EVALUACIÓN DE MÉTODOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE SEMILLAS, EN LAUREL DE CERA (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur

JOSÉ EVER MELO CERÓN

UNIVERSIDAD DE NARIÑO FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA SAN JUAN DE PASTO 2004

EVALUACIÒN DE MÉTODOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE SEMILLAS, EN LAUREL DE CERA (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur

JOSÉ EVER MELO CERÓN

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar el titulo de Ingeniero Agrónomo

Presidente Tesis
HERNANDO CRIOLLO E. I.A. M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA SAN JUAN DE PASTO 2004 "Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son de responsabilidad exclusiva de sus autores".

Artículo 1. Del acuerdo N. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable consejo directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación
Jairo Muñoz Hoyos
Asesor docente
Carlos Betancourt García
Jurado
Javier García Alzate
Jurado

San Juan de Pasto, Marzo de 2004

DEDICATORIA

A mis padres José E. Melo Ruiz, Flor Alba Cerón Delgado. A mi hijo José Gabriel Melo Basante.

JOSÉ EVER MELO CERÓN

AGRADECIMIENTOS

HERNANDO CRIOLLO ESCOBAR I.A. M.Sc JAIRO MUÑOZ HOYOS I.A. M.Sc PLAN DE INVESTIGACIÓN FOMENTO E INDUSTRIALIZACIÓN DEL LAUREL DE CERA (PIFIL) CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA (CORPOICA)

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en la realización del presente trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	17
1. OBJETIVOS	18
1.1 OBJETIVO GENERAL	18
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	18
2. REVISION DE LITERATURA	19
2.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN	19
2.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA	19
2.3. ASPECTOS BOTÁNICOS	19
2.4. ASPECTOS ECOLÓGICOS	21
2.5. ÉPOCA DE PRODUCCIÓN	21
2.6. SEMILLA DE LAUREL	22
2.7. ANATOMÍA Y MORFOLOGÍA DE LA SEMILLA	27
2.8. CALIDAD DE LA SEMILLA	24
2.8.1. Sanidad de la Semilla	24
2.8.2 Capacidad de Germinación	24
2.8.3. Factores que afectan la Germinación	24
2.8.4. Sustratos para la Germinación	25
2.8.5. Viabilidad	25
2.8.6. Contenido de Humedad	26
2.8.7. Determinación del contenido de Humedad	26

2.8.8. Vigor	27
2.8.9. Calidad Física	27
2.9. DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD DE SEMILLAS CON TETRAZOLIO	29
2.10. CARACTERIZACIÓN DEL LOTE DE SEMILLAS	29
2.10.1 Recolección de semillas de poblaciones naturales	29
3. MATERIALES Y METODOS	31
3.1. LOCALIZACIÓN	31
3.2. METODOLOGÍA	31
3.2.1. Selección del lote de Semilla	31
3.2.2. Determinación del contenido inicial de humedad de la semilla	31
3.2.3. Prueba de Germinación	32
3.2.4. Análisis de viabilidad con tetrazolio	33
3.2.5. Ensayo de Vigor	33
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	33
3.3.1 Prueba de Germinación	33
3.3.2 Prueba de Viabilidad con Tetrazolio	34
3.3.3 Prueba de Vigor	34
3.4. EVALUACIÓN	35
3.4.1. Prueba de Germinación	35
3.4.2. Prueba de Vabilidad con Tetrazolio	36
3.4.3. Prueba de Vigor	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38

4.1.	PRUEBA DE GERMINACIÓN	38
4.2.	ANÁLISIS DE VIABILIDAD CON TETRAZOLIO	45
4.2.1.	Interacción Concentración por Temperatura	45
4.2.2.	Interacción Temperatura por Tiempo	46
4.2.3.	Interacción Concentración por Tiempo	49
4.2.4.	Interacción Tiempo por Concentración por Temperatura	50
4.3.	ENSAYO DE VIGOR	52
5. CC	DNCLUSIONES	55
6. RE	COMENDACIONES	56
BIBLIC	OGRAFIA	57
ANEX	os	59

LISTA DE CUADROS

	pág
Cuadro 1. Prueba de comparación de promedios de Tukey para porcentaje de germinación con diferentes temperaturas en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	38
Cuadro 2. Prueba de comparación de promedios de Tukey para porcentaje de germinación con diferentes contenidos de humedad de la semilla en Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	42
Cuadro 3. Porcentaje de viabilidad en semillas no germinadas durante la prueba de germinación en semillas de Laurel de cera (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur	43
Cuadro 4. Prueba de comparación de promedios de Tukey para la interacción concentración de tetrazolio por temperatura en el porcentaje de viabilidad en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) <i>Wilbur</i>	45
Cuadro 5. Prueba de comparación de Tukey para la interacción de temperatura por tiempo en la evaluación del porcentaje de viabilidad de la semilla de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	47
Cuadro 6. Prueba de comparación de promedios de Tukey para la interacción concentración de tetrazolio por tiempo en la evaluación de porcentaje de viabilidad en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) <i>Wilbur</i>	49
Cuadro 7. Interacción tiempo por concentración de tetrazolio por temperatura en la evaluación de métodos para determinar la calidad de semillas en Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex willd</i>) Wilbur	51
Cuadro 8. Índice de vigor según Edmon y Draphala (1958), en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur</i>	53

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Porcentaje de germinación a 20 ° C con diferentes porcentajes de humedad de las semillas en Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	32
Figura 2. Porcentaje de germinación a 30 ° C con diferentes porcentajes de humedad de las semillas en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	39
Figura 3. Interacción concentración – temperatura sobre la viabilidad de semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	40
Figura 4. Interacción del tiempo-temperatura sobre la viabilidad en semillas de Laurel de cera (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur	46
Figura 5. Interacción del tiempo y diferentes concentraciones de tetrazolio sobre la viabilidad en semillas de laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	48
Figura 6. Efecto del tiempo y diferentes concentraciones de tetrazolio Sobre la viabilidad en semillas de Laurel (<i>Morella pubescens H.& B. Ex Willd</i>)	50

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Porcentaje de germinación diaria a 20°Cen Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) <i>Wilbur</i>	60
Anexo B. Porcentaje de germianción diaria a 30°C en Laurel de Cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur</i>	61
Anexo C. Análisis de varianza para el variable porcentaje de germinación en la evaluación de métodos para determinar, la calidad de semillas en Laurel de cera (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur	62
Anexo D. Análisis de varianza para la variable porcentaje de viabilidad en la evaluación de métodos para determinar, la calidad de semillas en Laurel de cera (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur	63
Anexo E. Porcentaje de germianción en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) <i>Wilbur</i> a diferentes temperaturas del ensayo y porcentaje de humedad de la semilla.	64
Anexo F. Porcentaje de germinación diaria para la prueba de vigor en semillas de Laurel de cera (<i>Morella pubescens H. & B. Ex Willd</i>) Wilbur	65

RESUMEN

La recolección de la semilla se realizó en la vereda Guarangal del municipio de San José de Alban; una vez cosechada la semilla se secó a la sombra, se seleccionó, se escarificó y posteriormente se procedió a medir el porcentaje de humedad de la semilla.

La prueba de germinación se realizó en el laboratorio de la corporación colombiana de investigación agropecuaria "CORPOICA"; la prueba de viabilidad y vigor se realizaron en el laboratorio de fisiología vegetal e invernadero de la Universidad de Nariño.

El diseño experimental para la prueba de germinación correspondió a un diseño DIA con un arreglo factorial de dos factores (Porcentaje de humedad de la semilla y temperatura del ensayo); para la prueba de viabilidad se aplicó el diseño DIA con un arreglo factorial de tres factores (temperatura del ensayo, porcentaje de humedad de la semilla y concentración de tetrazolio); y para la prueba de vigor se evaluó el índice de vigor de la semilla.

Los parámetros de evaluación para la prueba de germinación fueron porcentaje de plántulas normales, porcentaje de plántulas anormales y porcentaje de semillas muertas; para la prueba de viabilidad se evalúo el porcentaje de semillas viables y porcentaje de semillas no viables y para la prueba de vigor se evaluó la velocidad de emergencia y el número de plantas emergidas por día.

El mejor tratamiento para la prueba de germinación correspondió al tratamiento 20 ° C y humedad de la semilla del 16.4 % con un porcentaje de germinación del 31.5 %. Para la prueba de viabilidad se obtuvo el mayor porcentaje con los tratamientos concentración del tetrazolio del 1 % por una hora y con una temperatura de 20 ° C el porcentaje de viabilidad fue de 31.92 %. Para la prueba de vigor los mejores tratamientos correspondieron a 15.1 y 16.4 % de humedad de la semilla con un Índice de vigor de 37.1 y 38.6 respectivamente.

El análisis viabilidad con tetrazolio realizado aquellas semillas no germinadas durante los ensayos de germinación y vigor, permitieron confirmar la existencia de un bajo nivel de latencia; encontrándose porcentajes máximos de 17 y 28 % respectivamente.

ABSTRACT

The seed collection was carried out into Guarangal footpath of municipality of San José de Alban. When seed was collected, it was dried to shadow, it was selected, scarifiered, and finally it was measured the percentage seed humidity.

The germination tes was carried out in the laboratory of Colombia corporation of animal and farming husbandry research "CORPOICA". The viability and vigor tests were made in laboratory of vegetal physiology and greenhouse of the University of Nariño.

The experimental design to germination test involved a DIA design with a factorial arrangement of two factors (Percentage of humidity seed and trial temperature). To viability test, the DIA design was applied with a factorial arrangement of three factors (trial temperature, percentage seed humidity and tetrazolie concentration); and to vigor test was tested the rate of seed vigor.

The parameters of evaluation to germination trial were percentage normal plantules, percentage anomal plantules and percentage of died seeds; to viability trial, it was tested the percentage of viable seeds and percentages of non-viable seeds. To vigor trial, it was tested emergence speed and number of plants emerged a day.

The best treatment to germination trial was to treatment to germination trial was to treatment 20°C and seed humidity of 16.4% with a percentage germination of 31.5%. to viability trial, it was obtained the highest percentages whit the concentration treatments of totrazolie of 1% by a hour and with a temperature of 20°C, the percentage viability was 31.92%. To vigor trial, the best treatments involved a 15.1 and 16.4% of seed humidity with a vigor rate of 37.1 and 38.6, respectively.

The viability analysis with tetrazolie made in those seeds non-germinated during the germination and vigor trials, allowed to confirm the existence of a low of latency; by finding some maximal percentage 17 and 28% respectively.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la especie (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur, conocida como Laurel de cera, se ha destacado por tener gran aceptación por los agricultores y profesionales dedicados a promover programas de reforestación y recuperación de suelos, gracias a la "presencia de nódulos radicales que fijan Nitrógeno" y también a la producción de cera de sus frutos, convirtiéndola en una planta de doble propósito muy útil para la plantación de sistemas agroforestales.

Sin embargo, una de las principales limitantes para la propagación masiva de esta especie lo constituye el bajo poder germinativo de la semilla, hecho que conllevó al planteamiento y realización de este estudio que tiene como fin principal estudiar tecnologías de semillas, aplicable a Laurel de cera (*Morella pubescens H. & B. Ex Willd*) *Wilbur*.

En el presente trabajo se evaluaron las tres variables más importantes para medir la calidad de una semilla: germinación, viabilidad y vigor. No obstante, se tuvieron en cuenta los principios básicos de recolección de semillas, muestreo y selección de las mismas, buscando la uniformidad del lote de semilla evaluada.

¹ TREJOS, Arturo. Estudio sobre el palomo torcaz, roble, mimillo, o palomito (*Myrica sp*). Caracas : Ministerio de Cría. Dirección de Recursos Renovables, División de Ejecución de Programas, 1960. p. 25.

