

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

DESARROLLO DE PATRONES DE TINCION DE TETRAZOLIO E INDIGO CARMIN, PARA
DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq)
Griseb.(Conacaste), *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper (Madrecacao) y *Delonix regia*
(Bojer) Raf. Fl. Tellur. (Flamboyán).

TESIS
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE
LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR
LUIS IVAN PIVARAL LEIVA

En el acto de Investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

Guatemala, Agosto de 1,999

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:

VOCAL PRIMERO.

VOCAL SEGUNDO.

VOCAL TERCERO.

VOCAL CUARTO.

VOCAL QUINTO.

SECRETARIO.

Ing. Agr.	Edgar Franco Rivera.
Ing. Agr.	Walter García Tello
Ing. Agr.	William Roberto Escobar Lopez
Ing. Agr.	Alejandro Arnoldo Hernandez
Br.	Oscar Javier Guevara Pineda
Br.	José Domingo Mendoza Cipriano
Ing. Agr.	Edil Rene Rodriguez Quezada

Guatemala, Agosto de 1,999.

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente:

Distinguidos miembros:

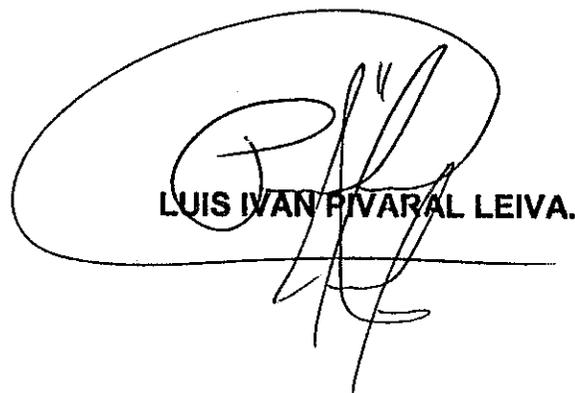
De conformidad con las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el trabajo de tesis titulado:

DESARROLLO DE PATRONES DE TINCION DE TETRAZOLIO E INDIGO CARMIN, PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq) Griseb.(Conacaste), *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper (Madrecacao) y *Delonix regia* (Bojer) Raf. Fl. Tellur. (Flamboyán)

Presentando como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

En espera de su aprobación, me es grato presentarles mi agradecimiento.

Atentamente,



LUIS IVAN RIVARAL LEIVA.

ACTO QUE DEDICO

A Dios

A Guatemala.

A mi Madre:

Civila Esperanza Leiva Angulo.

A mi Abuelita:

Margarita Edelman.

A mi padre:

Angel Luis Pivaral González

A mis compañeros de estudio.

A mi Familia en general.

A mis amigos.

AGRADECIMIENTOS

A:

La Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala en la cual obtuve los conocimientos necesarios para formarme como Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola.

Banco de Semillas Forestales del INAB y todo su personal, en especial a su coordinador Ing. Agr. Julio López Payés ya que sin su apoyo no hubiera sido posible desarrollar la presente investigación.

Al Proyecto de Semillas Forestales (PROSEFOR) del CATIE por el apoyo técnico económico para la adecuada realización de este trabajo de investigación.

Mis asesores Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera e Ing. Agr. Julio López Payés que se esmeraron para realizar una buena investigación.

Mi familia, y en especial a mi Madre Civila Esperanza Leiva Angulo, por su guía y apoyo en los momentos buenos y malos que se presentaron durante todo el desarrollo de mi carrera.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Marco conceptual	3
3.1.1 La semilla	3
3.1.2 Anatomía y fisiología de la semilla	3
A. La testa	3
B. El endospermo	3
C. El embrión y la plántula	4
3.1.3 Viabilidad	4
3.1.4 Dormancia	4
A. Dormancia de la semilla	4
3.1.5 Latencia	6
3.1.6 Germinación de la semilla	6
A. Alimentos y otros requerimientos para la germinación	6
3.1.7 Pruebas de germinación	7
3.1.8 Pruebas de viabilidad	7
3.1.9 Pruebas rápidas	8
A. Formas de determinar la viabilidad	8
3.1.10 Importancia de pruebas rápidas en especies forestales	8
A. Pruebas de inspección directa	9
B. Prueba de tetrazolio	9
a. Fundamento de la prueba de tetrazolio	9
b. Calibración de la prueba de tetrazolio	10
C. Índigo carmín como prueba de viabilidad	10
a. Evaluación de embriones	11
3.1.11 Descripción e importancia de las especies en estudio	11
A. Flamboyán	11
B. Madrecacao	13
C. Conacaste	16
3.2 Marco Referencial	18
3.2.1 Lugar donde se desarrolló el estudio	18
3.2.2 Procedencia de las semillas en estudio	18
4. OBJETIVOS	19
5. HIPÓTESIS	20
6. METODOLOGÍA	21
6.1 Material experimental	21
6.1.1 Material vegetal	21
6.2 Metodología experimental	21
6.2.1 Desarrollo de patrones de tinción para tetrazolio e índigo carmín	21
A. Estudio morfológico de las semillas	21
B. Preparación de las soluciones	21
a. Solución de tetrazolio	21
b. Solución de índigo carmín	22
C. Desarrollo de patrones para determinar viabilidad	22
a. Acondicionamiento de las semillas	22

D.	Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín	23
a.	Concentración adecuada de tetrazolio	23
b.	Concentración adecuada de índigo carmín	23
E.	Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio	23
F.	Desarrollo de patrón de tinción para índigo carmín	25
G.	Prueba de germinación directa en arena	26
H.	Rectificación de patrones de tinción	27
a.	Rectificación de patrón de tinción de tetrazolio	27
b.	Rectificación de patrón de tinción de índigo carmín	27
I.	Relación del porcentaje de viabilidad con el porcentaje de germinación	27
6.2.2.	Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas	29
6.2.3.	Determinación de tiempo y costos de aplicación de pruebas rápidas de viabilidad	29
7. RESULTADOS		30
7.1 Conacaste		30
7.1.1 Desarrollo de patrones de tinción		30
A.	Estudio Morfológico y anatómico de las semillas	30
B.	Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín	31
a.	Concentración adecuada de tetrazolio	31
b.	Concentración adecuada de índigo carmín	31
C.	Desarrollo de patrones de tinción	31
a.	Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio	31
b.	Desarrollo de patrón de tinción para índigo carmín	33
D.	Rectificación de patrones de tinción	34
a.	Rectificación de patrón de tinción de Tetrazolio	34
b.	Rectificación de patrón de tinción de Indigo carmín	34
E.	Relación del porcentaje de viabilidad de la prueba de tinción con el Porcentaje de germinación de la Prueba directa	35
7.1.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas		36
A.	Prueba de Tetrazolio	36
B.	Prueba de índigo carmín	37
7.1.3 Determinación de costos de aplicación de pruebas de tinción		39
A.	Prueba de Tetrazolio	39
B.	Prueba de Indigo carmín	39
7.2 Flamboyán		41
7.2.1 Desarrollo de patrones de tinción		41
A.	Estudio Morfológico y anatómico de las semillas	41
B.	Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín	42
a.	Concentración adecuada de tetrazolio	42
b.	Concentración adecuada de índigo carmín	42
C.	Desarrollo de patrones de tinción	42
a.	Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio	42
b.	Desarrollo de patrón de tinción para índigo carmín	44
D.	Rectificación de patrones de tinción	45
a.	Rectificación de patrón de tinción de Tetrazolio	45
b.	Rectificación de patrón de tinción de Indigo carmín	45
E.	Relación del porcentaje de viabilidad de la prueba de tinción con el porcentaje de germinación de la prueba directa	46
7.2.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas		46
A.	Prueba de Tetrazolio	46

