Lima-Junior, 2012). Unfortunately, information on ecology, phenology, physiology and seed morphology of woody species of South American dry forests is scarce, and it is essential to fill this void of biological information to accelerate and optimize the efficient management and conservation of seeds of ecosystem species threatened (Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016b).

*Caesalpinia glabrata* Kunth object of the present study is a native tree of the Ecuador that is distributed in the dry forests between 0 to 500 msnm (Jørgensen & León-Yáñez, 1999). It is a species of 3 to 6 meters high (Ulibarri, 1996). It has dark green trunk with smooth surface and presence of white spots. *C. glabrata* is a species of forest and ethnobotanical importance popularly used for the production of coal, firewood, poles, beams and small constructions (Sánchez, Aguirre, & Kvist, 2006). The leaves, flowers and fruits serve as forage for cattle and goats. Medicinally, grinded fruits have been used to heal wounds, seed and bark to cure dental cavities and when it is cooked it is used to help tonsillitis problems (Lasseigne, 2001). In Ecuador, no scientific research on an industrial, biochemical or medicinal use of the species is known. However in other areas, studies in different species of the same genus have found medicinal, chemical and industrial active principles. Therefore, *C. glabrata* can be considered as a plant with great study potential. Although *C. glabrata* is considered to be of minor concern (Groom, 2012), its natural populations, as well as the entire Ecuadorian dry forest, are under anthropogenic pressure, and it is necessary to generate biological information of the species that allows the development of guidelines for conservation and use of species in reforestation programs. The present research proposed as objectives; a) to identify and evaluate morphological traits of *C. glabrata* seeds and embryos in an arid environment, b) to determine the water absorption capacity of the seeds, and c) to evaluate the percentage and germination speed of *C. glabrata*. The information generated in the seeds will be of importance to provide knowledge on the morphological adaptations of the species to the environmental aridity conditions of tropical dry forests. Also identify parameters and tools for *ex situ* management and conservation.

## Materials and Methods

**Obtaining seeds.** we worked with mature seeds of *Caesalpinia glabrata* collected in 2011 in a dry forest

(Parker & Carr, 1992, Aguirre, Kvist, & Sánchez, 2006). No obstante, estos ecosistemas están siendo cada vez más amenazados, corriendo el riesgo de desaparecer en un futuro inmediato (Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016b). Incluso, algunas especies ya están incluidas en la lista roja de la UICN. Siendo importante trabajar urgentemente en mecanismos de conservación de las especies leñosas de los bosques secos.

Una alternativa que se presenta para contribuir a la conservación inmediata de las especies forestales, es la colección y almacenamiento de semillas (Leon-Lobos, Way, Aranda, & Lima-Junior, 2012). Lamentablemente, información sobre ecología, fenología, fisiología y morfología de semillas de las especies leñosas de los bosques secos sudamericanos es escasa, siendo primordial llenar este vacío de información biológica que permita acelerar y optimizar el manejo y conservación eficiente de semillas de las especies de ecosistemas amenazados (Romero-Saritama & Pérez-Ruiz, 2016b).

*Caesalpinia glabrata* Kunth objeto del presente estudio es un árbol nativo del Ecuador que se distribuye en los bosques secos entre 0 a 500 msnm (Jørgensen & León-Yáñez, 1999). Es una especie de 3 a 6 metros de altura (Ulibarri, 1996). De tronco color verde oscuro con superficie lisa y presencia de manchas blancas. *C. glabrata* es una especie de importancia forestal y etnobotánica muy utilizada popularmente para la elaboración de carbón, leña, postes, vigas y construcciones pequeñas (Sánchez, Aguirre, & Kvist, 2006.). Las hojas, flores y frutos sirven como forraje para el ganado vacuno y caprino. Medicinalmente los frutos molidos han sido utilizados para cicatrizar heridas, la semilla y corteza para curar las caries y en cocción para problemas de amigdalitis (Lasseigne, 2001). En Ecuador no se conocen investigaciones científicas sobre un uso industrial, bioquímico o medicinal de la especie. No obstante en otras zonas, estudios en diferentes especies del mismo género han encontrado principios activos medicinales, químicos e industriales. Por lo tanto, *C. glabrata* puede ser considerada como una planta con gran potencial de estudio. A pesar de que *C. glabrata* está considerada en un grado de preocupación menor (Groom, 2012), sus poblaciones naturales al igual que todo el bosque seco ecuatoriano está bajo presión antropogénica, siendo necesario generar información biológica de las especies que permita plantear directrices para la conservación y uso de las especies en programas de reforestación. La presente investigación planteó como objetivos; a) identificar y evaluar características morfológicas de las semillas y embriones de *C. glabrata* en un ambiente árido, b) determinar la capacidad de absorción de agua de las semillas, y c) evaluar el porcentaje y velocidad de germinación de *C. glabrata*. La información generada en las semillas será de importancia para proporcionar conocimientos

remnant located at 250 msnm, in the province of Loja to the south west of Ecuador (4° 22' 42.21" S and 80° 15' 10.49" W). The area is characterized by a rainy season from December to April and a dry season from May to November, with annual average rainfall of 500 mm and average annual temperature of 20 to 26 °C. (Espinosa, Cabrera, Luzuriaga, & Escudero, 2011). The seeds were dehydrated to 10 % moisture and stored in sealed bottles at 10 °C in the Seed Bank at the Universidad Técnica Particular de Loja until its use.

**Morphological analyzes.** The trials were carried out in 2015 and a sample of 50 seeds randomly selected was used. A total of 15 morphological traits were determined and measured in seeds and embryos. The general methodology for evaluating the traits was made according to Romero-Saritama and Pérez-Ruiz (2016a).

Seed size was determined using the imageJ free access software available at <https://imagej.nih.gov/ij/>. The seeds were photographed and the program measured the length and width. The thickness of the seeds was determined using a digital calibrator (Stainless hardened). The mass was calculated by weighing the seeds individually on a four-digit analytical balance. The seed volume was determined using the formula to calculate the volume of an ellipsoid:

$$V = \left[ \left( \frac{4}{3} \right) \times \pi \times \left( \frac{a \times b \times c}{2} \right) \right]$$

where: V= volume, a= length, b= width and c= thickness of the seeds.

To identify the thickness of the coat, cross sections were made and photographed on the seeds and their length was determined using the imageJ program. Shape, color, surface and hardness of the coat was established according to Romero-Saritama and Pérez-Ruiz (2016a). The length of the embryo corresponds to the measurement from the radicle to the cotyledons. The type and function of the embryo was determined according to the classification of Martin (1946) and Kitajima (1996) respectively.