17

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar tecnologías de semillas, aplicable a Laurel de cera (*Morella pubescens H.* & *B. Ex Willd*) *Wilbur.*

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar diferentes metodologías de medición de calidad a las semillas de Laurel de cera y correlacionarlas con pruebas de vigor.
- Proponer una metodología adecuada para la evaluación de la calidad de semillas de Laurel de cera.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

"El laurel de cera (<u>Myrica pubescens</u> H.B.K) pertenece a un género numeroso de especies, difundido por el trópico con exclusión de Australia; las especies se pueden encontrar desde 1600 hasta 3200 msnm².

Parra afirma que:

En Colombia el Laurel de cera se encuentra en los departamentos de Antioquía, Boyacá, Caldas, Caquetá, Cauca, Cesar, Chocó, Cundinamarca, Guajira, Huila, Magadalena, Nariño, Norte de Santander, Putumayo, Quindio, Risaralda, Santander, Tolima y Valle del Cauca, en un rango altitudinal de 1700 a 3900 msnm la presencia de esta especie a 1500 msnm se ha registrado en una colección en el municipio de la Plata Huila³.

2.2 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

Reino: Vegetal

División: Angiosperma

Orden: Miricales o jungladales

Clase: Dicotiledonea Subclase: Arquiclamidea

Familia: Miricacea

N.C.: (Morella pubescens H. & B. Ex Willd) Wilbur.

2.3 ASPECTOS BOTÁNICOS

Según Herrera⁴: "los laureles de cera son monoicos, de flores unisexuales y desnudas, producen ramos de frutos escamosos y duros los cuales por calefacción de agua y decantación, producen en forma popular la cera de laurel".

² PEREZ, Enrrique. Plantas útiles de Colombia. Bogotá: Talleres de Sucesores de Rivadeneira, 1956. p. 38

³ PARRA, Carlos. Taxonomía del género Myrica (MYRICAE) en Colombia. Santa Fe de Bogotá, 1998, p 7. Trabajo de grado (Biólogo). Pontificio Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.

⁴ HERRERA, Juan. Cómo se cultiva el laurel y cómo se aprovecha en la industria. Bogotá: El Agricultor, 1953. p 25.

"El laurel de cera (<u>Myrica pubescens</u> H.B.K) es un arbusto o árbol pequeño que en algunos sitios, puede alcanzar una altura de siete metros, su sistema radicular es muy extenso (presenta nódulos radiculares que fijan nitrógeno)"⁵.

Caratini, afirma que:

Las hojas son simples, alternas sin estipulas, estrechamente elípticas de hasta 15 cm de largo y cuatro centímetros de ancho; base y ápice agudos, borde aserrado, haz glabra y glabascente y envés pubescente. Las flores son unisexuales, pequeñas, carentes de color, protegidas individualmente por varias bracteas, se disponen en amentos axilares sobre ramas diferentes de la misma planta, los gametos femeninos tienen un tamaño equivalente al doble o más que los masculinos⁶.

Según Parra, el Laurel de cera:

Es una planta monoica de amentos andróginos, con flores femeninas y masculinas en el mismo eje, dispuestas en un raquis cilíndrico o a veces aplanado sobre las axilas de las hojas, en donde las flores femeninas se ubican en el ápice del amento en un número de cuatro a siete o mas (dependiendo de la longitud del amento), y las masculinas en la base del mismo en menor número; cada una de las flores masculinas se encuentran constituidas por tres bracteas, una principal de forma triangular y dos secundarias de forma triangular o lanceoladas; el número de estambres varía de cuatro a nueve.

Muñoz, afirma que:

En el momento de la antesis, se observan las flores unisexuales apétalas, muy pequeñas y dispuestas en amentos axilares sobre las ramas del arbusto, las flores femeninas se disponen en el ápice del amento, en número variado, carente de corola y protegidos individualmente por una a tres bracteas, ovario súpero, pubescente, bicarpelar, unilocular, de color verde amarillento; las flores masculinas se disponen en la base del amento en un número inferior a las flores femeninas, con cuatro o nueve estambres en un mismo verticilo, y protegidos individualmente por una bractea triangular, las anteras presentan una coloración amarilla⁸.

⁷ PARRA, Op.cit, p. 5

⁵ CARATINI, Rocio. La vida de las plantas. Barcelona: Argos, 1970. p 15.

⁶ Ibid., p. 36

2.4 ASPECTOS ECOLÓGICOS

El laurel de cera crece perfectamente en áreas disturbadas donde la competencia con otras especies es escasa, no obstante una vez han alcanzado cierto desarrollo admite la presencia de especies arbustivas y arbóreas acompañadas como: pumamaque (<u>Oreuponax discolor</u>), amarillo (<u>Micoria orcheotoma</u>), salado (<u>Hedyosum translucidum</u>) y otras en zonas altas, para zonas bajas guarango (<u>Mimosa quitensis</u>), cujaco (<u>Solanum ovalifolium</u>), cucharillo (<u>Myrsine coriacea</u>) y otros⁹.

El laurel de cera (<u>Myrica pubescens</u> H.B.K)) se adapta a una gran diversidad de suelos fértiles o incluso estériles, debido a la capacidad de fijar nitrógeno por medio de nódulos, tolerando un gran rango de pH¹⁰.

2.5 ÉPOCA DE PRODUCCIÓN

La mayoría de árboles de laurel empiezan a producir a los tres años de sembrados, pueden producir hasta los ocho años, obteniéndose la mayor producción cuando tienen seis años. La época principal de cosecha esta comprendida entre los meses de junio a septiembre, en zonas más bajas puede producir en el mes de mayo 11.

Muñoz et al., manifiestan que:

La semilla esta lista para cosechar cuando adquiere un color grisáceo y cuando al frotarla en las manos no desprende mucha tinta. La cosecha consiste en despuntar las ramas de los árboles y posteriormente sacudirlas para que la semilla caiga, otro método utilizado es el de "ordeñar" las ramas sin cortarlas. El rendimiento promedio es de 1.5 Kg en árboles de tres años y de 25 Kg en los de seis años ¹².

⁸ MUÑOZ, Zaida. Determinación de la madurez fisiológica de semillas de Laurel de cera (*Myrica pubescens H. & B.K. ex Willd*). Pasto, 2000, 22 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

⁹ TREJOS. Op.cit., p. 30.

¹⁰ Ibid., p. 15.

¹¹ MUÑOZ, HOYOS. Jairo., et al. Análisis de la producción de laurel (*Myrica pubescens H.B.K.*), y de la comercialización de la cera en algunos Municipios del Departamento de Nariño. Pasto, 1993, 38 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

¹² Ibid., p. 13.

2.6 FRUTO DE LAUREL

El tamaño del fruto del laurel es de 0,4 cm de diámetro, de color verde grisáceo cuando madura, cuenta con una cubierta o testa impermeable al oxígeno o al agua, lo que puede dificultar el desarrollo del embrión¹³.

Muñoz, dice:

Que al completar 150 días después de la antesis el fruto se encuentra recubierto por una capa de cera totalmente formada; esta capa presenta coloración cenizo claro y al frotar esta capa el color del fruto es marrón, de superficie rugosa; el diámetro alcanzado por el fruto con cera es 4.72 mm; la cera se desprende fácilmente sin dejar tinta en los dedos, el pedúnculo presenta una consistencia leñosa, de color café fácilmente desprendible 14.

El mesocarpo presenta un color amarillo sin variación del espacio ocupado respecto al embrión. El exocarpo del fruto presenta una consistencia leñosa característica, de color café; la semilla no presenta endospermo y las funciones de éste son cumplidos por los cotiledones; debido a esta condición, los cotiledones son la estructura de la semilla que se observa mejor diferenciada por su volumen considerable, y el cual crece aceleradamente en los primeros periodos para mantenerse estable después de los 120 días después del amento ¹⁵.

Bravo, Castillo y Chávez¹⁶, afirman que un gran número de especies forestales incluyendo el laurel de cera presentan graves limitaciones de latencia.

En estudios realizados se evaluó el porcentaje de germinación de semillas de laurel de cera, sometidas a varios mecanismos de escarificación: mecánica, química y fermentativa, concluyendo que la escarificación mecánica ofrece mejores resultados en cuanto a porcentaje de germinación, longitud y tiempo de emergencia¹⁷.

¹³ HERRERA, Op.cit., p. 48.

¹⁴ MUÑOZ, Op.cit., p 42.

¹⁵ Ibid., p. 60.

BRAVO, Alvaro, CASTILLO, Alvaro y CHAVÉZ. Germán. Evaluación de tres métodos sobre la pregerminación de semillas de laurel (<u>Myrica pubescens</u> H.B.K). Pasto, 1996, 48 p. Trabajo de grado (Ingeniería Agronómica). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

MIRANDA, Jorge y TORRES, Cesar. Evaluación de tres métodos de escarificación en semillas de laurel de cera (*Myrica pubescens*), en el municipio de Pasto (Nariño). Pasto, 1997, 42 p. Trabajo de postgrado, (Especialista en Biología). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencia Naturales y Matemática. Programa de Biología.

Bravo, Castillo y Chávez:

Evaluaron métodos pregerminativos en semilla de laurel de cera para acelerar la germinación consistentes en eliminación de cera utilizando solventes orgánicos, eliminación de posibles inhibidores e inducción a la germinación utilizando ácido giberélico y cinética; concluyendo que el método de eliminación de posibles inhibidores fue el de mejor resultado mediante la inmersión de semillas en agua, con cambio diario durante períodos de 15 a 30 días con lo cual aumenta la velocidad de emergencia y la proporción de germinación¹⁸.

Morales, evaluó:

El efecto de la temperatura sobre la germinación del Laurel de Cera; se evaluaron los efectos de tratamiento de combustión directa con choque térmico, calentamiento en seco (100 y 2000 ° C), y estratificación, obteniéndose los mejores resultados con el testigo con una capacidad de germinación del 90% en 45 días; el tratamiento que recibieron las semillas consistió en: Recolección, secado en sombra por 24 horas, escarificación mecánica, desinfección y almacenado en nevera por un mes¹⁹.

Muñoz et al., asegura que:

Las semillas son dispersadas por aves que consumen los frutos, o caen directamente al suelo donde germinan dando lugar a la formación de grupos de tamaño variable, generalmente pequeños y ralos en el interior del bosque y densos y de tamaño variable en sitios descubiertos. Los brinzales por lo común se encuentran en un radio mayor de 12 m, de la planta madre, lo que hace que la especie presente una distribución agregada²⁰.

2.7 ANATOMÍA Y MORFOLOGÍA DE LA SEMILLA

Las semillas de Myricaceae tienen su origen en los óvulos ortótropos, crasinucelados, y unitegumentado con 4-7 células de grueso; las semillas maduras son pequeñas, globosas, ovoides esféricas u oblongo-ovales; agudas en el ápice y redonda en la base; desnudas; cubierta

¹⁸ BRAVO y CHAVÉZ, Op.cit. p. 70.

MORALES, Karen. Evaluación del efecto de la temperatura sobre la germinación de Laurel de cera (Myrica pubescens Willd). Santa Fe de Bogotá, 1998, 125 p. Trabajo de grado (Biólogo). Pontificio Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología.