B. Prueba de índigo carmín	48
7.2.3 Determinación de tiempo y costos de aplicación de pruebas rápidas de viabilidad	49
A. Prueba de Tetrazolio	49
B. Prueba de Indigo carmín	50
7.3 Madrecacao	51
7.3.1 Desarrollo de patrones de tinción	51
A. Estudio Morfológico y anatómico de las semillas	51
B. Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín	52
a. Concentración adecuada de tetrazolio	52
b. Concentración adecuada de índigo carmín	52
C. Desarrollo de patrones de tinción	52
a. Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio	52
b. Desarrollo de patrón de tinción para índigo carmín	54
D. Rectificación de patrones de tinción	55
a. Rectificación de patrón de tinción de Tetrazolio	55
b. Rectificación de patrón de tinción de Indigo carmín	55
E. Relación del Pocentaje de viabilidad de las pruebas de tinción con el porcentaje de germinación de la prueba directa	56
7.3.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas	56
A. Prueba de Tetrazolio	56
B. Prueba de Indigo carmín	58
7.3.3 Determinación de costos de aplicación de pruebas rápidas de viabilidad	59
A. Prueba de Tetrazolio	59
B. Prueba de Indigo carmín	60
8. CONCLUSIONES	61
9. RECOMENDACIONES	62
10. BIBLIOGRAFÍA	63
11. APÉNDICE	65

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Información sobre las procedencias de las especies en estudio.	18
Cuadro 2.	Tratamientos evaluados en semillas de conacaste, flamboyán y madre cacao	28
Cuadro 3.	Condiciones de clasificación para la semilla de conacaste en la prueba de tetrazolio	32
Cuadro 4.	Condiciones de clasificación para la semilla de conacaste en la prueba de indigo carmín.	33
Cuadro 5.	Resumen de análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	35
Cuadro 6.	Coefficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de conacaste de las distintas procedencias.	36
Cuadro 7.	Coefficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de conacaste de las distintas procedencias.	37
Cuadro 8.	Resumen de costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Conacaste	39
Cuadro 9.	Resumen de costo para la aplicación de la prueba de indigo carmin en Conacaste	40
Cuadro 10.	Condiciones de clasificación para la semilla de flamboyán en la prueba de tetrazolio	43
Cuadro 11.	Condiciones de clasificación para la semilla de flamboyán en la prueba de indigo carmín	44
Cuadro 12.	Resumen de análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de <i>Delonix regia</i> .	46
Cuadro 13.	Coefficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de flamboyán de las distintas procedencias.	47
Cuadro 14.	Coefficiente de correlación obtenido por la semilla de flamboyán de las distintas procedencias.	48
Cuadro 15.	Resumen de costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Flamboyán	49
Cuadro 16.	Resumen de costo para la aplicación de la prueba de Indigo carmín para Flamboyán.	50
Cuadro 17.	Condiciones de clasificación para la semilla de madre cacao en la prueba de tetrazolio	53

Cuadro 18.	Condiciones de clasificación para la semilla de madrecaao en la prueba de índigo carmín	54
Cuadro 19.	Resumen de análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de <i>Gliricidia sepium</i>	56
Cuadro 20.	Coeficiente de correlación obtenido por la semilla de madrecaao de las distintas procedencias.	57
Cuadro 21.	Coeficiente de correlación obtenido por la semilla de madrecaao de las distintas procedencias.	58
Cuadro 22.	Resumne de costo para la aplicación de la prueba de Tetrazolio en Madrecaao	59
Cuadro 23.	Resumen de costo para la aplicación de la prueba de Indigo carmín en Madrecaao.	60
Cuadro 25A.	Viabilidad obtenida en la semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> para la prueba de tetrazolio.	66
Cuadro 26A.	Viabilidad obtenida en la semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> para la prueba de Indigo carmín.	66
Cuadro 27A.	Porcentaje de viabilidad para la prueba de tetrazolio obtenida en la semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	66
Cuadro 28A.	Porcentaje de viabilidad obtenida en la rectificación de la prueba de tetrazolio en semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	67
Cuadro 29A.	Porcentaje de germinación obtenida en la semilla de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	67
Cuadro 30A.	Viabilidad de la semilla de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> para los lotes de 48/98A, 50/98A y Los Amates en la prueba de tetrazolio.	67
Cuadro 31A.	Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> para los lotes de 50/98 A y Los Amates en la prueba de índigo carmín.	68
Cuadro 32A.	Porcentaje de germinación obtenida en la semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	68
Cuadro 33A.	Viabilidad obtenida por el <i>Delonix regia</i> durante la prueba de tetrazolio.	68
Cuadro 34A.	Porcentaje de viabilidad para <i>Delonix regia</i> obtenida en la prueba de índigo carmín.	69
Cuadro 35A.	Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Delonix regia</i> durante la rectificación de la prueba de tetrazolio.	69

Cuadro 36A. Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Delonix regia</i> en la rectificación de los patrones para la prueba de índigo carmín.	69
Cuadro 37A. Porcentaje de germinación obtenida por <i>Delonix regia</i> en la elaboración del patrón.	69
Cuadro 38A. Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Delonix regia</i> de los lotes de 49/98A, El Progreso y la de Morales, en la prueba de tetrazolio.	70
Cuadro 40A. Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Delonix regia</i> de los lotes de El Progreso y la de Morales, en la prueba de indigo carmín.	70
Cuadro 41A. Porcentaje de viabilidad obtenido por <i>Gliricía sepium</i> durante la realización del patrón de tinción para tetrazolio.	71
Cuadro 42A. Porcentaje de viabilidad obtenido por <i>Gliricía sepium</i> durante la realización del patrón de tinción para índigo carmín	71
Cuadro 43A. Porcentaje de viabilidad obtenido por <i>Gliricía sepium</i> durante la rectificación del patrón de tinción para tetrazolio.	71
Cuadro 44A. Porcentaje de germinación obtenida por <i>Gliricía sepium</i> en la elaboración del patrón.	72
Cuadro 45A. Porcentaje de viabilidad obtenido por <i>Gliricía sepium</i> durante la rectificación del patrón de tinción para indigo carmín.	72
Cuadro 46A. Porcentaje de germinación obtenida por <i>Gliricía sepium</i> en la rectificación del patrón.	72
Cuadro 47A. Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Gliricía sepium</i> de los lotes 43/98A, Retalhuleu y Monterico en la prueba de tetrazolio.	73
Cuadro 48A. Viabilidad obtenida por la semilla de <i>Gliricía sepium</i> de los lotes 43/98A, Retalhuleu y Monterico en la prueba de indigo carmín.	73
Cuadro 49A. Porcentaje de germinación obtenido por la procedencias de <i>Gliricía sepium</i> .	73
Cuadro 50A. Analisis de varianza para el porcentaje de viabilidad y el porcentaje de germinación en las semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	74
Cuadro 51A. Costo de aplicion de la prueba de tetrazolio en conacaste.	74
Cuadro 52A. Costo de aplicación en la prueba de germinacion directa para conacaste.	74
Cuadro 53A. Costo para la aplicación de la prueba de índigo carmín en conacaste.	74