**Absorption of water in seeds.** The ability of the seeds to absorb water was measured by the weight of the seeds before and after imbibition. The treatment consisted in making an opening in the coat to 20 seeds using a scalpel at the level of the hilar region. The seeds were weighed and placed in a beaker with 50 ml of water. Each 24 hours the seeds were removed from the water, dried with absorbent paper and weighed on an analytical balance. This procedure was performed for five days. The results were compared with seeds with no treatment placed directly in water (control).

sobre las adaptaciones morfológicas de la especie a las condiciones de aridez ambiental de los bosques secos tropicales. Además identificar parámetros y herramientas para su manejo y conservación *ex situ*.

## Materiales y métodos

**Obtención de semillas.** Se trabajó con semillas maduras de *Caesalpinia glabrata* colectadas en el 2011 en un remanente de bosque seco ubicado a 250 msnm, en la provincia de Loja al sur occidente del Ecuador (4° 22' 42.21" S y 80° 15' 10.49" O). La zona se caracteriza por una estación lluviosa desde diciembre a abril y una estación seca de mayo a noviembre, con precipitación media anual de 500 mm y temperatura media anual de 20 a 26 °C. (Espinosa, Cabrera, Luzuriaga, & Escudero, 2011). Las semillas fueron deshidratadas hasta el 10 % de humedad y almacenadas en frascos herméticos colocados a 10 °C de temperatura en el Banco de semillas de la Universidad Técnica Particular de Loja hasta su utilización.

**Análisis morfológicos.** Los ensayos se realizaron en el 2015 y se utilizó una muestra de 50 semillas seleccionadas al azar. Se determinaron y midieron 15 rasgos morfológicos en las semillas y embriones. La metodología general para evaluar los rasgos se realizó según Romero-Saritama y Pérez-Ruiz (2016a).

El tamaño de las semillas se determinó usando el software de acceso libre imageJ disponible en <https://imagej.nih.gov/ij/>. Las semillas fueron fotografiadas y mediante el programa se midió el largo y ancho. El grosor de las semillas se determinó usando un calibrador digital (marca Stainless hardened). La masa se calculó pesando individualmente las semillas en una balanza analítica de cuatro dígitos. El volumen de las semillas se determinó usando la fórmula para calcular el volumen de un elipsoide:

$$V = \left[ \left( \frac{4}{3} \right) \times \pi \times \left( \frac{a \times b \times c}{2} \right) \right]$$

donde: V= volumen, a= largo, b= ancho y c= grosor de las semillas.

Para identificar el grosor de la testa se realizaron y fotografiaron cortes transversales en las semillas y se determinó su longitud usando el programa imageJ. La forma, color, superficie y dureza de testa se estableció según Romero-Saritama y Pérez-Ruiz (2016a). El largo del embrión corresponde a la medida desde la radícula hasta los cotiledones. El tipo y función del embrión se determinó según la clasificación de Martin (1946) y Kitajima (1996) respectivamente.

**Absorción de agua en las semillas.** La capacidad de las semillas para absorber agua se midió mediante el

**Germinative response.** Based on the hardness of the seed coat of *C. glabrata*, germination tests were performed using two treatments; a) rupture of the coat in the hilar region and imbibition in distilled water at room temperature for 30 minutes (T1), b) imbibition of seeds in boiled distilled water and rest for 72 hours without coat rupture (T2). A total of 40 and 100 seeds were used for T1 and T2 respectively and were seeded onto absorbent paper in glass Petri dishes for 12-hour light and 12-hour of darkness in a Lab-Line™ Imperial III Standard Incubators at 25 °C. The absorbent paper was moistened whenever necessary to maintain moisture conditions during germination during the test. The 2 mm emergence of the radicle was the criterion used to determine a germinated seed (Pritchard et al., 2004).

**Analysis of data.** Descriptive procedures were performed on the morphological traits measured in the seeds. The Mann-Whitney Wilcoxon Test was used to compare differences between the seed weights of treatments during imbibition. The percentage of germination accumulated in the two treatments was calculated. We model our data using Generalized Linear Models (GLM) using the logit link function. The variability explained by GLM was calculated by comparing the deviation of the null deviance with the residual deviance using the formula:

$$D^2 = \frac{\text{Null deviance} - \text{Residual deviance}}{\text{Null deviance}}$$

Differences in germination speed between treatments were determined using the Survival Analysis tool, available in the Survival R statistical package (Thermeau & Grambsch, 2000). Finally, survival curves were plotted using the Kaplan and Meier (1958) non-parametric estimator using the R survfit function. All statistical analyzes were performed in the R environment (R Core Team, 2013).

## Results and discussion

### Variation of morphological traits

Studies on the evaluation of different traits in seeds of the same species have been rare. Our study is one of the pioneers in generating information related to several morphological and functional physiological traits in seeds of a woody species of Ecuadorian dry forest. The results showed that the tendency of *C. glabrata* is to produce seeds with little variation in each of the measured morphological characters (Figure 1). The absence of high morphological variability in plants has been classified as an evolutionarily stable strategy (Geritz, 1995), where the mother plant allocates the same amount of resources to the seeds, tending to produce seeds of a single optimum size, so that, in the