²⁰ MUÑOZ, HOYOS, et al., Op.cit., p. 16.

seminal delgada, membranosa; el color varia de naranja oscuro a castaño rojizo; hilo diminuto, basal; perispermo ausente; exalbuminosas; endospermo nuclear, posteriormente celular, efímero, no como un tejido de almacenamiento o persistente como una simple capa de células con aceite y proteínas. Testa no multiplicativa apiñada como una capa compacta de células con paredes más o menos gruesas. La testa de la semilla puede ser paquichalazal o poschalazal con ramificaciones que alcanza casi el micrópilo. Paquete vascular en el rafe muy corto; hipostasa con células lignificadas. Esta provista de 2 cotiledones carnosos, plano conversos, radícula corta, superior. En (*Myrica gale*) la fertilización se demora varias semanas después de la polinización según anuncia Niembro, Pinzón, citados por Morales²¹.

2.8 CALIDAD DE LA SEMILLA

Thomson²² describe varios componentes para determinar la calidad de la semilla entre las cuales destaca: sanidad de la semilla, capacidad de germinación, vigor, viabilidad, contenido de humedad y otros.

- **2.8.1 Sanidad de la semilla.** Este es importante para controlar enfermedades y así asegurar una buena implantación en el campo. Algunos organismos parásitos se transmiten de año a año a través de la semilla. A tales enfermedades se les denomina trasmitidos por semilla. La sanidad se logra mediante tratamientos químicos o con la recolección de semillas en cultivos sanos²³.
- **2.8.2 Capacidad de germinación.** Una alta pureza no sirve para nada si las semillas son incapaces de germinar y de producir plántulas fuertes en el campo²⁴.

La capacidad germinativa de un lote es el porcentaje de semillas que producen plántulas normales en un ensayo de laboratorio por número de semillas puras, despreciándose las semillas débiles o anormales ²⁵.

2.8.3 Factores que afectan la germinación. Entre los factores mas importantes que afectan la germinación el agua, la temperatura, el oxigeno y la luz. El agua es la primera condición para la germinación; la temperatura es el segundo requisito que afecta tanto el porcentaje de germinación como la energía germinativa ²⁶.

²¹ MORALES, Op.cit., p. 8.

²² THOMSON, Jhosep. Introducción a la tecnología de las semillas. España: Acribia, 1979. p. 2.

²³ Ibid., p. 11.

²⁴ Ibid., p. 5.

²⁵ Ibid., p. 5.

²⁶ POPINIGIS, Flavio. Fisiología da semente. Brasilia : Agilplan, 1977. p. 67.

El proceso germinativo requiere un suplemento de energía que es formada por reacciones oxidativas determinada por la presencia o ausencia de oxigeno. La mayoría de semillas de plantas germinan tanto en la oscuridad como en la luz; sin embargo, la exigencia de luz para germinar por parte de determinadas especies puede estar relacionada con un tipo de dormancia²⁷.

2.8.4 Sustratos para germinación. Como sustrato se puede utilizar papel absorbente o arena, entre otros, los cuales proporcionan unas condiciones ideales de humedad para la germinación de semillas²⁸.

Los recipientes para arena usados mas comúnmente son cajas de cartón con dimensiones de 11,4 x 11,4 x 3,8 cm y de 21,6 x 21,6 x 4,4 cm²⁹.

2.8.5 Viabilidad. Hartman y Kester, aseguran que:

Una provisión de semillas viables es primordial para tener éxito en la propagación por semilla, sin embargo la diferencia entre una semilla viva y una muerta no esta bien marcada, sino caracterizada por una declinación gradual en vigor y por la aparición de necrosis o lesiones en un área localizada de la semilla. La viabilidad ésta representada por el porcentaje de germinación, el cual expresa el número de plántulas que puede producir un número dado de semillas³⁰.

Las características adicionales de la viabilidad, son de que la germinación debe ser pronta, el crecimiento de las plántulas vigoroso y el aspecto de las mismas normal; por lo tanto, el vigor de las semillas y de las plántulas son atributos importantes de la calidad, pero pueden ser algo difíciles de medir ³¹.

La reducción de estas características puede ser el resultado de diferencias genéticas entre cultivares, desarrollo incompleto de la semilla en la planta, lesiones durante la cosecha, manejo y almacenamiento inapropiados, enfermedades y envejecimiento. La pérdida de viabilidad, por lo regular va precedida por un período de declinación de vigor³².

²⁷ Ibid., p. 69.

²⁸ THOMSON, Op.cit., p. 243.

²⁹ Ibid., p. 243.

³⁰ HARTMAN, Hudson, y KESTER, Darson. Propagación de plantas. 2 ed. México: Continental, 1981. p. 135.

³¹ Ibid., p. 152.

³² Ibid., p. 152.

2.8.6 Contenido de humedad. La cantidad de agua de una semilla varia continuamente según las condiciones ambientales por cuanto es un punto clave en la conservación de la capacidad germinativa de las semillas; sin embargo, esta característica es de mayor importancia para el almacenista o comercializador que para el agricultor³³.

Las fluctuaciones del contenido de humedad de las semillas durante su almacenamiento reducen su longevidad; en consecuencia, el éxito de almacenar semillas en atmósferas abiertas varía mucho en las diferentes áreas climatológicas. Los climas secos conducen a la longevidad, mientras que en áreas con alta humedad relativa la vida de las semillas es más corta ³⁴.

2.8.7 Determinación del contenido de humedad. Entre los métodos para determinar la humedad de semillas están los métodos básicos, en que se extrae la humedad de las semillas por medio de calor y se mide por la pérdida de peso del material original, o por el peso o volumen de la humedad consumida³⁵.

Según Santos de Acosta³⁶, uno de los métodos más usados para determinar el contenido de humedad por calor es el método de la estufa a 105 ° C durante 17 horas.

Thomson,³⁷ afirma: "además que algunas semillas de ciertas especies pueden secarse por el método de altas temperaturas, requiriéndose una temperatura de 130 ° C durante dos a cuatro horas".

Thomson, manifiesta que:

Para llevar a cabo estos métodos las semillas necesitan ser molidas previamente, y si la muestra está muy húmeda las semillas se secan en dos fases, en un primer paso se pesa la muestra grande, se extiende en una capa fina y se deja durante la noche en un lugar seco y cálido; después de este pre-secado la muestra se pesa y se calcula el peso perdido. Esta muestra se muele entonces, sometiéndose una submuestra al método de temperatura constante normal; el contenido de

³³ THOMSON, Op.cit., p. 13.

³⁴ HARTMAN, y KESTER, Op.cit., p. 135.

³⁵ ESTADOS UNIDOS. DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. Manual para el Análisis de Calidad de Semillas. Washington: Continental, 1977. 20 p.

³⁶ SANTOS DE ACOSTA, Ramiro. Importancia y manejo del contenido de humedad. <u>En</u> Recolección y procesamiento de semillas forestales : programa de investigación en semillas de especies forestales nativas. No. 34 (1996) Bogotá; p. 47.

³⁷ THOMSON. Op.cit., P. 13.

humedad se calcula combinando las pérdidas de agua obtenida en los dos secados³⁸.

2.8.8 Vigor. Se define como la capacidad de una semilla para germinar o desarrollarse en condiciones adversas en el campo³⁹.

De acuerdo con Delouche y Caldwell, citados por Popinigis, vigor es la suma de todos los atributos de una semilla, que favorecen el establecimiento rápido y uniforme de una población en el campo⁴⁰.

Según Heydecker, citado por Popinigis⁴¹ el vigor puede expresarse de modo general de cuatro maneras:

- 1. Sobrevivencia intacta en condiciones quiescentes.
- 2. Sobrevivencia cuando es llevada al campo.
- 3. Capacidad para establecer plantas.
- 4. Capacidad de crecer.

2.8.9 Calidad Física

- **Pureza analítica.** Es una propiedad externa de las semillas, que indica qué cantidad del material recolectado, es semilla intacta de la especie; se refiere a una semilla fuera de toda mezcla tales como semillas de maleza, semillas de otros cultivos y materia inerte ⁴².
- **Análisis de pureza.** El análisis de pureza tiene como objeto, determinar la composición en peso de la muestra que se analiza y por consiguiente la composición del lote de semillas y la identidad de las distintas especies de semillas y de las partículas de materia inerte, constituyentes en la muestra ⁴³.

Según el Departament of Agriculture, el análisis de pureza tiene los siguientes pasos:

³⁹ Ibid., p. 255.

³⁸ Ibid., p. 13.

⁴⁰ POPINIGIS, Op.cit., p. 197.

⁴¹ Ibid., p. 197.

⁴² THOMSON, Op.cit. p. 2.

⁴³ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID. Reglas Internacionales para ensayo de semillas. Madrid : Ministerio de Agricultura dirección general de la producción agraria Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, 1977. p. 15.

- 1. Reducción del tamaño de la muestra.
- 2. Colocar la semilla en la superficie limpia de la mesa de trabajo.
- 3. Se retiran pequeños materiales inertes por medio de cedazos.
- 4. Se retiran pequeños materiales por viento, y manualmente.
- El porcentaje de pureza se realiza por diferencia de peso⁴⁴.
- **Tamaño.** Esta característica tiene dos componentes: tamaño propiamente dicho y uniformidad de tamaño. Estas variaciones se deben en parte a diferencias entre semillas cosechadas de diferentes plantas y en parte a diferencias entre semillas de la misma planta. La primera debida a factores genéticos y ambientales: la segunda depende de la posición en la planta o dentro de la inflorescencia 45.

El tamaño de la semilla en muchas especies es un indicativo de calidad fisiológica, de igual forma dentro del mismo lote las semillas pequeñas presentan menor germinación y vigor que las semillas de tamaño medio o grandes. 46.

• Época de cosecha. Según Thomson:

El momento de la cosecha se determina por la madurez fisiológica de la semilla. Cuando coinciden madurez fisiológica con el de cosecha no da lugar a ningún problema. Cuando las semillas son cosechadas antes de la madurez, son más pequeñas y se quedan arrugadas al secar; hay problema de separación en el beneficio, son suaves y por lo tanto, susceptibles de ser dañadas, difíciles de secar, no se almacenan bien y tienen menor vigor, que puede estar asociado con la permeabilidad de las membranas celulares⁴⁷.

La semipermeabilidad se desarrolla a medida que la semilla madura en la planta, y es importante no recogerla antes de que sea alcanzado este punto crítico. No obstante las semillas que permanecen en la planta pueden secarse demasiado y volverse quebradizas, haciéndose propensas a la ruptura en el beneficio, o se puede deteriorar su capacidad germinativa y el vigor debido a las condiciones ambientales⁴⁸.

⁴⁴ ESTADOS UNIDOS. DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. Manual para el Análisis de Calidad de Semillas. México: Herrero, 1952. p. 15

⁴⁵ THOMSON, Op.cit., p. 8.

⁴⁶ POPINIGIS, Op.cit., p. 207.

⁴⁷ THOMSON, Op.cit., P. 126

⁴⁸ Ibid., p. 126.

Por otra parte, Popinigis⁴⁹ afirma que el grado de maduración en ocasiones afecta las cualidades fisiológicas de la semilla. En especies indeterminadas, la cosecha será efectuada en épocas en que la mayor proporción de semilla tiene cualidades fisiológicas altas, así mismo estas, serán acompañadas de semillas inmaduras y otras en estado avanzado de deterioro.

2.9 DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD DE SEMILLAS CON TETRAZOLIO

Es un ensayo bioquímico con 2, 3, 5 –trifenil-tetrazolio, el cual al entrar en contacto con los tejidos vivos de la semilla forma una sustancia roja, estable y difusible (trifenil-formazon): así mismo se puede diferenciar las partes muertas de la semilla las cuales no se colorean⁵⁰.

Según Thomson⁵¹, "la reacción puede ser interrumpida por la luz o si la solución es alcalina, por otras sustancias, la solución de tetrazolio se ajusta a un pH de 6,5 y 7 y se mantiene en la oscuridad antes y después del ensayo".