Cuadro 54A. Analisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de <i>Delonix regia</i> .	75
Cuadro 55A. Costo para la prueba de tetrazolio en Flamboyán.	75
Cuadro 56A. Analisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de <i>Gliricidia sepium</i> .	75
Cuadro 57A. Costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en semilla de Madrecacao.	76
Cuadro 58A. Costo para la aplicación de la prueba de germinación directa en Madrecacao.	76

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Parte de la rama de Flamboyán (<i>D. regia</i>) observando la inflorescencia, hojas y fruto.	13
Figura 2. Parte de la rama de Madrecacao (<i>G. sepium</i>) observando la inflorescencia, hojas y fruto.	15
Figura 3. Parte de la rama de Conacaste (<i>E. cyclocarpum</i>) observando la inflorescencia, hojas y fruto.	17
Figura 4. Parte de la semilla de Conacaste (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>)	30
Figura 5. Patrones para la prueba de Tetrazolio	32
Figura 6. Patrones para la prueba de Índigo carmín.	34
Figura 7. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Conacaste para la prueba de Tetrazolio.	37
Figura 8. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Conacaste para la prueba de Índigo carmín.	38
Figura 9. Anatomía de la semilla de flamboyán (<i>Delonix regia</i>).	41
Figura 10. Patrones de tinción para la prueba de Tetrazolio	43
Figura 11. Patrones para la prueba de Índigo carmín	45
Figura 12. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Flamboyán para la prueba de tetrazolio.	47
Figura 13. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Flamboyán para la prueba de indigo carmín.	49
Figura 14. Partes de la semilla de Madrecacao (<i>Gliricidia sepium</i>)	51
Figura 15. Patrones para la prueba de tetrazolio	53
Figura 16. Patrones para la prueba de índigo carmín	55
Figura 17. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Madrecacao para la prueba de tetrazolio.	57
Figura 18. Comparación porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Madrecacao para la prueba de índigo carmín.	59

DESARROLLO DE PATRONES DE TINCION DE TETRAZOLIO E INDIGO CARMIN, PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq) Griseb. (Conacaste), *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper (Madrecacao) y *Delonix regia* (Bojer) Raf. Fl. Tellur (Flamboyán).

DEVELOPMENT OF TETRAZOLIUM AND INDIGO CARMIN STAINING PATTERNS TO DETERMINE VIABILITY IN *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq) Griseb., *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper y *Delonix regia* (Bojer) Raf. Fl. Tellur SEEDS.

RESUMEN

Tradicionalmente se ha utilizado la prueba de germinación directa para obtener el valor de viabilidad de las semillas, pero existen otros metodos que son mucho más rapidos y economicos entre los que se puede mencionar la evaluación directa de embriones, rayos X y las pruebas rapidas, entre estas están las pruebas de tinción las cuales son: tetrazolio que tiñe tejidos vivos y la de índigo carmín que tiñe los tejidos muertos.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar los patrones de tinción que permitieren realizar las pruebas de tetrazolio e indigo carmín en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao, como tambien determinar los costos de las mismas.

En la metodología utilizada se efectuó un estudio de la morfología y anatomía de las semillas, elaborando diagramas describiendo cada una de las partes de las mismas. Se determinó la concentración y el tiempo más adecuados en cada prueba de tinción y para cada una de las especies. Con la información antes indicada se procedió a elaborar el patrón para la prueba de tinción en cada una de las especies.

Elaborados los patrones, fueron rectificadoss y aplicados a semillas de tres procedencias distintas. Se establecieron los costos que representa para el BANSEFOR la aplicación de las pruebas de tinción, cuantificando la cantidad de reactivo, energía utilizada y el costo de la mano de obra, comparándolos con los costos de aplicación de las pruebas de germinación directa.

Como resultado se obtuvo la elaboración del patrón de tinción de cada prueba para cada especie, además se obtuvo el valor de la viabilidad expresado en porcentaje de viabilidad, se demostró que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por las pruebas de tinción con respecto de los resultados de la prueba de germinación directa.

Se obtuvo la correlación existente entre las pruebas de tinción y la prueba de germinación directa. También se demostró que los patrones de tinción se pueden utilizar para semilla de conacaste, flamboyán y madrecaao de cualquier procedencia. Se pudo observar que las pruebas rápidas de tinción requieren de menos tiempo y son menos costosas que la prueba de germinación directa.

Se concluyo que con las pruebas de tetrazolio e indigo carmín es posible obtener un valor de viabilidad, que no difiere significativamente al obtenido por la prueba de germinación directa. Tambien que es posible obtener el valor de viabilidad para las especies en estudio, más rápido y economico que al aplicar la prueba tradicional.

Se recomendo utilizar las pruebas de tetrazolio e indigo carmín para determinar la viabilidad de semillas en estudio, como también realizar el tratamiento pregerminativo de corte en la parte distal y remojo por un periodo de 24 a 48 Hrs para las especies de Conacaste y Flamboyán y para la semilla de Madrecaao unicamente un periodo de remojo de 24 Hrs.

1. INTRODUCCION

En los últimos años, particularmente con el apoyo de proyectos regionales como el Proyecto de Semillas Forestales (PROSEFOR) del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Agrícola (CATIE), en Centro América y el Caribe y en Guatemala através del Banco de Semillas Forestales (BANSEFOR) del INAB se le ha dado impulso a la investigación en semillas forestales a través de la aplicación de métodos y técnicas que permitan generar información básica de las diferentes especies, y de esta manera darle al usuario del BANSEFOR la garantía sobre el material que está adquiriendo. En este sentido, la información generada permitirá utilizar la semilla de la manera más adecuada, tanto técnica como económicamente.

Para determinar la viabilidad de las semillas existen distintos métodos entre los que se puede mencionar la germinación directa que es el usado tradicionalmente y que requiere de cierto período de tiempo (dependiendo de cada especie) para obtener resultados. También existen las pruebas rápidas con las que se puede establecer en pocas horas la viabilidad de las semillas, lo cual agiliza el trabajo de laboratorio reduciendo el uso de recursos y ahorrando tiempo. Con las pruebas rápidas es factible hacer muestreos con mas frecuencia y rapidez en lotes de semillas almacenados de los cuales eista duda en su viabilidad.

El objetivo del trabajo fue desarrollar patrones de tinción con pruebas de tetrazolio e índigo carmín en semillas de Conacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), Madrecacao (*Gliricidia sepium*) y Flamboyán (*Delonix regia*), estandarizando pruebas rápidas de tinción para determinar viabilidad en las semillas de cada una de las especies. La investigación se realizó en el laboratorio del Banco de semillas forestales (BANSEFOR) del INAB.