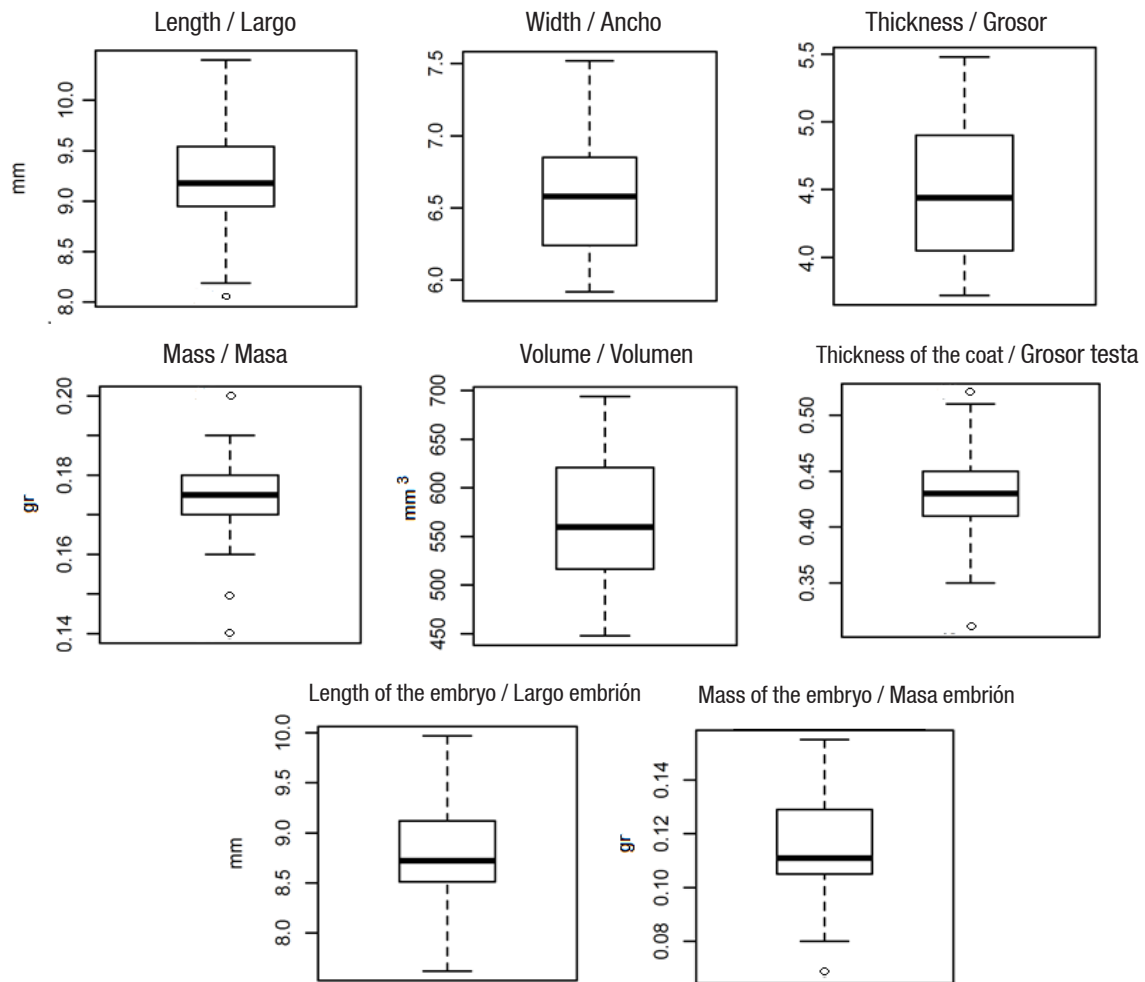
peso de las semillas antes y después de la imbibición. El tratamiento consistió en realizar una abertura en la testa a 20 semillas con un bisturí a nivel de la región hilar. Las semillas fueron pesadas y colocadas en un vaso de precipitación con 50 ml de agua. Cada 24 horas se sacaron las semillas del agua, se secaron con papel absorbente y se pesaron en una balanza analítica. Este procedimiento se realizó por cinco días. Los resultados fueron comparados con semillas sin ningún tratamiento colocadas directamente en agua (control).

**Respuesta germinativa.** Basados en la dureza de la testa de las semillas de *C. glabrata* se realizaron ensayos de germinación utilizando dos tratamientos; a) ruptura de la testa en la región hilar e imbibición en agua destilada a temperatura ambiente por 30 minutos (T1), b) imbibición de semillas en agua destilada hervida y reposo por 72 horas sin ruptura de testa (T2). Se utilizaron 40 y 100 semillas para el T1 y T2 respectivamente y fueron sembradas sobre papel absorbente en cajas Petri de vidrio con 12 horas luz y 12 de oscuridad en una incubadora (Lab-Line™ Imperial III Standard Incubators) a 25 °C. Durante el ensayo se humedeció el papel absorbente siempre que fue necesario para mantener las condiciones de humedad durante la germinación. La emergencia de 2 mm de la radícula fue el criterio que se utilizó para determinar una semilla como germinada (Pritchard et al., 2004).

**Análisis de datos.** Se realizaron procedimientos descriptivos de los rasgos morfológicos medidos en las semillas. Se utilizó el Test de Mann-Whitney Wilcoxon para contrastar diferencias entre los pesos de las semillas de los tratamientos durante la imbibición. Se calculó el porcentaje de germinación acumulada en los dos tratamientos realizados. Modelizamos nuestros datos usando Modelos Lineales Generalizados (GLM por sus siglas en inglés) mediante la función de enlace logit. Se calculó la variabilidad explicada por GLM comparando la devianza del modelo nulo (Null deviance) con la devianza residual (Residual deviance) mediante la fórmula:

$$D^2 = \frac{\text{Devianza modelo nulo} - \text{Devianza residual}}{\text{Devianza modelo nulo}}$$

Las diferencias en la velocidad de germinación entre los tratamientos se determinaron usando la herramienta de Análisis de Supervivencia, disponible en el paquete estadístico Survival en R (Thermeau & Grambsch, 2000). Finalmente se graficaron curvas de supervivencia usando el estimador no paramétrico de Kaplan y Meier (1958) utilizando la función de R survfit. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el entorno R (R Core Team, 2013).



**Figure 1. Description and variation of the morphological traits measured in seeds and embryos of *C. glabrata*.**  
**Figura 1. Descripción y variación de los rasgos morfológicos medidos en las semillas y embriones de *C. glabrata*.**

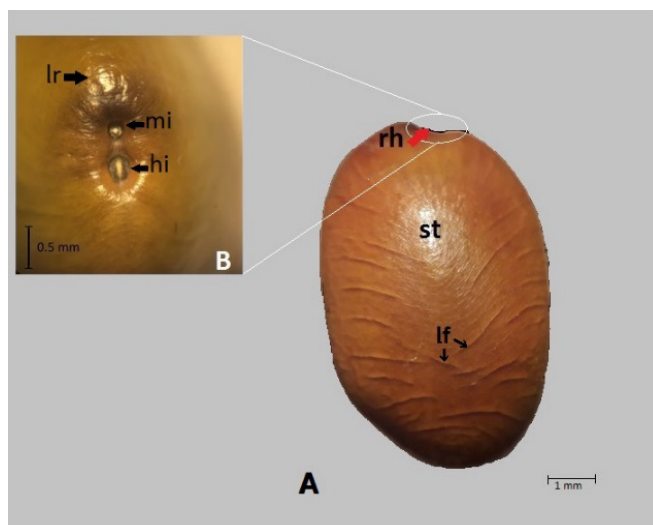
face of fluctuations in the availability of resources, the plants would choose to modify the number of seeds before their size (McGinley, Temme, & Geber, 1987; Haig & Westoby, 1988). In the dry forest where the optimal environmental conditions for germination and establishment of seedlings are short (Khurana & Singh, 2001), producing seeds with similar morphological traits and with the same resources could give the seeds of *C. glabrata* the same opportunity of germination in the moisture season of the dry forest. On the other hand, producing seeds with stable morphological characteristics would allow the species to have great potential for use in dry forest reforestation programs, since the greatest number of seeds could be used because a high percentage of germination would be expected.