El test se realiza en 24 horas, pero este tiempo puede reducirse haciendo que las semillas asimilen el reactivo bajo condiciones de vacío, manteniendo una alta temperatura durante la inmersión (30-40 ° C), o usando la sal de yodo de tetrazolio⁵².

Según el Ministerio de Agricultura de Madrid⁵³, la concentración de la solución puede ser del 0.1 al 1%; para facilitar la entrada del tetrazolio es necesario preparar la semilla, antes de introducirla a la solución, esto puede consistir en una preinmersión en agua, en quitar las capas más exteriores o cortar la semilla en mitades.

2.10 CARACTERIZACIÓN DEL LOTE DE SEMILLA

2.10.1 Recolección de Semilla de Poblaciones Naturales. La pureza genética de la mayoría de las especies puede ser alcanzada con mayor facilidad haciendo la recolección de plantaciones puras, es decir, en arboledas o grupos de plantas formadas por plantas uniformes de la misma especie y con las características deseables⁵⁴.

⁴⁹ POPINIGIS, Op.cit., p. 207.

⁵⁰ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit. p. 58.

⁵¹ THOMSON, Op.cit. p. 254.

⁵² Ibid., p. 255.

 $^{^{\}rm 53}\,$ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit. p. 58.

⁵⁴ HARTMAN y KESTER, Op.cit., p. 136.

De acuerdo con Suárez⁵⁵, no se debe incurrir en el error de observar los árboles aislados a los lados de los caminos, los cuales naturalmente tienden a tener una mejor cosecha que los árboles dentro de un rodal.

-

SUAREZ, M. Técnicas de recolección de semillas de especies típicas de interés Nacional en Colombia. En Recolección y procesamiento de semillas forestales : programa de investigación en semillas de especies forestales nativas. No. 34 (1996); p. 51.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 LOCALIZACION

Las pruebas de viabilidad y vigor se realizaron en el laboratorio de Fisiología Vegetal e invernadero de la Universidad de Nariño, y la prueba de germinación en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA laboratorio de Fitopatología, ubicados en el municipio de Pasto, departamento de Nariño, Colombia, a una altura de 2570 y 2760 msnm respectivamente.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Selección del lote de semilla. La recolección de la semilla, se realizó en la vereda Guarangal, municipio de San José de Alban (Nariño), a una altura de 2260 msnm en un lote conformado por plantas uniformes, sanas y con buena producción de semillas. La semilla se cosechó de los racimos de la parte media del árbol y de esta a su vez de su parte media; la cosecha de la semilla se hizo en el momento que presentaron un color grisáceo y teniendo en cuenta que al frotarla entre las manos no desprendieran mucha tinta. Estas semillas se seleccionaron por tamaño y color, escogiendo las de tamaño medio uniforme y aparentemente sanas; posteriormente se secaron a la sombra por dos días.

3.2.2 Determinación del contenido inicial de humedad de la semilla. El contenido de humedad se calculó luego de que se secaron lotes de 400 semillas en estufa a 130 ° C por dos horas, mediante la formula propuesta por la International Seed Testing Asosiation así:

Porcentaje de humedad =
$$\frac{(M_2 - M_3)}{(M_2 - M_1)} x 100$$

Donde:

M₁ = Peso en gramos del recipiente y su tapa

M₂ = Peso en gramos de recipiente y su tapa y el contenido (Semillas) antes del secado.

M₃ = Peso en gramos del recipiente y su tapa y el contenido (Semillas) después del secado"⁵⁶.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rule For Seed Testing: Seed Saiens an Tecnology. ISTA, 1985. p. 128.

La semilla se secó mediante períodos de tiempo de 2, 3 y 5 días a temperatura ambiente, hasta lograr el porcentaje de humedad próximo al deseado. En el momento de la recolección la semilla presentó un porcentaje de humedad del 16.37 %; se colocó la semilla escarificada a secar a temperatura ambiente y a la sombra por tres días, tiempo en el cual presentó un porcentaje de humedad del 15.11 %; tres días mas tarde, el porcentaje de humedad fue del 12.84 % en el cual se estabilizó sin perder más agua (a temperatura ambiente).

Las semillas del 15.1 y de 16.4 % de humedad se mantuvieron en cámaras e humedad hasta el momento de realización de los ensayos.

3.2.3 Prueba de Germinación. Con la semilla seleccionada se realizaron pruebas de germinación en una incubadora para semillas en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA (Figura 1); las semillas se colocaron en cajas petri utilizando un sustrato de papel absorbente para lo cual se tomaron 200 semillas previamente escarificadas según el procedimiento de Miranda y Torres, "que consistió en forrar con tela una plancha de madera sobre la que se colocó una lija número 60, con la cual se escarificó la semilla por 30 minutos" ⁵⁷.





⁵⁷ MIRANDA y TORRES, Op. cit., p. 18.

32

Las 200 semillas fueron repartidas en cuatro repeticiones de 50 cada una. Esta prueba se realizó teniendo en cuenta los siguientes tratamientos:

• Temperatura: 20, 30 y 40 ° C.

• Porcentaje de humedad de la semilla: 12.8, 15.1 y 16.4%

3.2.4 Análisis de Viabilidad con Tetrazolio

Procedimiento:

- La semilla utilizada para el ensayo fue semilla escarificada y sometida a un remojo previo por 24 horas.
- Se partieron las semillas descubriendo los embriones.
- La solución de tetrazolio fue preparada con la concentración del 0.1, 0.5 y 1 %.
- Las semillas fueron sumergidas en la solución a temperaturas de 20, 30 y 40 °
 C.
- Las semillas se mantuvieron en la solución de tetrazolio por 1, 3 y 6 horas.
- La prueba se mantuvo en completa oscuridad.
- Pasado el tiempo correspondiente, las semillas se lavaron con agua corriente.
- Se extrajeron los embriones, se colocaron en una placa y se llevaron al estereoscopio donde se mantuvieron húmedos durante la evaluación.
- **3.2.5 Ensayo de Vigor.** La semilla seleccionada fue sometida a una prueba de vigor para correlacionarla con las evaluaciones anteriores. Esta prueba se realizó sembrando cuatro repeticiones de 50 semillas de laurel, escarificadas en bandejas con un sustrato suelo arena (relación 2:1) y bajo condiciones de invernadero; para esta prueba se utilizaron bandejas plásticas perforadas en las cuales se colocó el sustrato y las semillas.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.1 Prueba de germinación. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño irrestrictamente al azar (DIA) con un arreglo bifactorial en el cual los factores fueron temperatura y humedad de las semillas.

El modelo matemático correspondió a:

$$Yij = \mu + fa + fb + fafb + Eij$$

Donde:

Fa = Factor a (temperatura); 20, 30 y 40 ° C

Fb = Factor b (contenido de humedad semilla); 12.8, 15.1 y 16.37 %.

Las variables que presentaron diferencias significativas fueron sometidas a pruebas de comparación mediante la utilización de la prueba de Tukey al 95

%.Cada tratamiento se repartió en 4 repeticiones para un total de 36 unidades experimentales; cada unidad experimental la conformaron 50 semillas.

Para la elaboración se tuvo en cuenta la cantidad de semillas germinadas y aquellas que no germinaron en los veinte días de la valoración fueron sometidas a una prueba de viabilidad con tetrazolio para determinar el estado de las semillas y catalogarlas como viables o no viables.

En esta prueba se utilizó una incubadora para semillas; cada repetición del ensayo fue colocada en cajas petri cubiertas con papel absorbente tratado con vitavax 300 sobre el cual se colocaron las semillas.

3.3.2 Prueba de viabilidad con tetrazolio. Se utilizó un diseño irrestrictamente al azar con un arreglo factorial con tres factores:

Fa = Factor a (Concentración tetrazolio); 0.1, 0.5 y 1 %.

Fb = Factor b (Tiempo de inmersión); 1, 3 y 6 horas.

Fc = Factor c (Temperatura de la solución); 20, 30 y 40 ° C.

El modelo matemático comprendió a:

 $Ti = Fa + Fb + Fc + Fa_xFb + Fa_xFc + Fb_xFc + Fa_xFb_xFc$

Cada tratamiento se dividió en 4 repeticiones para un total de 108 unidades experimentales; cada unidad experimental la conformaron 25 semillas previamente partidas de tal manera que los embriones quedaron en contacto con la solución de tetrazolio. Esta prueba se realizó en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad de Nariño.

Cada unidad experimental se colocó en una caja petri en completa oscuridad, en la solución correspondiente y en una cámara de incubación a fin de mantener una temperatura constante. Pasado el tiempo para cada tratamiento se colocaron los embriones al estereoscopio y se efectuaron las evaluaciones teniendo en cuenta la tinción del reactivo en los embriones catalogando las semillas como viables o no viables.

Las variables que presentaron diferencias significativas fueron sometidas a pruebas de comparación mediante la utilización de la prueba de signficancia de Tukey al 95 %.

3.3.3 Prueba de vigor. La evaluación de vigor se hizo con base en el criterio de número promedio de días a emergencia propuesto por Edmond y Drapala, citados por Alvarenga et al, el cual se tomó como Índice de vigor.⁵⁸

⁵⁸ ALVARENGA, et al. Influencia da Idade e Armazenamento pos Colheita dos frutos na Cualidade da Semente de Melancia. En: Horticultura Brazileira. Vol. 2, No. 2 (1984); p. 5.

En la aplicación de este criterio se aplicó la fórmula:

Siendo:

M = Número promedio de días a emergencia.

N1= Número de días al primer conteo.

G1= Plántulas normales en el primer conteo.

Nn= Número de días al n-ésimo conteo.

Gn= Plántulas normales en el n-ésimo conteo.

3.4 EVALUACIÓN

3.4.1 Prueba de Germinación

Variables a evaluar

- Porcentaje de plántulas normales
- Porcentaje de semillas muertas

Para clasificar las semillas como muertas, éstas fueron sometidas a un análisis bioquímico con tetrazolio con el fin de descartar la posibilidad de que se encontraran en estado de latencia.

Valoración: se tuvieron en cuenta las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas según el Ministerio de Agricultura de Madrid así:

Criterio de germinación: porcentaje de germinación es la proporción en número de las semillas que han producido plántulas clasificadas como normales bajo las condiciones dadas y dentro de un período.

La valorización se realizó de acuerdo a los criterios de plántulas normales y anormales.

- **a. Plántulas normales.** se consideran plántulas normales:
- Plántulas que manifiestan la capacidad para continuar su desarrollo hacia normales, cuando crecen en suelos de buena calidad y bajo condiciones favorables de agua, temperatura y luz.

- Las plántulas que posean las estructuras siguientes: un sistema radicular bien desarrollado que incluya raíz primaria, un hipocotilo bien desarrollado e intacto y/o un épicotilo sin lesiones en los tejidos conductores y una plántula normal; plántulas con ligeros defectos como: plántulas superficialmente dañadas o podridas a nivel de los órganos esenciales pero en extensión limitada y sin que afecte a los tejidos conductores; plántulas de dicotiledóneas con un solo cotiledón.
- Plántulas seriamente podridas por hongos o bacteria pero solamente si es evidente que la semilla de la cual proceden no es el foco de infección y se puede determinar que todas las estructuras están presentes.
- b. **Plántulas anormales.** Se consideran plántulas anormales:
- **Plántulas dañadas.** Plántulas con el cotiledón con constricciones, hendiduras, grietas o lesiones de las estructuras esenciales de las cuales no son ni superficiales ni limitadas en extensión, plántulas sin raíz primaria.
- **Plántulas deformadas.** Plántulas con un desarrollo débil de las estructuras esenciales de las cuales no son ni superficiales, ni limitadas en extensión, plántulas sin raíz primaria.
- **Plántulas podridas.** Plántulas con alguna de las estructuras esenciales afectadas por enfermedad o podredumbre, hasta tal punto que se impida el desarrollo normal⁵⁹.