2. DEFINICION DEL PROBLEMA

Los períodos de tiempo relativamente largos que se requieren para llevar a cabo las pruebas de germinación de la mayoría de especies forestales, tales como: *Gliricidia sepium*, *Delonix regia* y *Enterolobium cyclocarpum*, reducen la eficiencia en tiempo e incrementan el valor económico de análisis de las semillas, además de ocupar un espacio significativo en el laboratorio, que puede limitar otras actividades.

Algunas especies, especialmente forestales, requieren de un período de tiempo relativamente largo para conocer por medio de la germinación directa su viabilidad; además, si el número de lotes de semillas se incrementa, el proceso se vuelve demasiado largo y a la vez costoso. Para algunas especies, principalmente en cultivos agrícolas se han desarrollado métodos rápidos para estimar la viabilidad de las semillas; pero no para especies forestales.

En Guatemala las semillas de especies forestales que se comercializan cuentan únicamente con información básica, tal como el contenido de humedad, peso de mil semillas, contenido de pureza y el valor de viabilidad. Para obtener la viabilidad se utiliza la prueba de germinación directa la cual requiere en la mayoría de casos, de un periodo largo de tiempo para obtener los resultados.

Con la aplicación del patrón de tinción para la prueba de tetrazolio e índigo carmín es posible reducir el tiempo para realizar los análisis en semillas, además, es posible reducir los costos, obteniendo así los resultados mucho más rápido y con menos inversión de recursos.

3. MARCO TEORICO

3.1 MARCO CONCEPTUAL

3.1.1 La semilla

El término semilla se usa generalmente con un sentido funcional y significa unidad de reproducción. La semilla consiste en un pequeño embrión viviente que es alimentado y almacenado en el endospermo con sus respectivas cubiertas protectoras. Al germinar la semilla, el embrión utiliza reservas almacenadas para obtener energía hasta el momento en que sus hojas comienzan a producir carbohidratos mediante la fotosíntesis. El embrión tiene uno o dos cotiledones que serán las primeras hojas de una planta nueva (12).

Las semillas maduras están generalmente formadas por una cubierta protectora con dos capas: la cubierta externa que tiene diferentes formas (testa) y la interna como de papel (tegumento). Dentro de la semilla estará la planta potencial (embrión), formada por el óvulo fertilizado. En algunas especies de angiospermas el embrión puede ser pequeño y estar rodeado por un tejido nutritivo (endosperma), o puede que no haya endosperma y en tal caso el embrión llena toda la semilla. En las semillas de las gimnospermas, el tejido nutritivo no se llama endosperma sino gametofito femenino, ya que el origen del tejido es diferente al del endosperma de las angiospermas (4).

3.1.2 Anatomía y fisiología de la semilla

A. La testa

Los rudimentos de las angiospermas presentan uno o dos tegumentos; sin embargo, en la mayoría de semillas gran parte del tejido tegumentario se destruye y es absorbido por otros tejidos seminales. La cubierta o testa protege al embrión contra muchos factores como desecación, daños mecánicos y pudriciones causadas por hongos (14).

B. El endospermo

El tejido endospermático de una semilla en desarrollo puede estar constituido por células de paredes finas con grandes vacuolas que no contienen sustancias de reserva. Un endosperma así, será parcial o totalmente absorbido por el embrión que crece, ya que este contiene carbohidratos, lípidos y proteínas que al ser metabolizados proveen energía para diferentes procesos en la semilla (14).

C. Embrión y plántula

El embrión es la parte funcional de la semilla que origina una nueva planta y para que éste fenómeno ocurra el embrión debe estar completo. Con la germinación de la semilla, la testa se rompe junto al extremo micropilar y la radícula emerge, el embrión comienza a crecer en forma acelerada dando origen a lo que se denomina una plántula (14).

El embrión como tal consiste de los cotiledones (hojas), que pueden ser uno, dos o más dependiendo de la división o clase de planta. Los cotiledones están unidos a un tallo corto que tiene dos partes: por arriba de los cotiledones se encuentra el epicotilo que termina en la plúmula o punto de crecimiento de las futuras hojas, y por debajo de los cotiledones el hipocotilo que termina en la radícula (raíz potencial). En las semillas sin endosperma, los cotiledones son grandes y carnosos. Todas las partes son por lo general de color blanco o crema, aunque algunos cotiledones son verduscos (4).

3.1.3 Viabilidad de semillas

Es la fracción de semillas que están vivas, y en las que se dan los procesos metabólicos, aunque en forma lenta. Algunas veces la viabilidad se emplea como sinónimo de vigor para indicar la habilidad del embrión para germinar y continuar el desarrollo (2).

3.1.4 Dormancia

Estado fisiológico en el que una semilla dispuesta para germinar no lo hace, aún en la presencia de condiciones ambientales favorables (8).

A. Dormancia de la semilla

Una vez que las semillas han madurado, la sobrevivencia de la especie requiere que estas germinen en el tiempo y lugar favorables para el crecimiento y sobrevivencia de las plántulas. El mecanismo que impide la germinación hasta el momento adecuado se llama dormancia.

a. Punto clave

Los siguientes puntos son esenciales para entender la dormancia de la semilla:

1. La dormancia se encuentra bajo control genético en alto grado.

2. Las condiciones ambientales durante la maduración de la semilla pueden influenciar el grado de dormancia.
3. Las semillas pueden tener más de un tipo de mecanismo de dormancia.
4. El ambiente post-cosecha puede crear dormancia secundaria.
5. La diferencia entre dormancia y germinación retardada¹ no es siempre clara.
6. El menor de los tratamientos severos para contrarrestar la dormancia debe ser probado primero para evitar daños a las semillas; luego tratamientos más severos pueden ser probados en la medida que sean necesarios (8).

b. Tipos de dormancia

1. Dormancia de la testa (dormancia externa)

- 1.1. Impermeabilidad a los gases.
- 1.2. Resistencia mecánica a la hinchazón del embrión.

2. Dormancia del embrión (dormancia interna)

- 2.1. Sustancias inhibitoras usualmente dentro del embrión y tejidos alrededor.
- 2.2. Inmadurez fisiológica. Algunos sistemas enzimáticos o metabolitos cruciales pueden no estar en "su sitio".

3. Dormancia morfológica

Esta resulta cuando las semillas son diseminadas y el embrión no está completamente desarrollado; se requiere crecimiento adicional. La dormancia morfológica es similar a la inmadurez fisiológica.

4. Dormancia secundaria

Esta resulta de alguna acción, tratamiento o herida de las semillas durante la colecta, manejo o siembra.

5. Dormancia combinada

Resulta de dos o más factores primarios, tales como dormancia de la testa y dormancia del embrión.

6. Dormancia doble

Resulta de la dormancia del embrión, tanto en la radícula como en el epicotilo (8).

¹ **Germinación Retardada:** Término general aplicado a las semillas que no germinan inmediatamente pero no lo hacen lo suficientemente lento para ser consideradas como dormantes.