The seeds of *C. glabrata* showed several shades of color, from dark green, olive to brown. With an oval shape, hard coat with a smooth surface and small fracture lines (Figure 2A). In the subapical part of the seeds the hilar region that regulates the entrance of water inside the seeds can be observed (Figure 2B). However, the cuticle surrounding the seeds is impermeable (Figure 3B). External qualitative traits of seeds have generally

## Resultados y discusión

### Variación de rasgos morfológicos

Estudios sobre la evaluación de diferentes rasgos en semillas de una misma especie han sido poco frecuentes. Nuestro trabajo es uno de los pioneros en generar información relacionada con varios rasgos morfológicos y fisiológicos funcionales en semillas de una especie leñosa del bosque seco ecuatoriano. Los resultados mostraron que la tendencia de *C. glabrata* es producir semillas con poca variación en cada uno de los caracteres morfológicos medidos (Figura 1). La ausencia de alta variabilidad morfológica en plantas ha sido catalogada como una estrategia evolutivamente estable (Geritz, 1995), donde la planta madre adjudica la misma cantidad de recursos a las semillas, tendiendo a producir semillas de un único tamaño óptimo, por lo que, ante fluctuaciones en la disponibilidad de recursos las plantas optarían por modificar el número de semillas antes que su tamaño (McGinley, Temme, & Geber, 1987; Haig & Westoby, 1988). En el bosque seco donde las condiciones ambientales óptimas para la germinación y establecimiento de las plántulas son



**Figure 2. External traits of *C. glabrata* seeds. A) Integral view of the mature seed, B) enlarged area of the hilar region. st = seed coat area, lf = fracture lines, rh = hilar region, mi = micropyle, hi = hilum, lr = radicular lobe.**

**Figura 2. Rasgos externos de las semillas de *C. glabrata*. A) vista integral de la semilla madura, B) zona ampliada de la región hilar. st= superficie de la testa, lf= líneas de fractura, rh= región hilar, mi= micrópilo, hi= hilum, lr= lóbulo radicular.**

been correlated with germination and dormancy. In *C. glabrata*, the external traits evaluated could generate the necessary mechanisms to potentiate their survival as seed during greater environmental aridity in the dry forest and to maximize their germination in the humid season. On the one hand, the production of hard and impermeable coat in the seeds is a sign of physical dormancy (Baskin & Baskin, 2014), which suppresses the negative demographic effect of reproductive failure and allows the species to avoid unfavorable environmental conditions to the establishment of seedlings (Khurana & Singh, 2001). In addition, the presence of a hard and impermeable coat provides the necessary protection to the developed embryo of *C. glabrata* by not allowing its dehydration during dry aridity conditions in the dry forest. In contrast, the external characteristics of the seeds as size and shape, together with the hardness of the coat, would allow *C. glabrata* to form seed banks in the soil, allowing a staggered recruitment of seedlings for several years due to physical dormancy shown by seeds (Khurana & Singh, 2001).

As Figure 2 shows, the seeds of *C. glabrata* do not have additional external structures that allow them to be dispersed by the wind or adhere to some animal passing near them. However, according to the type of fruit and morphology of the seeds, seeds could be digested and dispersed by animals. This type of dispersion allows the seeds to move farther away from the mother plant,

cortas (Khurana & Singh, 2001), producir semillas con rasgos morfológicos similares y con los mismos recursos podría otorgar a las semillas de *C. glabrata* la misma oportunidad de germinación en la temporada de humedad del bosque seco. Por otro lado, producir semillas con características morfológicas estables le permitiría a la especie tener gran potencial de uso en programas de reforestación de los bosques secos, ya que se podría utilizar la mayor cantidad de semillas, porque se esperaría un alto porcentaje de germinación.

Las semillas de *C. glabrata* presentaron varias tonalidades de color, desde verde oscuro, oliva a café. De forma ovalada, testa dura con superficie lisa brillante y se nota la presencia de pequeñas líneas de fractura (Figura 2A). En la parte subapical de las semillas se distingue la región hilar que regula el ingreso de agua al interior de las semillas (Figura 2B). No obstante, la cutícula que rodea a las semillas es impermeable (Figura 3B). Los rasgos cualitativos externos de las semillas generalmente han sido correlacionados con la capacidad de germinación y dormición. En *C. glabrata*, los rasgos externos evaluados podrían generar los mecanismos necesarios para potencializar su supervivencia como semilla durante las condiciones de mayor aridez ambiental en el bosque seco y maximizar su germinación en la temporada húmeda. Por una parte, la producción de testa dura e impermeable en las semillas es señal de latencia física (Baskin & Baskin, 2014), lo que suprime el efecto demográfico negativo del fracaso reproductivo y le permiten a la especie evitar condiciones ambientales desfavorables para el establecimiento de plántulas (Khurana & Singh, 2001). Además, la presencia de testa dura e impermeable, brinda la protección necesaria al embrión desarrollado de *C. glabrata* al no permitir su deshidratación durante las condiciones de aridez ambiental en el bosque seco. En cambio, las características externas de las semillas como tamaño y forma, unido a la dureza de la testa, le permitiría a *C. glabrata* formar bancos de semillas en el suelo, permitiendo un reclutamiento escalonado de plántulas durante varios años debido a la dormición física que presentan las semillas (Khurana & Singh, 2001).

Como se evidencia en la Figura 2, las semillas de *C. glabrata* no presentan estructuras adicionales externas que les permita ser dispersadas por el viento o adherirse a algún animal que pase cerca de ellas. Sin embargo, de acuerdo al tipo de fruto y morfología de las semillas, éstas si podrían ser digeridas y dispersadas por animales. Este tipo de dispersión permite a las semillas alejarse más de la planta madre, reducir la competencia entre individuos y tener menor probabilidad de que existan procesos endogámicos, que pongan en riesgo la viabilidad de las poblaciones (Hart & Clark, 2007).

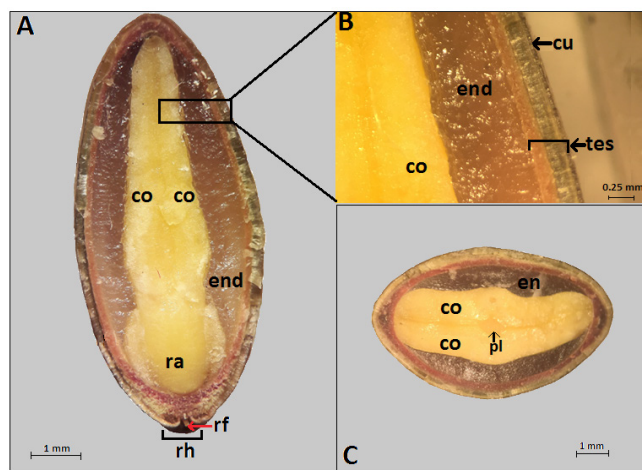
Como podemos observar en la Figura 3, las semillas internamente están compuestas por un embrión desarrollado color amarillo que puede ocupar más del

reduce competition among individuals and be less likely to have endogenous processes that threaten the viability of populations (Hart & Clark, 2007).