3.4.2 Prueba de viabilidad con tetrazolio

Variables a evaluar:

- Porcentaje de semillas viables.
- Porcentaje de semillas no viables.

Cada semilla fue valorada como viable o no viable con base en el análisis topográfico según la tinción observada en los tejidos seminales, de acuerdo con el Ministerio de Agricultura de Madrid⁶⁰.

⁵⁹ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit. p. 58.

⁶⁰ Ibid., p. 58.

3.4.3 Prueba de vigor

Variables a evaluar

- Número promedio de días a emergencia
- Porcentaje total de emergencia
- Número de plantas emergidas por día

Esta prueba se evalúo con base en los datos diarios de emergencia, la relación promedia entre el número de semillas emergidas/día y el número total de días transcurrido hasta la fecha de evaluación se tomó como índice de vigor según el criterio de Edmon y Drapala, citado por Alvarenga et al. ⁶¹.

-

⁶¹ ALVARENGA et al., Op. cit., p. 56.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 PRUEBA DE GERMINACIÓN

En el (Anexo A) se observan los resultados del porcentaje de germinación de cada tratamiento con el ensayo a 20 ° C. El Anexo B, indica los resultados de germinación diaria en porcentaje con el ensayo a 30 ° C. Con el ensayo a 40 ° C el porcentaje de germinación fue del 0 % puesto que se dificultó mantener la humedad de la semilla en la incubadora, causando deshidratación y evitando que las semillas germinen.

El análisis de varianza para esta variable (Anexo C) presentó diferencias altamente significativas para temperatura y humedad; la interacción temperatura por humedad no presentó diferencias significativas, lo cual indica que el factor temperatura no influyó sobre la respuesta en la germinación de semillas con diferente grado de humedad.

Teniendo en cuenta lo anterior se realizó la prueba de comparación de Tukey, encontrándose que cuando se empleó la temperatura de 20 ° C se dio el mayor porcentaje de germinación con 31.50%, presentando diferencias significativas con la temperatura de 30 y 40 ° C las cuales tuvieron un porcentaje de germinación del 8.16 y 0 % respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prueba de comparación de promedios de Tukey para porcentaje de germinación con diferentes temperaturas en semillas en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur.

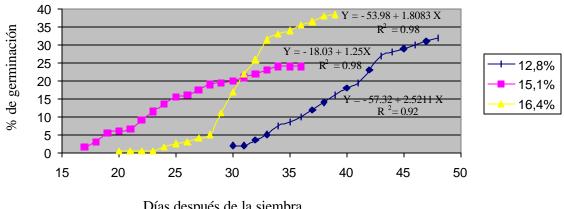
	Porcentaje de g	erminación
Temperatura	Promedio	Tukey
20	31.50	A
30	8.16	В
40	Ο	С

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas

Según el análisis de regresión, para la variable germinación con relación al tiempo en días correspondió a un modelo lineal. En la figura 2, se observa la tendencia del tratamiento a 20 ° C con diferentes porcentajes de humedad de la semilla; la mejor tendencia igualmente correspondió al tratamiento 16.4 % de humedad de la

semilla con un incremento en el porcentaje de germinación entre los 28 y 34 días después de la siembra.

Figura 2. Porcentaje de germinación a 20 ° C con diferentes porcentajes de humedad de las semillas en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur.

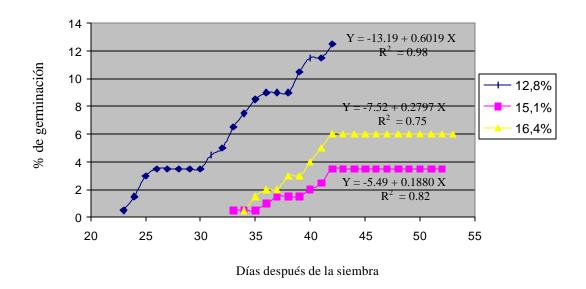


Días después de la siembra

En la Figura 3 para el tratamiento 30 ° C, se observa que a mejor tendencia corresponde al tratamiento 12.8 % de humedad de la semilla; sin embargo, el porcentaje de germinación es bajo con respecto a los ensayos realizados a 20 º C. La mayoría de las semillas parecen germinar mejor a una temperatura cercana a los 20 ° C, pero el crecimiento de la plántula responde a temperaturas superiores⁶².

⁶² THOMSON, Op.cit., p. 245.

Figura 3. Porcentaje de germinación a 30 ° C con diferentes porcentajes de humedad de las semillas en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur.



Los valores promedio de germinación difieren con los valores promedio de germinación encontrados por Muñoz, quienes encontraron un porcentaje de germinación promedio del $18.4\%^{63}$ y 15.1 $\%^{64}$. El mayor porcentaje de germinación encontrado en el estudio realizado por Muñoz, fue del $18.4\%^{65}$ % y lo obtuvo cuando la semilla alcanza los 150 días después de la antesis y con una temperatura del ensayo de 30 ° C.

Son notorias las diferencias entre el estudio descrito anteriormente y el presente trabajo con el ensayo a 30 ° C (8.16 % y 18.4 %) y 20 ° C (31.50 % y 18.4 %); que puede estar relacionado con el porcentaje de humedad de la semilla y el estado de madurez fisiológico de la misma, ya que para el presente trabajo se tuvo en cuenta como tratamiento el porcentaje de humedad de la semilla, contrario al trabajo anterior quien tuvo en cuenta el número de días después de la antesis.

El porcentaje de germinación se incrementa en forma considerable a medida que se incrementa el tiempo de madurez de la semilla de laurel, el mayor porcentaje de germinación obtenido en su estudio fue del 18.4 % y lo obtuvo cuando la

⁶³ MUÑOZ, Op.cit., p. 84.

⁶⁴ ULLOA, Carmen. Y JORGENSEN, Piter. Árboles y arbustos de los andes del Ecuador. Ecuador: Abavjala, 1995. 242 p.

⁶⁵ MUÑOZ, Op.cit., p. 84.

semilla alcanza los 150 días después de la antesis, disminuyendo en forma considerable a medida que se disminuye el tiempo de madurez de la semilla ⁶⁶.

De la misma manera Popinigis⁶⁷, manifiesta que el grado de madurez de la semilla en el momento de la cosecha afecta las cualidades fisiológicas de la semilla. En especies indeterminadas aunque la recolección sea efectuada en épocas en que en que la mayor proporción de semillas se encuentra con altas cualidades fisiológicas; así mismo estas serán acompañadas de semillas inmaduras y otras en estado avanzado de deterioro.

Es importante destacar que en el presente trabajo se realizó una selección de la semilla después de la cosecha, seleccionando para los ensayos las semillas aparentemente sanas y teniendo en cuenta únicamente aspectos morfológicos externos y no cualidades fisiológicas de la semilla.

Lo anterior puede tener relación con lo afirmado por Thomson quien manifiesta que:

Si las semillas son cosechadas antes de la madurez, las semillas son suaves y susceptibles de ser dañadas en la trilla, difíciles de secar, no se almacenan bien y tienen bajo vigor. Por el contrario si se retraza la recolección algunas semillas pueden ser degradadas por insectos y pájaros, condiciones ambientales y pueden secarse demasiado y volverse quebradizas, haciéndose propensas a la ruptura durante la trilla.

De igual manera los cultivares nativos generalmente no maduran sus semillas uniformemente porque no se ha realizado selección genética para ello⁶⁸.

Contrario a lo expuesto anteriormente, en el presente trabajo se evaluaron diferentes porcentajes de humedad de la semilla después de la cosecha y durante algún estrecho tiempo de almacenamiento con porcentajes establecidos (12.8, 15.1 y 16.4 %), en el trabajo realizado por Muñoz, "se trabajó con el porcentaje de humedad de la semilla al momento de la recolección por lo cual pueden haberse presentado diferencias" 69.

⁶⁷ POPINIGIS, Op.cit., p. 207.

⁶⁶ Ibid., p. 84.

⁶⁸ THOMSON, Op.cit., p. 126.

⁶⁹ MUÑOZ, Op.cit., p. 20.

Por otra parte, las semillas en este caso se mantuvieron bajo una atmósfera controlada en cámaras de humedad, para las semillas del 15.1 % y 16.4 %, procurando mantener el porcentaje de humedad deseado. De acuerdo con Hartman y Kester, "las fluctuaciones del contenido de humedad de las semillas reducen su longevidad, en consecuencia, la posibilidad de almacenar con éxito semillas expuestas a la atmósfera abierta varia mucho en las diferentes áreas climatológicas" 70.

En el cuadro 2 se aprecia los valores promedio para la variable porcentaje de germinación a diferentes grados de humedad de la semilla y se puede observar que los porcentajes de germinación más altos fueron de 23.75 % y 22.25 % y se dio con semillas de una humedad de 12.8 % y 16.4 % respectivamente, presentando diferencias significativas con la humedad de la semilla del 15.1 %, con la cual se obtuvo un porcentaje de germinación de 13.50 %. Según los datos anteriores podemos afirmar que existe una gran influencia del contenido de humedad de la semilla y la temperatura del ensayo respecto a la germinación de la semilla del laurel de cera.

Cuadro 2. Prueba de comparación de promedios de Tukey para porcentaje de germinación con diferentes contenidos de humedad en la semilla en Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) Wilbur.

	Porcentaje de germinación							
Humedad de la semilla (%)	Promedio	Tukey						
12.8	22.25	А						
15.1	13.50	В						
16.4	23.75	А						

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas.

De acuerdo con Thomson "las semillas necesitan tres factores fundamentales para germinar oxígeno, agua y temperatura adecuada, pero en ciertos casos hay que suministrarles también otros requisitos"⁷¹. No obstante el Departament of agriculture afirma que "existen factores externos que pueden afectar las enzimas y compuestos de la célula lo cual puede disminuir el poder germinativo de la semilla,

⁷⁰ HARTMANy KESTER. Propagación de plantas. 2 ed. México : Continental, 1981. p. 136

⁷¹ THOMSON, Op.cit., p. 245.

estos factores son el oxígeno, el dióxido de carbono, los hongos, los insectos, las bacterias, sustancias químicas, la luz o el tiempo de madurez de la semilla"⁷².

Las diferencias encontradas para los diferentes tratamientos (12.8, 15.1 y 16.4 % de humedad de la semilla), durante los 20 días de duración del ensayo (después de la germinación de la primera semilla), puede estar relacionado con algunos factores fisiológicos de la semilla, como la permeabilidad del tegumento, la velocidad de imbibición y la relación semilla-agua ⁷³.

De igual manera, puede influir la velocidad de absorción de agua de la semilla, la cual varía con la especie, la permeabilidad del tegumento, la disponibilidad de agua, la presión hidrostática, el área de contacto semilla-agua, las formas intermoleculares la composición química y la condición fisiológica de la misma⁷⁴.

Terminada la prueba de germinación se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio a las semillas no germinadas durante la evaluación de germinación. En el cuadro 3, se observa los diferentes porcentajes de germinación y viabilidad para cada tratamiento y repetición y los promedios totales para cada tratamiento.

Cuadro 3. Porcentaje de viabilidad en semillas no germinadas durante la prueba de germinación en Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur*).