3.1.5 Latencia

Es una condición que evita que las semillas viables germinen aunque estén en condiciones apropiadas de humedad, temperatura, gases e iluminación. Esta condición es reversible sometiendo la semilla a tratamientos con factores no esenciales para la germinación. Los procesos metabólicos ocurren en semillas con latencia, pero a una tasa muy lenta (2).

3.1.6 Germinación de la semilla

La germinación es el proceso de reactivación del metabolismo de la semilla y la emergencia de la radícula (raíz) y de la plúmula (tallo), conducentes a la producción de una plántula. Fisiológicamente, la germinación comienza con las etapas iniciales de reactivación bioquímica y termina con la emergencia de la radícula (4).

A. Alimentos y otros requerimientos para la germinación

El crecimiento de las semillas durante la fase de imbibición se debe a su potencial osmótico y no requiere consumir sus propias reservas de alimentos; sin embargo, tan pronto como el embrión comienza su crecimiento se requiere de energía. Inicialmente esta energía la provee la misma semilla, obtenida en el proceso de respiración, durante el cual se consume la reserva de alimentos.

La semilla de ciertas plantas acuáticas y del arroz puede germinar con baja concentración de oxígeno. En muchas semillas terrestres se da un gran aumento en el consumo de oxígeno un poco después de la hidratación. Una disminución de la germinación durante esta etapa se puede deber a una deficiencia de oxígeno. Por lo tanto, las semillas no necesitan de ningún suministro externo de alimentos aparte de agua y oxígeno para comenzar la germinación (4).

Para muchas especies, las reservas alimenticias se pueden agotar después de 7 días, y cualquier desarrollo posterior de la plántula, dependerá de la fotosíntesis.

Durante la movilización de estas reservas, los productos resultantes se trasladan rápidamente entre las partes en crecimiento del embrión y allí se usa en la generación de enzimas y tejido. En la mayoría de las semillas con endosperma, gran parte de las reservas de alimento provienen de este. En muchos casos, un embrión que ha sido cortado puede germinar sin las reservas de nutrientes del endosperma, pero su desarrollo posterior requiere el inicio temprano del proceso de fotosíntesis (4).

Samaniego Peña (17) indica que en el proceso de germinación ocurren los siguientes eventos: absorción de agua como fenómeno físico por el cual las semillas se hidratan permitiendo el desencadenamiento de reacciones bioquímicas, tales como: activación enzimática, con incremento de la velocidad de respiración, asimilación y traslocación de las reservas alimenticias a los puntos de crecimiento, alargamiento y división celular, dando lugar a la emergencia de la radícula y la plúmula.

3.1.7 Pruebas de germinación

En la mayoría de los casos el objetivo principal de las pruebas de germinación a nivel de laboratorio es conocer la máxima expresión germinativa de las semillas en condiciones adecuadas de temperatura, humedad, oxígeno y sustrato entre otros (17).

Las pruebas de germinación determinan una muestra de la proporción de semillas que son capaces de germinar en condiciones favorables. Sirve para obtener un valor estimado de plantas que se puede obtener (7).

3.1.8 Pruebas de viabilidad

La persistencia de la viabilidad depende de la especie, condiciones de almacenamiento, fluctuación de humedad y estado de latencia (17). Las pruebas de viabilidad van a determinar si una semilla es capaz de germinar. Las pruebas de viabilidad se pueden dividir en directas o indirectas.

A. Pruebas directas

Evalúan la capacidad de germinación y las principales son las que se realizan en arena, papel y algún otro sustrato para germinación.

B. Pruebas indirectas

Estiman la capacidad germinativa de la semilla, midiendo otros parámetros, tales como la actividad metabólica y enzimática. Entre estas se puede mencionar tetrazolio, índigo carmín e inspección de embriones. Estas son difundidas a mayor escala debido a la rapidez de la obtención del porcentaje (7).

La mayor parte de las semillas que se evalúan en su germinación por pruebas directas, tardan de 7 a 14 días después de sembradas en germinador. Los pastos y otras semillas forestales requieren periodos más largos que van de 21 a 35 días, o más.

Si las semillas están en dormancia, los períodos de prueba se alargan debido a que hay que incluir el tiempo requerido por los tratamientos previos necesarios para superar la dormancia (7).

Según Hartmann y Kestler (9) la viabilidad puede determinarse por varias pruebas, siendo las más importantes, la germinación directa, de embriones separados y la de tetrazolio. En la prueba de germinación directa, el porcentaje de germinación se determina por la cantidad de plántulas normales producidas por la semilla que se evalúa.

3.1.9 Pruebas rápidas

A. Formas de determinar la viabilidad

La viabilidad de las semillas se determina mediante tres formas bien conocidas:

- a. Corte seccional o longitudinal para conocer su color, olor, textura y desarrollo normal del embrión.
- b. Por pruebas de germinación, se hace necesario poner en condiciones favorables las semillas para su germinación.
- c. Por pruebas rápidas de tinción.
 - c.1 Prueba de tinción con tetrazolio: para teñir tejidos vivos.
 - c.2 Prueba de tinción con índigo carmín: para teñir tejidos muertos.

3.1.10 Importancia de las pruebas rápidas en especies forestales

Como una medida para conocer la cantidad de plantas a obtener, se recurre a las pruebas de germinación directa, mediante las cuales se determina la viabilidad.

Conociendo el porcentaje de germinación, se facilita el cálculo de las cantidades de semillas que han de sembrarse en el vivero y el número de semillas que han de ponerse en cada postura de una siembra directa en el campo (7).

Con las pruebas rápidas es mucho más fácil obtener información de germinación potencial, ya que no requieren de períodos largos de espera.

A. Pruebas de inspección directa

Según Trujillo N. (19) la prueba de inspección directa o prueba de corte consiste en un examen de la estructura interna de la semilla donde se observa la forma, turgencia, color, olor y tamaño del embrión. Se consideran como no viables las semillas con el embrión lechoso, poco firme, mohoso, podrido o con olor rancio y las que carecen de embrión.

Las semillas moribundas, recién muertas o dañadas no es posible distinguirlas, por lo tanto este método para determinar la viabilidad se considera que no es muy confiable.

B. Prueba de tetrazolio

Mediante la prueba de tetrazolio (cloruro 2,3,5-trimetil tetrazolio) se establece una base para tomar decisiones respecto a la viabilidad de semillas. Este método es más confiable que la intuición o experiencia. Además se dispone de los resultados de la prueba en horas en vez de días o semanas.

La prueba de tetrazolio se basa en la actividad metabólica de las semillas. Presenta la ventaja de la rapidez, ya que la prueba de germinación directa se realiza para la mayoría de las especies, necesita un plazo de 7 a 28 días. Con la prueba de tetrazolio se puede conocer la viabilidad de las semillas en pocas horas. Por eso la prueba de tetrazolio es de gran utilidad cuando se requiere tomar decisiones rápidas sobre compra, venta, beneficiado y muestreo de lotes almacenados por largo tiempo (8).

a. Fundamento de la prueba de tetrazolio

La prueba de tetrazolio fue descubierta por G. Lakon en 1949. Esta se basa en la evaluación de la actividad del grupo de enzimas deshidrogenasas, las cuales son responsables de los procesos de reducción en los tejidos vivos. Utiliza la sal trifenil-clorato de tetrazolio en solución acuosa.