As shown in Figure 3, seeds internally are composed of a yellow-colored embryo that can occupy more than 80 % of the seed (Figure 3A), surrounded by small amounts of brown color endosperm (Figure 3B-C). The embryo is axillary, inverted foliate (Figure 4A), i.e., it has large and thick cotyledons that enclose much of the radicle (Figure 4B). Previous studies have argued that these embryos are more advanced and evolutionarily developed with respect to other types of plant embryos (Forbis, Floyd, & De Queiroz, 2002; Vanderlook, Verdú, & Honnay, 2012), being a beneficial trait in dry habitats (Vanderlook et al., 2012). A developed embryo would be ready to germinate during short periods of humidity in dry forests (Vivrette, 1995), after restrictions caused by the endosperm and coat are eliminated. In addition, because they have thick cotyledons, they would fulfill the function of storing food reserves that will later be used during germination (Kitajima, 1996), allowing the seeds to improve their germination speed by not having to go through the nutrient absorption stage of the endosperm.

### Water absorption in seeds

Seed imbibition analyzes showed significant differences ( $P = 0.004$ ) between treatment and control (Figure 5). The seed coat of *C. glabrata* prevented water from entering



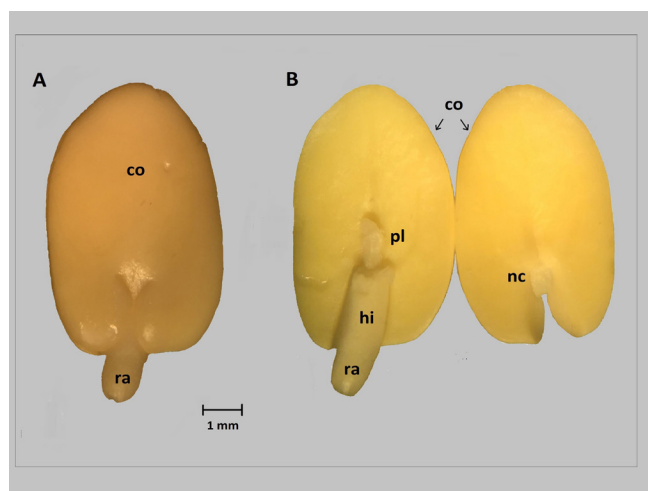
**Figure 3.** Internal structure of *C. glabrata* seeds. A) longitudinal section B) enlarged region of a seed portion. C) cross section. Meanings co= cotyledon, ra= radicle, end= endosperm, cu= cuticle, tes= seed coat, plu= plumule.

**Figura 3.** Estructura interna de las semillas de *C. glabrata*. A) corte longitudinal B) región ampliada de una porción de semilla. C) corte transversal. Significados co= cotiledón, ra= radícula, end= endospermo, cu= cutícula, tes= testa, plu= plúmula.

80 % de la semilla (Figura 3A), rodeado por pequeñas cantidades de endospermo color café (Figura 3B-C). El embrión es axilar, foliado tipo invertido (Figura 4A), es decir presenta cotiledones grandes y gruesos que encierran gran parte de la radícula (Figura 4B). Estudios previos han argumentado que este tipo de embriones son más avanzados y desarrollados evolutivamente con respecto a otros tipos de embriones vegetales (Forbis, Floyd, & De Queiroz, 2002; Vanderlook, Verdú, & Honnay, 2012), siendo un rasgo beneficioso en hábitats secos (Vanderlook et al., 2012). Un embrión desarrollado estaría listo para germinar durante los periodos cortos de humedad en los bosques secos (Vivrette, 1995), luego que las restricciones provocadas por el endospermo y testa se eliminen. Además al tener cotiledones gruesos, éstos cumplirían la función de almacenamiento de reservas alimenticias que posteriormente serán utilizadas durante la germinación (Kitajima, 1996), permitiéndole a las semillas mejorar su velocidad de germinación al no tener que pasar por la etapa de absorción de nutrientes del endospermo.

### Absorción de agua en las semillas

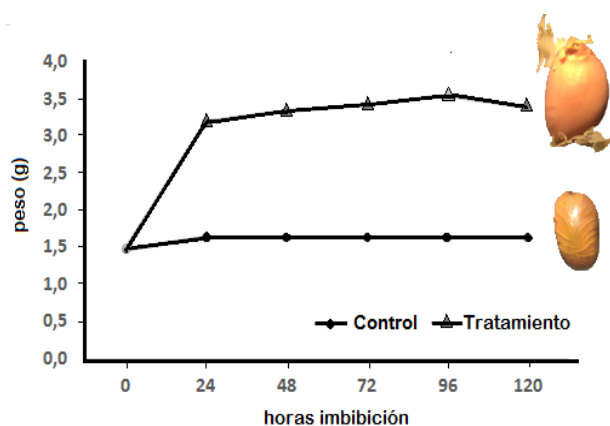
Los análisis de imbibición de las semillas mostraron diferencias significativas ( $P = 0.004$ ) entre el tratamiento y el control (Figura 5). La testa de las semillas de *C. glabrata* impidió el ingreso del agua en el control hasta el final del ensayo, a diferencia de las semillas donde se realizó una abertura manual en la testa, el peso y tamaño de las semillas luego de ser colocadas en agua, a las 24 horas duplicaron su peso y tamaño, no obstante los cambios en estos rasgos ya se evidencian



**Figure 4.** Developed embryo of *C. glabrata*. A) type and shape of embryo, B) internal part of the embryo. Co= cotyledon, ra= radicle, pl= plumule, hi= hilum, nc= cotyledon knot.

**Figura 4.** Embrión desarrollado de *C. glabrata*. A) tipo y forma de embrión, B) parte interna del embrión. Co= cotiledón, ra= radícula, pl= plúmula, hi= hilum, nc= nudo cotiledonar.

the control until the end of the trial, unlike seeds where a manual opening was performed on the coat, the weight and size of the seeds after being placed in water, at 24 hours doubled their weight and size, however changes in these traits are already evident at 12 hours of imbibition. Therefore, our results show that the type of coat on *C. glabrata* seeds limits the absorption capacity of water. Baskin and Baskin (2014) mention that an impermeable coat that prevents imbibition causes physical dormancy in seeds. However, this type of dormancy would be beneficial in dry forests by allowing the seeds to remain viable for long periods of time and allowing the formation of soil seed banks (Baskin & Baskin, 1998).