% de humedad de	_	% de	% de viabilidad
la semilla	٥C	germinación	
12.4	30	12.5	18
15.1	30	3	28
16.4	30	6	14
12.8	20	32	5.5
15.1	20	24	20.5
16.4	20	38.5	14

Las semillas no germinadas correspondientes al tratamiento 20 ° C y porcentaje de humedad de la semilla de 12.8, 15.1 y 16.4 % presentaron un porcentaje de semillas viables del 5.5 %, 20.5 % y 14 % respectivamente (Cuadro 3).

Las semillas no germinadas correspondientes al tratamiento 30 $^{\circ}$ C y un porcentaje de humedad de la semilla del 12.8, 15.1 y 16.4 $^{\circ}$ presentaron un porcentaje de semillas viables del 18 $^{\circ}$, 28 $^{\circ}$ y 14 $^{\circ}$ respectivamente (Cuadro 3).

⁷² ESTADOS UNIDOS. DEPARTAMENT OF AGRICULTURE, Op.cit., p. 242.

⁷³ POPINIGIS, Op.cit., p. 41-42.

⁷⁴ Ibid., p. 42.

El mayor porcentaje de semillas viables se presentó para el tratamiento 15.1 % de humedad de la semilla con un promedio de 24.25 % respecto a los tratamientos de 12.8 y 16.4 % de humedad de la semilla que presentaron un 11.75 y 14 % respectivamente.

Según los resultados obtenidos se pueden confirmar los resultados obtenidos por Muñoz, quien afirma "que el bajo poder germinativo de las semillas de laurel de cera se debe a la incapacidad de la semilla para iniciar el proceso de germinación por malformación embrionaria; sin embargo, por los resultados obtenidos en este trabajo no se puede descartar la existencia de un nivel de latencia"⁷⁵.

Al momento de separar los embriones son muy visibles aquellos viables de aquellos que presentan características de deterioro o vaneamiento los cuales presentan colores oscuros acompañados de una notable flacidez, endurecimiento o momificación.

Hartman y Kester, afirman que:

Es posible que el fenómeno anterior esté relacionado con la polinización o un anormal desarrollo de la semilla después de la polinización. El fallo de la polinización puede ser debido a la pérdida del polen adecuado o a la ausencia del polinizador correcto. El desarrollo de los óvulos fertilizados en semillas, depende del suministro de agua, nutrientes, minerales y luz; siempre existe competencia por estos factores sobreviviendo aquellas semillas más cercanas al suministro

Los resultados del cuadro número 6, indican el porcentaje de viabilidad de las semillas después de los 50 días de permanencia de las semillas en la incubadora; estos resultados indican la posible existencia de algún problema relacionado con la latencia. Este fenómeno impide que la semilla germine y no responda a factores físicos apropiados⁷⁶.

Dependiendo del porcentaje de humedad de la semilla y la temperatura, las semillas de Laurel inician el proceso de germinación el cual es lento, poco uniforme y bajo; a demás las semillas que permanecen viables terminado este proceso (50 días), pueden permanecer latentes por algunos días o por un periodo indeterminado. Los datos anteriores tienen relación con lo afirmado por Thomson quien asegura que "la duración de este estado de latencia es extremadamente variable, puede durar sólo unos pocos días o varios años"⁷⁷. En algún momento,

⁷⁶ HARTMAN y KESTER, Op.cit., p. 170.

44

⁷⁵ MUÑOZ, Op.cit. p. 68.

⁷⁷ THOMOSN, Op.cit. p. 45.

sin embargo, tiene lugar un proceso post-madurador, al final del cual la latencia desaparece y la semilla germina. En la mayoría de las especies, la latencia y la post-maduración son fenómenos químicos, no conocidos en su totalidad. Parece ser un bloque de procesos fisiológicos empleados en la germinación.

4.2 ANALISIS DE VIABILIDAD CON TETRAZOLIO

En Anexo D se puede observar que para esta variable hay diferencias altamente significativas para temperatura, concentración y tiempo; y las interacciones temperatura por concentración, temperatura por tiempo, concentración por tiempo y la interacción temperatura por concentración por tiempo.

4.2.1 Interacción Concentración por Temperatura. El Cuadro 4 muestra la interacción concentración de tetrazolio por temperatura, se observa que cuando las semillas de laurel fueron sometidas a una concentración de tetrazolio del 1 % y una temperatura de 20 ° C se obtuvo el mayor porcentaje de viabilidad el cual fue de 31.08 %. La viabilidad más baja fue de 7.83 % la cual se dio cuando las semillas fueron sometidas en tetrazolio al 0.1 % y luego se mantuvieron en una temperatura de 40 ° C.

Cuadro 4. Prueba de comparación de Tukey para la interacción; concentración de tetrazolio por temperatura en la evaluación del porcentaje de viabilidad de la semilla de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur.*

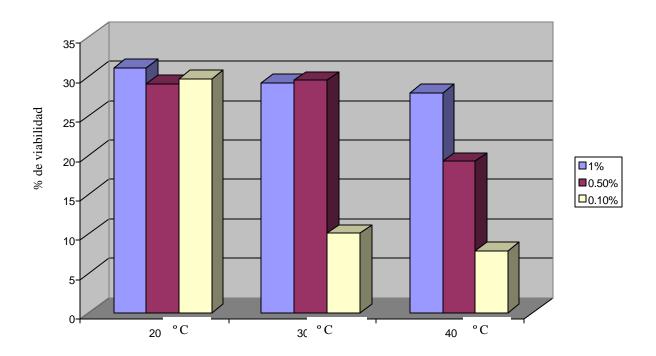
Concentración de tetrazolio	Temperatura de 20ºC		Concentración de tetrazolio	Temperatura de 30ºC		Concentración de tetrazolio	Temperatur de 40°C	
	Х	Tukey		Х	Tukey		Х	Tukey
1	31.08	Α	0.5	29.53	AB	1	27.89	AB
0.1	29.70	AB	1	29.17	AB	0.5	19.24	ВС
0.5	29.08	AB	0.1	10.09	CD	0.1	7.83	D
Tukey al 5%								

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas entre si.

En la Figura 4 se observa la interacción concentración por temperatura donde se aprecia claramente que cuando las semillas de laurel se someten a una temperatura de 20 ° C no influye la concentración del reactivo; sin embargo, con el ensayo a 30 y 40 ° C la concentración del reactivo influye positivamente a medida que esta se incrementa, observándose que con una concentración del 0.1 % el

porcentaje de tinción disminuye notablemente. Cuando se usó la concentración del 1 % de tetrazolio no influyó la temperatura del ensayo; sin embargo, a medida que la temperatura se incrementó y la concentración del reactivo disminuyó el porcentaje de tinción también se redujo.

Figura. 4. Interacción concentración – temperatura sobre la viabilidad de semillas de laurel (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) Wilbur.



Los resultados anteriores no concuerdan con lo establecido por Thomson, "quien afirma que la temperatura ideal para la reacción está entre los 30 y 40 ° C"⁷⁸; por el contrario, se confirma lo establecido por el Ministerio de Agricultura de Madrid, "quien afirma que las concentraciones del reactivo varían según la especie a valorar, y que las concentraciones son específicas para cada caso"⁷⁹.

4.2.2 Interacción temperatura por tiempo. En el cuadro 5 para la interacción temperatura por tiempo de exposición de las semillas en tetrazolio, se puede observar que cuando el ensayo se sometió a una temperatura de 20 ° C y un tiempo de exposición de las semillas de 1, 3 y 6 horas en tetrazolio, se obtuvo porcentajes de viabilidad de 30.63 %, 29.1 % y 30.1 % respectivamente sin presentar diferencias significativas entre si, al igual que el ensayo a 30 ° C por 6 horas que presentó un porcentaje de viabilidad de 30.10 %. El porcentaje de

-

⁷⁸ Ibid., p. 254.

⁷⁹ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit., p. 68.

viabilidad más bajo fue de 10.74 % y se obtuvo con el tratamiento de 40 ° C por 1 hora.

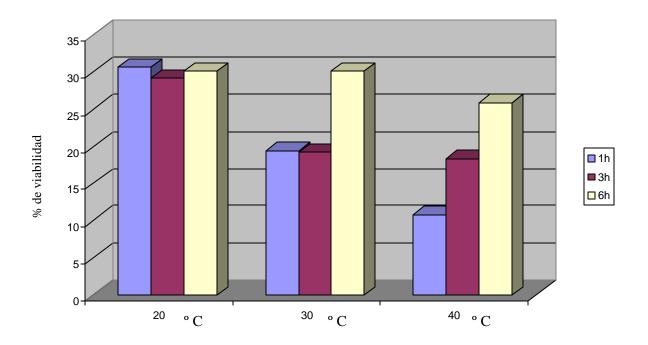
Cuadro 5. Prueba de comparación de Tukey para la interacción temperatura por tiempo en la evaluación del porcentaje de viabilidad de la semilla de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur*.

Tiempo (Horas)		ratura de 20°C	Tiempo (Horas)		ratura de 0ºC	Tiempo (Horas)	Temperatura de 40°C			
	Х	Tukey		Х	X Tukey		Х	Tukey		
1	30.63	Α	1	19.47	АВ	1	10.74	В		
3	29.13	Α	3	19.21	AB	3	18.35	AB		
6	30.10 A		6	30.10	Α	6	25.86	AB		
Tukey al 5%										

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas entre si

El Figura 5 para tiempo y temperatura del ensayo indica la interacción existente para estos dos tratamientos y se puede observar que cuando el ensayo se mantuvo a 20 ° C no se presentaron diferencias significativas respecto al tiempo de duración del ensayo; sin embargo, cuando se incrementa la temperatura a 30 y 40 ° C se presentan diferencias significativas a medida que se disminuye el tiempo de duración del ensayo, lo cual indica que a medida que se incrementa la temperatura también se debe incrementar el tiempo de duración del ensayo; a 30 ° C el ensayo no presentó diferencias significativas, cuando se uso un tiempo de 6 horas, y en los ensayos a 40 ° C todos los tratamientos presentaron diferencias significativas, posiblemente por falta de tiempo de duración del ensayo.

Figura 5. Efecto del tiempo y la temperatura sobre la viabilidad de semillas de laurel (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur*.



La temperatura de 20 ° C es la ideal para realizar la prueba de viabilidad con tetrazolio en semillas de laurel de cera, permitiendo reducir el tiempo y la concentración del reactivo usando la sal de tetrazolio. Thomson, "afirma que la gran ventaja de la realización de este ensayo es su velocidad, y alcanza particular valor cuando la semilla tiene que valorarse rápidamente. Normalmente el test se realiza en 24 horas, pero este tiempo puede reducirse haciendo que las semillas asimilen el reactivo bajo condiciones de vacío, manteniendo una alta temperatura durante la inmersión o usando la sal del Yodo del tetrazolio".

Según el Ministerio de Agricultura de Madrid.

Los resultados anteriores difieren con las Reglas Internacionales para el Ensayo de Semillas, quienes aseguran que la prueba de viabilidad con tetrazolio resulta más rápidamente a 40 ° C que a temperatura ambiente, consecuentemente la temperatura de 40 ° C se utiliza consistentemente en la gran mayoría de especies donde se usa el reactivo para prueba de semillas; sin embargo, se dan también los periodos de coloración que se necesitan a temperatura ambiente, posiblemente por que las reacciones varían de una especie a otra⁸¹.

⁸⁰ THOMSON, Op.cit., p. 254.

томост, ор.ы., р. 20 п

⁸¹ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit., p. 11.

4.2.3 Interacción Concentración por Tiempo. En el cuadro 6, se puede observar que el mayor porcentaje de viabilidad se obtuvo cuando las semillas fueron sometidas en una concentración de tetrazolio del 1 % durante 1 hora y fue de 30.44 %. El porcentaje de Viabilidad más bajo fue de 9.19 % y 10.19 % y se presentó cuando las semillas fueron sometidas a una concentración de tetrazolio del 0.1% por 3 y 6 horas respectivamente.