El tetrazolio es una sal no tóxica que tiñe de color rojo intenso los tejidos vivos por reacciones de reducción de la sal en contacto con las enzimas (deshidrogenasas) producidas por el tejido vivo.

La prueba de tetrazolio se basa en el principio de que los tejidos vivos en el proceso de la respiración liberan hidrógeno, el cual se combina con la solución incolora de tetrazolio y produce un pigmento rojo.

El tejido más viejo muestra una tinción pálida o moteada y el tejido muerto permanece blanco (8).

En la germinación se dan procesos de alto metabolismo, en cada una de las partes de la semilla, por lo que es posible determinar si la misma está viva o no. La prueba con tetrazolio hace posible determinar la viabilidad potencial en un lapso de 15 minutos a 24 horas. También proporciona un nuevo enfoque de análisis y de nuevos conocimientos en la evaluación de semillas.

La evaluación de semillas con pruebas de tetrazolio es especialmente útil en semillas latentes o semillas que requieren un tiempo largo para germinar (8).

Con la información de viabilidad obtenida en la prueba de tetrazolio es posible traducir esta a una información de germinación potencial que se expresa en porcentaje.

b. Calibración de la prueba de tetrazolio

Antes de que el resultado obtenido pueda ser utilizado con confianza la prueba tiene que estar primero calibrada. Se requiere una comparación por cada especie del patrón de manchado en tetrazolio, con el resultado de la prueba de germinación directa.

La prueba de tetrazolio no debe ser considerada como única prueba de tinción para determinar la viabilidad de semillas (8).

C. El Indigo carmín como prueba de viabilidad

El Indigo carmín (disodio 5,5-indigtin disulfonato; indigo azul soluble) es utilizado ampliamente en Polonia, Rumania, Rusia y Yugoslavia para determinar la viabilidad de semillas de árboles y arbustos. El indigo carmín es un polvo azul oscuro con cobre lustroso. En solución es azul o se torna a color morado. Se reporta que la prueba de indigo carmín es tan exacta como la de tetrazolio. En sus procedimientos de teñido tiene la ventaja de ser más barato y más seguro, además es menos tóxico para los humanos que el tetrazolio.

El indigo carmín, como el tetrazolio, es sensible a la luz por lo tanto debe guardarse en un lugar oscuro. A diferencia del tetrazolio, el indigo carmín mancha las áreas muertas del embrión puestas en solución. Las áreas muertas son manchadas de color azul, mientras que las áreas vivas permanecen sin manchas (16).

a. Evaluación de los embriones

Según Rostovsev (16) en la prueba de índigo carmín son considerados viables los embriones que presentan las siguientes condiciones:

- i. El embrión está completamente incoloro sin manchas.
- ii. Únicamente con una mancha pequeña en la parte radical.
- iii. Solamente con algunas manchas localizadas en los cotiledones.
- iv. Partes embrionarias solamente manchadas pálidamente en la superficie.

3.1.11 Descripción e importancia de las especies en estudio

A. Flamboyán.

Nombre científico: *Delonix regia*. (Bojer) Raf. Fl. Tellur.

Nombre común: Flamboyán, árbol de fuego, tabuchin (Mex.), flor de fuego (A. C.) guacamayo, árbol del matrimonio (Guat.), poinciana (Hond.), ciavellino, flor de pavo (Col.), malinche (C.R.).

Familia: Caesalpinaceas.

Distribución natural: El Flamboyán es originario de América Central desde el sur de México hasta Nicaragua. Ha sido introducida en las Antillas, las islas Filipinas, Indonesia, Nueva Guinea, Malasia, África Oriental y Occidental. La temperatura para el buen establecimiento de esta especie oscila entre 22 y 29 °C. La especie crece mejor en áreas donde la precipitación anual varía entre 600 y 2300 mm anuales, con un período seco de cuatro a seis meses. Tolerancia un amplio rango de suelos, desde rocosos hasta arcillosos. No crece bien en suelos ácidos (con pH menores a 5.5) ni muy pesados, inundados. (5)

- Descripción:** Es un árbol de copa muy extendida, que alcanza 18 metros de alto; el follaje es plumoso, las hojas grandes divididas en 10 – 25 pares de pinas (ramillas), cada una con 12 – 40 pares de hojuelas. Las flores grandes de 12 – 15 cm de ancho, de color rojo vivo, son muy vistosas. El fruto es una vaina larga, de 35 a 50 cm de largo, con numerosas semillas alargadas.
- Usos:** El Flamboyán se usa principalmente como ornamental y para sombra en plantaciones de café y de té (India), pero no se aprecia mucho debido a sus raíces superficiales. La madera es blanda y no resiste al ataque de las termitas, pero se utiliza para leña; así como las vainas secas. El Flamboyán se usa principalmente como ornamental y para sombra en plantaciones de café y de té (India), pero no se aprecia mucho debido a sus raíces superficiales. La madera es blanda y no resiste al ataque de las termitas, pero se utiliza para leña; así como las vainas secas.
- Reproducción:** Se reproduce fácilmente por semillas (1,600 – 9,000 por kilogramo), que deben colocarse durante uno o dos días en agua fría antes de sembrar. Germina fácilmente y las plántulas crecen rápido. Es muy susceptible al ataque de termitas, así como de orugas defoliadoras (11).