**Figure 5. Variation in weight and size during water absorption in seeds with a hole in the coat.**

**Figura 5. Variación en el peso y tamaño durante la absorción de agua en semillas con abertura en la testa.**

The partial rupture of the coat in the seeds determined the loss of its regulating and restrictive function by allowing the free absorption of the water in the seeds, causing the germination to begin at 24 hours (see below). Our results confirm the presence of physical dormancy imposed by the impermeability of the coat on the seeds of *C. glabrata*, and support the thesis that; plants present in environments that experience frosts or droughts are more likely to generate some type of seed dormancy compared to species present in ecosystems with frequent rainfall (Jurado & Flores 2005).

### Germination analyzes

The germinative response of *C. glabrata* seeds was directly linked to the treatments used. The values of the deviance ( $D^2$ ) determined in the GLM explained a large proportion of the variance (Table 1). The percentage of accumulated germination was higher (96 %) in seeds where there was a rupture of the coat (T1), while in the treatment two the percentage of germination reached 80%. The high germinative response in *C. glabrata* could be due to the ability of the mother plant by providing the same amount of resources to all seed production

a las 12 horas de imbibición. Por lo tanto, nuestros resultados muestran que el tipo de testa en las semillas de *C. glabrata* limita la capacidad de absorción de agua. Baskin y Baskin (2014) mencionan que una testa impermeable que impide la imbibición causa latencia física en las semillas. Sin embargo, este tipo de latencia sería beneficioso en los bosques secos al permitir que las semillas permanezcan viables durante largos periodos de tiempo y permitan la formación de bancos de semillas del suelo (Baskin & Baskin, 1998).

La ruptura parcial de la testa en las semillas determinó la pérdida de su función reguladora y restrictiva al permitir la libre absorción del agua en las semillas, provocando el inicio de la germinación a las 24 horas (ver más adelante). Nuestros resultados confirman la presencia de dormición física impuesta por la impermeabilidad de la testa en las semillas de *C. glabrata*, y apoyan la tesis que; las plantas presentes en entornos que experimentan heladas o sequías son más probables a generar algún tipo de latencia en la semilla que especies presentes en ecosistemas con lluvias frecuentes (Jurado & Flores 2005).

### Análisis germinativos

La respuesta germinativa de las semillas de *C. glabrata* estuvo ligada directamente a los tratamientos utilizados. Los valores de la devianza ( $D^2$ ) determinada en el GLM explicaron gran proporción de la varianza (Cuadro 1). El porcentaje de germinación acumulada fue mayor (96 %) en las semillas en donde existió ruptura de la testa (T1), mientras que en el tratamiento dos el porcentaje de germinación alcanzó el 80 %. La alta respuesta germinativa en *C. glabrata* pudo deberse a la capacidad de la planta madre al proporcionar la misma cantidad de recursos a toda la producción de semillas (Lo que se reflejó anteriormente en el tamaño similar de las semillas), lo que permite la misma probabilidad de germinar a todas las semillas. En ambientes áridos un mayor porcentaje de germinación puede generar una alta probabilidad de éxito reproductivo de las especies en el tiempo (Sánchez et al., 2014).

La velocidad germinativa estuvo relacionada directamente a los tratamientos realizados. Los patrones temporales de germinación variaron significativamente entre los tratamientos (Figura 6). Las semillas del T1 empezaron a germinar a las 24 horas de la siembra, no obstante a las 12 horas ya existió el apareamiento de la radícula, finalizando su germinación en menos de 10 días. A diferencia del T2 que su inicio de germinación fue a los 7 días, finalizando hasta los 90 días. La ruptura de la testa en las semillas de *C. glabrata* provocó la absorción inmediata del agua, generando la rápida germinación y en alto porcentaje. Por lo tanto, para que las semillas puedan aprovechar al máximo las condiciones de humedad para germinar

**Table 1. GLM results for germination in the two treatments used in seeds of *C. glabrata*. In addition, the explained variability of the model ( $D^2$ ) is shown.**

**Cuadro 1. Resultados del GLM para la germinación en los dos tratamientos utilizados en las semillas de *C. glabrata*. Además se muestra la variabilidad explicada del modelo ( $D^2$ ).**

Treatments/ Tratamientos	Likelihood ratio/ Razón de verosimilitud	df/ gl	p value/ p valor	Null deviance/ Devianza nulo	Residual deviance/ Devianza residual	$D^2$	% of the model/ % del modelo
	7.67	1	0.0056	10.014	2.349	0.766	77

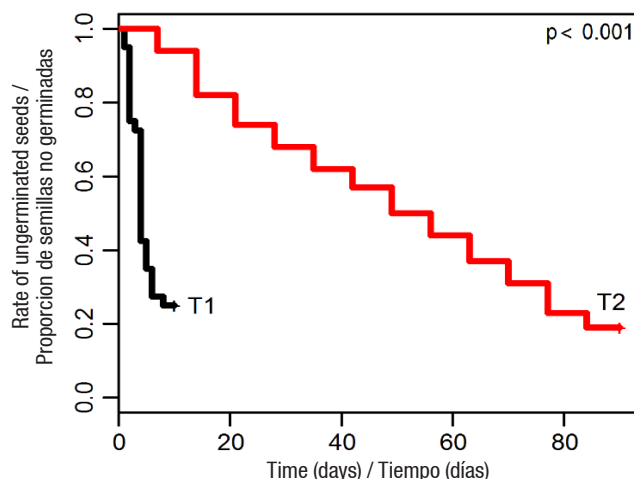
df= degrees of freedom.

gl= grados de libertad.

(which was previously reflected in the similar size of the seeds), allowing the same probability of germinating all seeds. A higher percentage of germination can generate a high probability of reproductive success of the species in the time in arid environments (Sánchez et al., 2014).

The germination speed was directly related to the treatments performed. Temporal germination patterns varied significantly between treatments (Figure 6). The seeds of T1 began to germinate at 24 hours of planting, however at 12 hours there was the appearance of the radicle, ending its germination in less than 10 days. Unlike T2 that its germination beginning was on the 7th day, ending until the 90 days. The rupture of the coat in the seeds of *C. glabrata* caused the immediate absorption of the water, generating the rapid germination and in high percentage. Therefore, in order for the seeds to take maximum advantage of the moisture conditions to germinate and settle in the dry forest, they must be exposed to a previous scarification to eliminate their dormancy. Manual coat rupture would be a mechanism to accelerate germination; however, this is a process that can take a long time at the laboratory if it were a large number of samples.