Cuadro 6. Prueba de comparación de Tukey para la interacción concentración de tetrazolio por tiempo en la evaluación de porcentaje de viabilidad de la semilla de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur.*

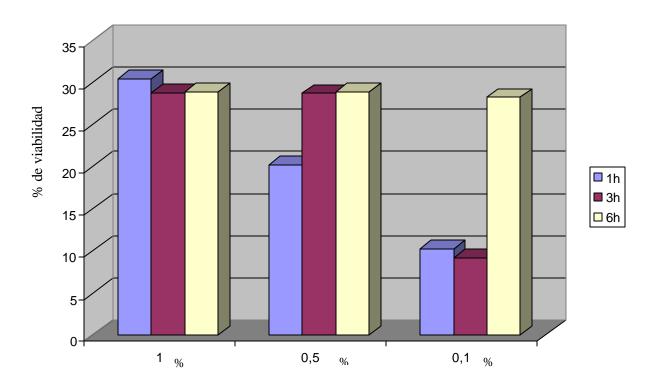
Tiempo (Horas)	Concentración 0.1%		Tiempo (Horas)		entración .5%	Tiempo (Horas)	Concen 19					
	X	Tukey		X Tukey			X	Tukey				
1	10.19	В	1	20.21	AB	1	30.44	А				
3	9.19	В	3	28.69 A		3	28.83	Α				
6	28.25 A		6	28.44 A		6	28.87	А				
Tukey al	Tukey al 5%											

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas entre si.

Es importante destacar que para esta interacción no se presentaron diferencias significativas cuando las semillas fueron sometidas a los siguientes tratamientos: concentración del 1 % por 1,3 y 6 horas con un porcentaje de viabilidad de 30.44, 28.83 y 28.87 % respectivamente; Concentración del 0.5 % por 3 y 6 horas con un 28.69 y 28.49 % respectivamente y una concentración del 0.1 % por 6 horas que presentó un porcentaje de viabilidad de 28.25 % (Cuadro 6).

La Figura 6 para la interacción concentración por tiempo de duración del ensayo demuestra que cuando se utilizó una concentración del 1 % de tetrazolio no hubo diferencias significativas para los diferentes tiempos de duración del ensayo; sin embargo, a medida que disminuye la concentración y el tiempo de duración de la prueba disminuye el porcentaje de viabilidad de la semilla.

Figura 6. Efecto del tiempo y diferentes concentraciones de tetrazolio sobre la viabilidad en semillas de Laurel (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur.*



En esta interacción no hay influencia del tiempo cuando se utilizó una concentración del reactivo del 1 %, a medida que la concentración y el tiempo disminuyeron el ensayo presentó diferencias significativas. Con una concentración del 0.5 % el ensayo no presentó diferencias significativas cuando se uso un tiempo de 3 y 6 horas y cuando se uso una concentración del 0.1 % únicamente respondió positivamente el ensayo sometido a 6 horas de duración.

4.2.4 Interacción Tiempo por Concentración por Temperatura. Para la interacción tiempo por concentración por temperatura únicamente se presentaron diferencias significativas cuando las semillas de Laurel fueron sometidas en una concentración de tetrazolio al 0.1 % durante un tiempo de 1 hora y una temperatura de 30 y 40 ° C; 0.1 % durante 3 horas y una temperatura de 30 y 40 ° C; 0.5 % durante 1 hora y 40 ° C; en estos ensayos las semillas no fueron viables. Los tratamientos no descritos anteriormente no presentaron diferencias significativas entre si por lo tanto es factible la utilización de uno de estos tratamientos para la realización de pruebas encaminadas a determinar la viabilidad de semillas de Laurel de cera (Cuadro 7).

Cuadro 7. Interacción tiempo por concentración de tetrazolio por temperatura en la evaluación de métodos para determinar la calidad de semillas en Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) Wilbur.

Tiempo	Concentración	Temperatura	X	Tukey
(horas)	(%)	(°C)		
1	1	20	31.92	Α
1	1	30	27.17	Α
1	1	40	30.23	Α
1	0.1	20	30.58	Α
1	0.1	30	0	В
1	0.1	40	0	В
1	0.5	20	29.39	Α
1	0.5	30	31.25	Α
1	0.5	40	0	В
3 3 3 3 3 3 3 3	1	20	30.52	Α
3	1	30	29.50	Α
3	1	40	26.46	Α
3	0.1	20	27.57	Α
3	0.1	30	0	В
3	0.1	40	0	В
3	0.5	20	29.30	Α
3	0.5	30	28.15	Α
	0.5	40	28.61	Α
6	1	20	30.80	Α
6	1	30	30.85	Α
6	1	40	24.97	Α
6	0.1	20	30.96	Α
6	0.1	30	30.27	Α
6	0.1	40	23.51	Α
6	0.5	20	28.54	Α
6	0.5	30	29.19	Α
6	0.5	40	29.10	Α
Tukey al 5%				

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas entre si.

Los datos anteriores indican que existe una influencia directa de los tres tratamientos para la realización del test de tetrazolio en laurel de cera. Los datos del cuadro 7 indican que al disminuir el tiempo de duración del ensayo y la concentración del reactivo y se incrementa a temperatura a 30, 40 ° C el test puede resultar negativo; sin embargo, el incremento de la concentración y el tiempo a una temperatura de 20 ° C resulta ideal para la realización del test.

En la valoración de los embriones con los diferentes tratamientos se encontró que existe una gran variabilidad en la intensidad de tinción de los embriones presentándose en algunos tratamientos un color rojo intenso, hasta un color rosado pálido en otros tratamientos, lo cual indica que el test resulta negativo a causa de algunos de los tratamientos, mas no por la falta de viabilidad de la semilla.

Lo anterior lo confirma Thomson:

Quien manifiesta que la intensidad de la tinción no es importante. Los embriones que están completamente teñidos o completamente sin teñir no presentan problemas, pero se puede encontrar embriones teñidos parcialmente lo que indica por ejemplo que la plúmula es viable pero la raíz esta muerta; en un ensayo de tetrazolio, se evalúa el embrión según sus partes esenciales, la mínima tinción requerida se ha determinado experimentalmente y no es la misma para todas las especies⁸².

Para estandarizar la mínima tinción requerida es necesario usar una tinción ligera en una solución al 0.1 % de tetrazolio, se toma nota de los modelos de coloración en cada semilla y se colocan las semillas a germinación, este procedimiento permite la correlación directa entre el modelo de coloración y la respuesta germinativa de cada semilla⁸³.

4.3 ENSAYO DE VIGOR

Para la evaluación de vigor se tuvo en cuenta el número promedio de días a emergencia teniendo en cuenta la relación promedia entre el número de plantas emergidas por día (Cuadro 8).

-

⁸² THOMSON, Op.cit., p. 254.

⁸³ ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA DE MADRID, Op.cit., p.15.

Cuadro 8. Índice de vigor según Edmon y Draphala (1958), en semillas de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur.*

Humedad de la semilla (%)	Repetición	Índice de vigor
12.8	1	49.5
12.8	2	43.6
12.8	3	45
12.8	4	49.3
Promedio		46.8
15.1	1	37.3
15.1	2	37.4
15.1	3	37.1
15.1	4	37.1
Promedio		37.2
16.4	1	37.1
16.4	2	38.3
16.4	3	38.8
16.4	4	38.3
Promedio		38.6

El mayor promedio de días a emergencia fue de 46.8 y se presentó con la semilla del 12.8 % de humedad; seguido de 38.3 con la semilla del 16.4 % de humedad y el menor promedio lo presentaron las semillas del 15.1 % de humedad con 37.2 lo cual representa un mayor vigor (Cuadro 8) cuanto mas rápidamente germina la semilla mayor es su vigor ⁸⁴.

Los datos anteriores pueden tener relación con el tiempo de almacenamiento de las semillas, teniendo en cuenta que en este ensayo las semillas se mantuvieron en una atmósfera controlada en cámaras de humedad y no presentaron largos periodos de almacenamiento; por el contrario, las semillas se colocaron en el sustrato pocos días después de haber logrado el porcentaje de humedad del estudio.

Las fluctuaciones del contenido de humedad de las semillas durante su almacenamiento reducen su longevidad; a demás, por arriba del 12 al 14 % los hongos se vuelven activos. Arriba del 18 al 20 % puede ocurrir calentamiento y por encima del 40 al 60 % ocurre la germinación. Las semillas de vida mediana a larga

⁸⁴ POPINIGIS, Op.cit., p. 133.

de la mayor parte de las especies deben estar secas para sobrevivir a periodos largos de almacenamiento ⁸⁵.

Es preciso anotar que no únicamente la humedad de la semilla incide en la prueba de vigor; este puede ser afectado por el tamaño de la semilla, para algunas especies se ha demostrado que las semillas pequeñas pueden presentar mayor velocidad de germinación o de emergencia⁸⁶.

Thomson "manifiesta que la velocidad de germinación no es una indicación fiable del vigor por que está muy influenciada por la latencia"⁸⁷, lo cual concuerda con Hartman y Kester, quien afirma que "el vigor puede indicarse por medio del porcentaje de emergencia y la velocidad de germinación de las semillas"⁸⁸.

De a cuerdo a lo anterior, el mayor porcentaje de emergencia lo presentaron las semillas del 15.1 % de humedad, con un 19 % de germinación, demostrando que la semilla del 15.1 % presentan el más alto grado de vigor, seguidas de las semillas del 16.4 % de humedad con un 14.25 %. Las semillas del 12.8 % de humedad presentaron el más bajo porcentaje de emergencia con un 12 % (Anexo F).

Los resultados del Índice de vigor y emergencia bajos pueden explicarse bajo el siguiente criterio de Hartmann y Kester, quien afirma que:

El vigor de una semilla es un atributo importante de la calidad, pero pueden ser algo difíciles de medir. Con frecuencia, se encuentran asociados a un porcentaje y una velocidad de emergencia bajos. La reducción de estas características puede ser el resultado de diferencias genéticas entre cultivares, desarrollo incompleto de la semilla en la planta, lesiones durante la cosecha, manejo y almacenamiento inapropiados, enfermedades y envejecimiento. La pérdida de viabilidad, por lo regular, va precedida por un periodo de declinación de vigor⁸⁹.

⁸⁵ HARTMAN y KESTER, Op.cit., p. 136.

⁸⁶ Ibid., p. 13.

⁸⁷ THOMSON, Op. cit. p. 256.

⁸⁸ HARTMAN y KESTER, Op.cit., p. 151.

⁸⁹ Ibid., p. 25.

5. CONCLUSIONES

- La evaluación del porcentaje de germinación de semillas de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur*, debe ser evaluado a una temperatura de 20 ° C y una humedad de la semilla del 12.8 y/o 16.4 %.
- Las pruebas de viabilidad con tetrazolio en semillas de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur* mostraron un mejor comportamiento a una temperatura de 20 ° C con una concentración del reactivo entre 0.1 y 1 % y un tiempo de duración del ensayo entre 1 y 6 horas.
- Las semillas de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex Willd*) *Wilbur*, con un 15.1 % de humedad presenta un mejor Índice de vigor de la semilla con un promedio de 37.1 días.
- Las semillas de Laurel de cera presenta un porcentaje de germinación, viabilidad y vigor bajos con un 31.08 %, 31.9 % y 37.1 respectivamente.

6. RECOMENDACIONES

- Evaluar otros parámetros de calidad para semillas de laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur.
- Realizar estudios que permitan identificar la causa de la escasa cantidad de semillas viables.
- Explorar otros rangos de temperatura y porcentaje de humedad de semilla para pruebas de germinación en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex Willd) Wilbur.