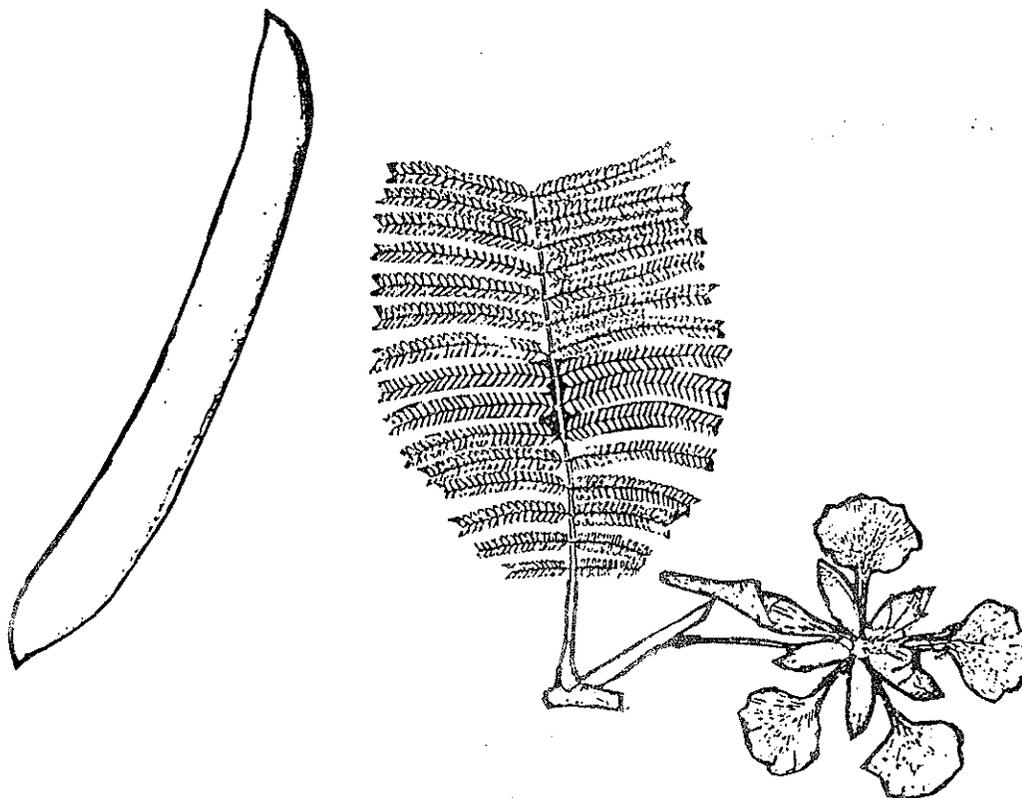


Figura 1. Parte de la rama de Flamboyán (*D. regia*) observando la inflorescencia, hojas y fruto.
Fuente: El autor

B. Madrecacao.

Nombre científico: *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper.

Nombre común: Madrecacao, madero negro, madrado.

Familia: Caesalpinaceae.

Distribución natural: Nativa de la región comprendida entre México y Venezuela. Crece bien desde el nivel del mar hasta los 1500 metros de altitud, preferentemente en zonas con una precipitación anual entre los 600 a 2300 mm y temperaturas promedio entre 24 y 29 °C.

Descripción:

Es un árbol de porte pequeño o mediano que alcanza de 10 a 15 m de altura y entre 25 a 60 cm de diámetro. Tiene hojas compuestas y alternas, con 7 a 17 hojuelas ovadas, de 3 a 7 cm de largo, color gris claro en el envés, las cuales caen durante el verano. Posee flores zigomorfas, papilionadas, de 2.0 a 2.5 cm de largo, con cinco pétalos rosado-blancuzcos o matizados de púrpura, con tallos delgados, en racimos densos de 5 a 10 cm de largo. La corteza es gris blancuzca, a veces amarillenta, delgada y lisa.

Usos:

Es una especie forestal de uso múltiple. Las razones principales por las que muchos pequeños agricultores utilizan el madrecaao es por su fácil propagación, ya sea por semilla o por estacas, por su capacidad de manejo a través de rebrotes o podas de copas y por su capacidad de fijar nitrógeno. Así, entre sus productos se tiene la madera y leña de muy buena calidad, la producción de follaje que se utiliza como abono verde o forraje, la miel de sus flores, las cuales también se utilizan como alimento humano. De las podas de sus ramas se obtienen varas y tutores para diversos cultivos. Así mismo, en las fincas se destaca el uso del madrecaao como sombra en cafetales, y en potreros como cerco vivo. La modalidad del cultivo de árboles en cercas vivas, permite a los propietarios de pequeñas fincas, incorporar el componente forestal en sus propiedades, sin tener que reducir el área dedicada a cultivos alimenticios y pastos. Debido a la variedad de productos forestales que se obtienen, la incorporación de cercas vivas contribuye a aumentar los ingresos familiares, a mejorar el suelo y a controlar la erosión; además de los beneficios que aporta al ecosistema en general.

Reproducción:

El madrecaao se propaga por medio de semillas y estacas. Cuando se va a plantar en cercas vivas se recomienda utilizar estacas de 2.5 m de largo. Los mejores resultados se obtienen con estacas de 6 a 7 cm de diámetro y una edad entre 18 y 22 meses. Se adapta a suelos muy

variados desde húmedos hasta secos, incluyendo suelos erodados, calcáreos y dunas; sin embargo, en zonas húmedas no produce semilla y es afectado por varias plagas (6).



Figura 2. Parte de la rama de Madrecacao (*G. sepium*) observando la inflorescencia, hojas y fruto.

Fuente: El autor.

C. Conacaste.

- Nombre científico: *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb.
- Nombre común: Conacaste, Guanacaste (C.R. y H.), guanacaste negro, choreja, guanacaste de oreja (Nicaragua), palo de orejas (El Salvador), fruta de oreja, vaina orejal (Caribe).
- Familia: Mimosaceae
- Distribución natural: Se encuentra naturalmente desde los 25° N en México y a lo largo de América Central, Cuba y Jamaica hasta los 70° S en América del Sur. La distribución altitudinal varía de 0 a 1200 msnm, con precipitaciones de 760 a 2500 mm por año, con una estación seca mínima de 2 a 4 meses y temperaturas mayores a 24 °C. Se localiza en las zonas de vida de bosque seco tropical hasta húmedo tropical. Crece bien en suelos de textura arenosa, franco arenosa y arcillosa, con pH de neutro a ácido. No tolera suelos muy ácidos ni anegados (5).
- Descripción: Arbol de 30 a 50 m de altura y de 2 a 3 m de diámetro; fuste cilíndrico con pequeñas gambas; copa ancha y extendida; la corteza es lisa a ligeramente fisurada, de color gris claro a pardusco con lenticelas elípticas, suberizadas, con grosor de 0.5 a 1 cm. Las hojas son compuestas, bipinadas, alternas, con 5 a 15 pares de pinnas y cada pinna con 20 a 30 pares de hojuelas o folíolos lineales de 5 a 15 mm de largo, ápice agudo, glabras, envés verde pálido y haz verde oscuro. Las inflorescencias en cabezuelas axilares, con flores pequeñas, sésiles, de color blancuzco a verde claro, cáliz de 2.5 mm de largo, densamente pubescente, corola blancuzca, estambres unidos en forma de tubo. Los frutos en vainas enroscadas, leñosas, lustrosas,

indehiscentes de color café claro a oscuro cuando maduras, conteniendo 10 a 15 semillas ovoideas y aplanadas.

Usos:

Se utiliza en construcción, puertas, muebles y bateas, ruedas de carreta, artesanías finas, chapa, madera contrachapada, torneado, construcción marina, puentes (no en contacto con el agua), postes y maderas para cercas, gabinetes, ebanistería, traviesas para línea férrea, tablilla y carpintería en general. El árbol es un fijador de nitrógeno, usado como sombra y forraje. Se hace alcohol de la fruta, y de las semillas machacadas se obtenía antiguamente lejía que era utilizada como jabón. De la corteza es posible extraer un tinte de color marrón (5).

Reproducción:

La floración se inicia cuando los árboles están sin hojas, en los meses de marzo a abril en América Central.