Scarification of *C. glabrata* seeds could occur by several mechanisms. At the moment of being dispersed, passing through the digestive tract of the animals can mean rupture of the seeds without internal damage of the embryo (Miller, 1995; Khurana & Singh, 2001). In other cases the period of high temperatures preceding rainfall in arid areas creates holds in the coat that can enlarge the rupture lines in the seeds, which would allow water to enter (Fenner & Thompson, 2005) and consequently germination. However, in seeds that would not undergo an immediate natural scarification, the production of hard seeds contributes to the temporary dispersion of germination, avoiding the risks of synchronous germination of the whole seed bank (De Souza & Marcos-Filho, 2001), allowing the species to maintain a live bank of seeds for some years.



**Figure 6. Differences between germination curves, between treatments using the Kaplan-Meier estimator using the R survfit function. T1 = Treatment 1, T2 = Treatment 2.**

**Figura 6. Diferencias entre curvas de germinación, entre tratamientos mediante el estimador de Kaplan-Meier usando la función R survfit. T1= Tratamiento 1, T2= Tratamiento 2.**

y establecerse en el bosque seco, éstas deberán estar expuestas a una escarificación previa para eliminar su dormición. La ruptura manual de la testa sería un mecanismo para acelerar la germinación, sin embargo, este es un proceso que puede tomar mucho tiempo a nivel de laboratorio si se tratase de una gran cantidad de muestras.

Naturalmente la escarificación de las semillas de *C. glabrata* podría darse por varios mecanismos. Al momento de ser dispersadas, el pasar a través del tracto digestivo de los animales puede significar ruptura de testa de las semillas sin daño interno del embrión (Miller, 1995; Khurana & Singh, 2001). En otros casos el periodo de altas temperaturas que preceden a las lluvias en zonas áridas crean brechas en la testa que pueden agrandar las líneas de ruptura en las semillas, lo que permitiría la entrada del agua (Fenner & Thompson, 2005) y consecuentemente la germinación. Sin embargo, en semillas que no pasarían por una

## Conclusions

The traits evaluated in the seeds of *C. glabrata* allow the species to have a high potential for reproductive success in conditions of greater environmental aridity in a dry forest, and the ability to survive for a long time as seeds against possible changes or increases in predicted temperatures for the coming years.

The small variation in seed size, coat traits, type of embryo and dormant, as well as the germinative behavior of *C. glabrata* are traits that could function as an effective strategy to maximize the conditions of low humidity and minimize the risk of dying during the dry season of dry forest. Finally, the morphophysiological traits of the seeds of *C. glabrata* allow it to be a species with potential for its use in reforestation and restoration programs of the Ecuadorian dry forest, in addition to being able to *ex situ* conserve its seeds in the long term.

## Acknowledgments

The authors thank the staff and students who have been part of the Seed Bank at the Universidad Técnica Particular de Loja and have participated in the collection of seeds. The authors also thank the contributions of the anonymous reviewers who helped improve previous versions of this paper.

*End of English version*

## References / Referencias

- Aguirre, Z., Kvist, L. P., & Sánchez, T. O. (2006). Bosques secos en Ecuador y su diversidad. In: Moraes, M., Øllgaard, B., Kvist, L. P., Borchsenius, F., & Balslev, H. (Eds.), *Botánica Económica de los Andes Centrales* (pp. 162–187). La Paz.
- Aguirre, Z., Linares-Palomino, R., & Kvist, L. P. (2006). Especies leñosas y formaciones vegetales en los bosques estacionalmente secos de Ecuador y Perú. *Arnaldoa*, 13(2), 324-350.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). *Seeds. Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Academic Press.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Kentucky, USA: Elsevier
- Best, B. J., & Kessler, M. (1995) Biodiversity and conservation in Tumbesian Ecuador and Peru. Cambridge, BirdLife International. U.K.
- Boelcke, O. (1946). Estudio morfológico de las semillas de Leguminosas Mimosoideas y Caesalpinioideas de interés agronómico en la Argentina. *Darwiniana*, 7(2), 240-322.

escarificación natural inmediata, la producción de semillas duras contribuye a la dispersión temporal de la germinación, evitando los riesgos de germinación sincrónica de todo el banco de semillas (De Souza & Marcos-Filho, 2001), permitiendo a la especie mantener un banco vivo de semillas durante algunos años.

## Conclusiones

Los rasgos evaluados en las semillas de *C. glabrata* le permiten a la especie tener un alto potencial de éxito reproductivo en condiciones de mayor aridez ambiental en un bosque seco, y la capacidad de sobrevivir por mucho tiempo como semillas ante posibles cambios o aumentos de temperaturas pronosticados para los próximos años.

La poca variación en el tamaño de las semillas, las características de las testas, el tipo de embrión y dormición, así como el comportamiento germinativo de *C. glabrata* son rasgos que podrían funcionar como una estrategia eficaz para aprovechar al máximo las condiciones de poca humedad y minimizar el riesgo de morir durante la época de mayor aridez del bosque seco. Finalmente, las características morfofisiológicas de las semillas de *C. glabrata* le permiten ser una especie con potencial para su uso en programas de reforestación y restauración del bosque seco ecuatoriano, además de poder conservar *ex situ* sus semillas a largo plazo.

## Agradecimientos

Al personal y estudiantes que han formado parte del Banco de Semillas de la Universidad Técnica Particular de Loja y que han participado en la colección de las semillas. Así mismo, agradecemos las contribuciones de los revisores anónimos que ayudaron a mejorar versiones previas del trabajo.

*Fin de la versión en español*

- Dalling, J. W. (2002). Ecología de semillas. In: Guariguata, M., & Kattan, G. (Eds.), *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. (pp. 346-375). Costa Rica: Ediciones LUR.
- De Souza, F. H. D., & Marcos-Filho, J. (2001). The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 24(4), 365-375. doi: 10.1590/S0100-84042001000400002
- Escala, J. M. (1994). Estudio morfoanatômico de frutos y semillas de leguminosas de los altos llanos centrales de Venezuela (Estación Biológica de los Llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales). *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* (pp. 346-375), Costa Rica: Ediciones LUR.