BIBLIOGRAFIA

ALVARENGA, et al. Influencia da Idade e Armazenamento pos Colheita dos frutos na Cualidade da Semente de Melancia. <u>En</u>: Horticultura Brazileira. Vol. 2, No. 2 (1984); p. 5-8

BRAVO, Alvaro; CASTILLO, Alvaro. y CHAVÉZ. Germán. Evaluación de tres métodos sobre la pregerminación de semillas de laurel (*Myrica pubescens* H.B.K). Pasto, 1996, 83 p. Trabajo de grado (Ingeniería Agronómica). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

CARATINI, Rocio. La vida de las plantas. Barcelona: Argos, 1970. 80 p.

ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA. Reglas Internacionales para ensayo de semillas. Madrid : Ministerio de Agricultura dirección general de la producción agraria Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, 1977. 182 p.

ESTADOS UNIDOS. DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. Manual para el Análisis de Calidad de Semillas. México : Herrero, 1952. 514 p.

Washington : Continental, 1977. 102	20 p.
-------------------------------------	-------

HARTMAN, Hudson. y KESTER, Darson. Propagación de plantas. 2 ed. México : Continental, 1981. 814 p.

HERRERA, Juan. Cómo se cultiva el laurel y cómo se aprovecha en la industria. Bogotá : El Agricultor, 1953. 55 p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rule For Seed Testing: Seed Saiens an Tecnology. ISTA, 1985. 142 p.

MIRANDA, Jorge y TORRES, Cesar. Evaluación de tres métodos de escarificación en semillas de laurel de cera (<u>Myrica pubescens</u>), en el municipio de Pasto (Nariño). Pasto, 1997, 42 p. Trabajo de postgrado, (Especialista en Biología). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencia Naturales y Matemática. Programa de Biología.

MORALES, Karen. Evaluación del efecto de la temperatura sobre la germinación de Laurel de cera (Myrica pubescens Willd). Santa Fe de Bogotá, 1998, 158 p. Trabajo de grado (Biólogo). Pontificio Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología.

MUÑOZ HOYOS, Jairo., et al. Análisis de la producción de laurel (<u>Myrica pubescens</u> H.B.K.), y de la comercialización de la cera en algunos Municipios del Departamento de Nariño. Pasto, 1993, 96 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

MUÑOZ, Zaida. Determinación de la madurez fisiológica de semillas de Laurel de cera (Myrica pubescens H. & B.K. ex Willd). Pasto, 2000, 102 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

PARRA, Carlos. Taxonomía del género Myrica (MYRICAE) en Colombia. Santa Fe de Bogotá, 1998, 332 p. Trabajo de grado (Biólogo). Pontificio Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.

PEREZ, Enrrique. Plantas útiles de Colombia. Bogotá : Talleres de Sucesores de Rivadeneira, 1956. 831 p.

POPINIGIS, Flavio. Fisiología da semente. Brasilia: Agilplan, 1977. 289 p.

SANTOS DE ACOSTA, Ramiro. Importancia y manejo del contenido de humedad. En Recolección y procesamiento de semillas forestales : programa de investigación en semillas de especies forestales nativas. No. 34 (1996); p. 43-50.

SUAREZ, Marcelo. Técnicas de recolección de semillas de especies típicas de interés Nacional en Colombia. <u>En</u> Recolección y procesamiento de semillas forestales: programa de investigación en semillas de especies forestales nativas. No. 34 (1996); p. 51-59.

THOMSON, Jhosep. Introducción a la tecnología de las semillas. España : Acribia, 1979. 289 p.

TREJOS, Arturo. Estudio sobre el palomo torcaz, roble, mimillo, o palomito (<u>Myrica</u> sp). Caracas: Ministerio de Cría. Dirección de Recursos Renovables, División de Ejecución de Programas, 1960. 80 p.

ULLOA, Carmen. y JORGENSEN, Peter. Árboles y arbustos de los andes del Ecuador. Ecuador: Abavjala, 1995. 242 p.



Anexo A. Porcentaje de germinación diaria a 20 ° C en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex willd) Wilbur.)

(LABORATORIO CORPOICA)

# D.D.S.	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	% Germ
																					Total/tr
																					at
D.A.S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
$T_1 R_1$	6	6	8	10	12	12	14	16	18	18	20	20	20	22	22	24	26	26	26	26	
$T_1 R_2$	0	0	2	2	4	6	8	10	12	16	18	22	26	32	34	36	38	40	40	42	
$T_1 R_3$	0	0	0	2	6	8	10	14	16	18	22	24	26	28	28	28	28	28	28	28	
$T_1 R_4$	2	2	4	6	8	8	8	8	10	12	12	12	20	26	28	28	28	30	30	32	32
# D.D.S.	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
T_2R_1	0	4	4	4	4	4	6	6	6	6	8	10	10	10	14	14	14	14	14	14	
$T_2 R_2$	2	2	4	6	6	8	10	14	16	16	16	18	18	18	18	18	22	24	24	24	
T_2R_3	0	2	6	6	8	12	16	18	22	24	26	28	28	30	30	32	32	34	34	34	
$T_2 R_4$	4	4	8	8	8	12	14	16	18	18	20	20	22	22	22	24	24	24	24	24	24
# D.D.S.	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
$T_3 R_1$	0	0	0	0	2	4	4	4	6	10	14	18	20	28	32	34	34	36	36	36	
$T_3 R_2$	0	0	0	0	0	0	0	2	4	10	16	20	22	28	28	28	30	30	32	34	
$T_3 R_3$	2	2	2	2	4	4	6	8	8	16	24	30	32	36	36	36	36	38	38	38	
$T_3 R_4$	0	0	0	0	0	2	2	2	2	8	14	20	30	34	36	38	42	42	46	46	38.5

T = Tratamiento - %H

 $T_1 = 12.8 \%$

 $T_2 = 15.1 \%$

 $T_3 = 16.4 \%$

R = Repetición

D.D.S = Días después de la siembra

Anexo B. Porcentaje de germinación diaria a 30 ° C en Laurel de cera (Morella pubescens H.& B. Ex willd) Wilbur.

(LABORATORIO CORPOICA)

# D.D.S.	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	% Germ
																					Total/trat
D.A.S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
$T_1 R_1$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	6	6	6	6	6	6	6	
$T_1 R_2$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	6	6	6	6	
$T_1 R_3$	2	6	12	14	14	14	14	14	18	18	18	18	20	22	22	22	22	22	22	24	
$T_1 R_4$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6	6	6	8	12	12	14	12.5
# D.D.S.	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	
T_2R_1	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
$T_2 R_2$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
$T_2 R_3$	0	0	0	2	2	2	2	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
$T_2 R_4$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
# D.D.S.	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	
$T_3 R_1$	2	2	2	2	2	2	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
$T_3 R_2$	0	0	0	0	0	0	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
$T_3 R_3$	0	2	4	4	8	8	8	8	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
$T_3 R_4$	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6

T = Tratamiento - %H

 $T_1 = 12.8 \%$

 $T_2 = 15.1 \%$

 $T_3 = 16.4 \%$

R = Repetición

D.D.S = Días después de la siembra

Anexo C. Análisis de varianza para el variable porcentaje de germinación en la evaluación de métodos para determinar, la calidad de semillas en Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex willd*) *Wilbur*).

F. V	G. L	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F. C
Temperatura	1	2072.79	2072.79	69.37 **
Humedad	2	321.35	160.67	5.38 **
Temperatura por humedad	2	59.35	29.67	0.99 NS
Error	15	448.23	29.88	
Total	10	2985.09		

NS: Diferencias no significativas.

^{**:} Diferencias altamente significativas.

Anexo D. Análisis de varianza para la variable porcentaje de viabilidad en la evaluación de métodos para determinar la calidad de semillas, en Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex willd*) *Wilbur*).

F. V	G. L	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F. C
Tiempo	2	802.88	401.44	17.27 **
Concentración	2	2562.00	1281.00	55.10 **
Temperatura	2	2082.88	1041.44	44.80 **
Tiempo por concentración	4	1305.77	326.44	14.04 **
Tiempo por temperatura	4	533.55	133.38	5.47**
Concentración por tiempo	4	1211.11	302.77	13.02 **
Tiempo por concentración por temperatura	8	1675.77	209.47	9.01 **
Error	81	1883.00		
Total	107	12057.00		

^{**} Diferencias altamente significativas (99 %)

Anexo E. Porcentaje de germinación en semillas de laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex willd*) *Wilbur* a diferentes temperaturas del ensayo y porcentaje de humedad de la semilla.

Temperatura	% de humedad	Repetición	Porcentaje de germinación
20 ° C	12.8	1	26
		2	42
		2 3	28
		4	32
promedio			32
20 ° C	15.1	1	14
		2	24
		3	34
		4	24
promedio			24
20 ° C	16.4	1	36
		2	34
		2 3	38
		4	46
promedio			38.5
30 ° C	12.8	1	6
		2	6
		3	24
		4	14
promedio			12.5
30 ° C	15.1	1	4
		2	2
		3	4
		4	2 4 2 3
promedio 30 ° C			
30 ° C	16.4	1	18
		2 3	4
		3	12
		4	2
promedio			6

Anexo F. Porcentaje de emergencia diaria para la prueba de vigor en semillas de Laurel de cera (*Morella pubescens H.& B. Ex willd*) *Wilbur*

(INVERNADERO UNIVERSIDAD DE NARIÑO)

	(INVERNADERO GRIVERSIDAD DE MARINO)																					
# D.D.S.	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	GERM. TOTAL/	TETR AZOL
																					TRAT %	%
D.A.S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
$T_1 R_1$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	5	5		
$T_1 R_2$	1	2	2	2	2	2	2	3	6	6	7	7	8	8	8	8	8	8	9	11		
$T_1 R_3$	2	2	2	3	4	5	6	8	10	14	16	17	18	19	20	20	20	23	23	23		
$T_1 R_4$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	4	8	9		
TOTAL	3	4	4	5	6	7	8	11	16	20	23	24	27	28	30	31	32	38	45	48	12%	11.75
# D.D.S.	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44		
$T_2 R_1$	2	3	5	7	10	10	12	12	14	17	20	22	22	23	24	25	25	27	27	27		
$T_2 R_2$	0	4	5	6	6	6	6	7	9	14	16	17	17	17	18	19	19	19	19	19		
$T_2 R_3$	0	4	4	4	4	4	4	5	6	8	10	10	10	10	10	10	10	11	13	13		
$T_2 R_4$	0	5	5	5	6	6	6	8	11	12	13	15	15	15	15	16	16	17	17	17	19%	10.5
TOTAL	2	16	19	22	26	26	28	32	40	51	59	64	64	65	67	70	70	74	76	76		
# D.D.S.	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44		
$T_3 R_1$	0	2	2	2	2	2	2	2	3	4	5	5	8	8	9	10	12	12	13	13		
$T_3 R_2$	1	1	2	3	3	3	3	3	4	5	5	5	6	6	6	6	7	7	7	9		
$T_3 R_3$	0	1	2	3	4	4	4	4	6	10	10	11	15	15	15	16	18	18	19	20		
$T_3 R_4$	0	1	1	1	2	2	2	3	3	4	4	5	8	8	8	10	11	11	11	15		
TOTAL	1	5	7	9	11	11	11	12	16	23	24	26	37	37	38	42	48	48	50	57	14.25%	17

T = Tratamiento - % de humedad de la semilla

T1 = 12.8 %

T2 = 15.1 %

T3 = 16.4 %

R = Repetición

D.D.S = Días después de la siembra