- Escala, J. M. (1994). Estudio morfoanatómico de frutos y semillas de leguminosas de los altos llanos centrales de Venezuela (Estación Biológica de los Llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales). *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*, 44(148), 259-316.
- Espinosa, C. I., Cabrera, O., Luzuriaga, A., & Escudero, A. (2011). What Factors Affect Diversity and Species Composition of Endangered Tumbesian Dry Forests in Southern Ecuador?. *Biotropica*, 43, 15-22.
- Fenner, M., & Thompson, K. (2005). *The Ecology of Seeds*. New York, USA: Cambridge University Press.
- Forbis, T. A., Floyd, S. K., & De Queiroz, A. (2002). The evolution of embryo size in angiosperms and other seed plants: implications for the evolution of seed dormancy. *Evolution*, 56(11), 2112-25. doi: 10.1111/j.0014-3820.2002.tb00137.x
- Geritz, S. A. (1995). Evolutionarily stable seed polymorphism and small-scale spatial variation in seedling density. *American Naturalist*, 146, 685-707.
- Groom, A. (2012). *Libidibia glabrata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012. doi: 10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T19891907A20031656.
- Haig, D., & Westoby, M. (1988). Inclusive fitness, seed resources, and maternal care. In: Lovett-Doust, J. & Lovett-Doust, L. (Eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and strategies* (pp. 60- 79). Oxford: Oxford University Press.
- Hart, D. L., & Clark, A. G. (2007). *Principles of Population Genetics*. Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc, Publishers.
- Jørgensen, P. M., & León-Yáñez, S. (1999). *Catalogue of the vascular plants of Ecuador*. Missouri, USA: Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden.
- Jurado, E., & Flores, J. (2005). Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits?. *Journal of Vegetation Science*, 16(5), 559-564.
- Kaplan, E. L., & Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*, 53(282), 457-481.
- Kitajima, K. (1996). Cotyledon functional morphology, patterns of seed reserve utilization and regeneration niches of tropical tree seedlings. In: Swaine, M. D. (Ed.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*. Paris, France: Parthenon Publishing Group.
- Khurana, E. K., & Singh, J. S. (2001). Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environmental conservation*, 28(01), 39-52.
- Lasseigne, A. (2001). *Caesalpinaceae Vol. I: Caesalpinia, Haematoxylum, Prioria, Schizolobium*. Missouri, USA: Missouri Botanical Garden.
- Leon-Lobos, P., Way, M., Aranda, P. D., & Lima, M. (2012). The role of ex situ seed banks in the conservation of plant diversity and in ecological restoration in Latin America. *Plant Ecology & Diversity*, 5(2), 245-258. doi: 10.1080/17550874.2012.713402
- Lohbeck, M., Lebrija-Trejos, E., Martínez-Ramos, M., Meave, J. A., Poorter, L., & Bongers, F. (2015). Functional trait strategies of trees in dry and wet tropical forests are similar but differ in their consequences for succession. *PLoS one*, 10(4), e0123741. doi: 10.1371/journal.pone.0123741
- Martin, A. C. (1946). The comparative internal morphology of seeds. *American Midland Naturalist*, 36(3), 513-660.
- Miller, M. F. (1995). Acacia seed survival, seed germination and seedling growth following pod consumption by large herbivores and seed chewing rodents. *African Journal of Ecology*, 33, 194-210.
- Miles, L., Newton, A. C., DeFries, R. S., Ravilious, C., May, I., Blyth, S., Kapos, V., & Gordon, J. E. (2006). A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography*, 33(3), 491-505. doi: 10.1111/j.1365-2699.2005.01424.x
- Morrone, J. J. (2014). Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, 3782(1), 1-110. doi: 10.11646/zootaxa.3782.1.1
- Murphy, G. P., & Lugo, E. A. (1986). Ecology of tropical dry forest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17, 67-88.
- McGinley, M. A., Temme, D. H., & Geber, M. A. (1987). Parental investment in offspring in variable environments: theoretical and empirical considerations. *American Naturalist*, 130, 370-398
- Parker, T. A., & Carr, J. L. (1992). *Status of forest remnants in the Cordillera de la Costa and adjacent areas of southwestern Ecuador*. Washington D.C.: Conservation International.
- Pritchard, H. W., Daws, M. I., Fletcher, B. J., Game'ne, C. S., Msanga, H. P., & Omondi, W. (2004). Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical African dryland trees. *American Journal of Botany*, 91, 863-870.
- Romero-Saritama, J. M. (2015). Rasgos morfológicos de frutos, semillas y embriones de *Cinchona officinales* L. (Rubiaceae) en el sur del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 36, 27-35.
- Romero Saritama, J. M., & Pérez-Ruiz, C. (2016a). Rasgos morfológicos regenerativos en una comunidad de especies leñosas en un bosque seco tropical tumbesino. *Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 64(2), 859-873. doi: 10.15517/rbt.v64i2.20090
- Romero-Saritama, J. M., & Pérez Ruiz, C. (2016b). Rasgos morfológicos de semillas y su implicación en la conservación *ex situ* de especies leñosas en los bosques secos tumbesinos. *Ecosistemas*, 25(2), 59-65. doi: 10.7818/ECOS.2016.25-2.07
- R Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Sánchez T, O., Kvist, L. P., & Aguirre, Z. (2006). Bosques secos en Ecuador y su diversidad. In: Moraes, M., Øllgaard, B., Kvist, L. P., Borchsenius, F., & Balslev, H. (Eds.), *Botánica Económica de los Andes Centrales* (pp. 188-204). La Paz.
- Sánchez, A. M., Luzuriaga, A. L., Peralta, A. L., & Escudero, A. (2014). Environmental control of germination in semi-arid Mediterranean systems: the case of annuals

- on gypsum soils. *Seed Science Research*, 24(3), 247-256. doi: 10.1017/S0960258514000154
- Therneau, T. M., & Grambsch, P. M. (2000). *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model*. New York: Springer-Verlag.
- Ulibarri, E. A. (1996). Sinopsis de *Caesalpinia* y *Hoffmannseggia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) de Sudamérica. *Darwiniana*, 34, 299-348.
- Vandelook, F., Verdú, M., & Honnay, O. (2012). The role of seed traits in determining the phylogenetic structure of temperate plant communities. *Annals of Botany*, 110(3), 629-36. doi: 10.1093/aob/mcs121
- Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1993). Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 24, 69-87.
- Venable, D. L., & Brown, J. S. (1988). The selective interactions of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *American Naturalist*, 131, 360-384.
- Vivrette, N. J. (1995). Distribution and ecological significance of seed-embryo types in Mediterranean climates in California, Chile, and Australia. In M. Kalin, P. Zedler, & M. Fox (Eds.), *Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California, and Australia* (pp. 274-288). New York: Springer.
- Yates, M. L., Andrew, N. R., Binns, M., & Gibb, H. (2014). Morphological traits: predictable responses to macrohabitats across a 300 km scale. doi: 10.7717/peerj.271