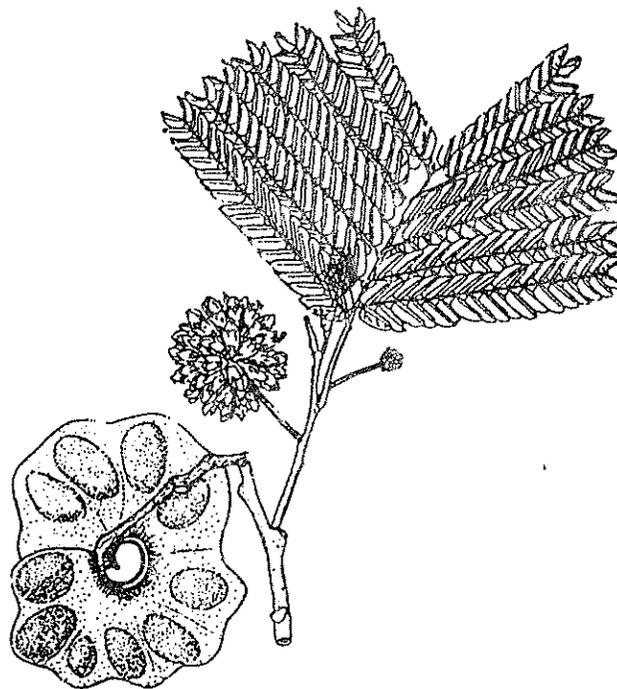


Figura 3. Parte de la rama de Conacaste (*E. cyclocarpum*) observando la inflorescencia, hojas y fruto. Fuente: El autor.

3.2 MARCO REFERENCIAL

3.2.1 Localización y características del lugar donde se desarrolló el estudio

El estudio se realizó en el laboratorio del Banco de Semillas Forestales (BANSEFOR), del Instituto Nacional de Bosques (INAB), en la ciudad de Guatemala. El banco esta ubicado en la ciudad de Guatemala, a 1502.32 msnm. , en las coordenadas Latitud 14° 35' 44" Norte y Longitud 90° 31' 50" Oeste. El laboratorio tiene una temperatura promedio de 23 °C y una humedad relativa del 70%.

3.2.2 Procedencias de las semillas en estudio

De cada una de las especies en estudio se obtuvieron tres procedencias distintas, mediante colecta en arboles aislados ya que no existe bosque de los mismos. En el cuadro 1 se describe la información general de las 3 procedencias.

Cuadro 1. Información sobre las procedencias de las especies en estudio.

Especie	Procedencia	Fecha	Altura (m)	Diámetro (cm)	Volumen (m ³)	Peso (kg)	Latitud	Longitud
Flamboyán	Escuintla	6/98	3.0	24.2	3142.8	730	14° 22' 3"	90° 49' 48"
	Izabal	7/98	1.5	25.6	3111.3	2	15° 44' 16"	88° 35' 30"
	El progreso	7/98	1.5	27.7	780.0	370	14° 55' 49"	90° 8' 31"
Conacaste	Escuintla	3/98	3.5	24.2	3142.8	730	14° 22' 3"	90° 49' 48"
	Jutiapa	4/98	1.20	26.2	1241.3	478	14° 20' 4"	89° 42' 21"
	Izabal	4/98	1.20	25.6	3111.3	2	15° 44' 16"	88° 35' 30"
Madrecacao	Escuintla	4/98	1.25	24.2	3142.8	730	14° 22' 3"	90° 49' 48"
	Retalhuleu	4/98	0.5	26.9	2690.7	205	14° 31' 19"	91° 41' 48"
	Zacapa	4/98	0.5	26.8	652.3	210	14° 57' 51"	89° 35' 4"

En Cuadro 1 se puede observar que la cantidad de semilla utilizada para la procedencia de Escuintla es mayor debido a que con esta procedencia se desarrollaron los patrones de tinción.

4. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Desarrollar patrones de tinción de tetrazolio e índigo carmín para determinar viabilidad en semillas de *Enterolobium cyclocarpum*, *Gliricidia sepium* y *Delolinx regia*.

Objetivos específicos:

- Elaboración del patrón de tinción para las prueba de tetrazolio para determinar viabilidad en semillas de las especies *E. cyclocarpum*, *G. sepium* y *D. regia*.
- Elaboración del patrón de tinción para la prueba de índigo carmín para determinar viabilidad en semillas de las especies *E. cyclocarpum*, *G. sepium* y *D. regia*.
- Determinar si existe asociación entre la prueba de tetrazolio e índigo carmín y la prueba de germinación directa.
- Determinar si con la aplicación de pruebas de tinción se reduce el tiempo y costo en comparación con las pruebas de germinación directa para las tres especies.

5. HIPOTESIS

La viabilidad obtenida por medio de las pruebas de tetrazolio e índigo carmín tienen la misma confiabilidad que la obtenida en las pruebas de germinación directa.

La aplicación de pruebas de tetrazolio e índigo carmín para las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*, *Gliricidia sepium* y *Delonix regia* reducen el tiempo y costo con relación a la prueba de germinación directa.

6. METODOLOGIA

6.1 MATERIAL EXPERIMENTAL

6.1.1 Material Vegetal

De la procedencia Escuintla fueron utilizados 3 Kg de Flanboyán (*D. regia*), 1.25 Kg de semilla de Madrecacao (*G. sepium*) y 3.5 Kg de semilla de Conacaste (*E. cyclocarpum*), del total recolectada, con la que se realizaron los patrones de tetrazolio e índigo carmín, las otras dos procedencias fueron utilizadas cuando la prueba fue aplicada a semilla de otras procedencias.

6.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

6.2.1 Desarrollo de patrones de tinción para tetrazolio e índigo carmín

Fue necesario seguir una serie de pasos que se describen a continuación:

A. Estudio morfológico de las semillas

Se realizaron observaciones de la morfología de las semillas de cada una de las especies en estudio, principalmente el embrión, los cotiledones, la radícula, la plúmula y la zona de los primordios seminales. Se hizo un corte en la parte distal para que pudiera penetrar el agua, ya que las mismas poseen una capa impermeable. Se colocaron éstas en remojo hasta el momento en que la testa de las mismas se pudo partir con facilidad con un bisturí o con la mano.

La forma como se describieron cada una de las partes de la semilla fue la siguiente:

- Número
- Posición
- Forma
- Color
- Tamaño.

B. Preparación de las soluciones

a. Solución de tetrazolio

Para preparar la solución de tetrazolio, se utilizó sal de tetrazolio y solución tampón. La solución tampón se preparó utilizando dos soluciones diferentes que se mezclaron.

La primera solución se preparó disolviendo 9.078 g de fosfato de potasio (KH_2PO_4) en 1000 ml de agua destilada, y la segunda solución se preparó disolviendo 11.876 g de fosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 1000 ml de agua destilada.

Se mezclaron dos partes de la solución de fosfato de potasio con tres partes de la solución de fosfato de sodio. Las concentraciones de tetrazolio se prepararon con 0.1, 0.5 y 1 g de sal de tetrazolio, las que se disolvieron en 100 ml de solución tampón, para obtener una solución de tetrazolio del 0.1, 0.5 y 1 % respectivamente. Posteriormente, las soluciones de tetrazolio se almacenaron en la oscuridad y en refrigeración a 5 °C.

b. Solución de Índigo carmín

Para preparar la solución de índigo carmín, se disolvió un gramo de índigo carmín en agua a punto de ebullición por treinta minutos, posteriormente la solución fue enfriada y filtrada; el índigo carmín que no se disolvió se secó en horno a 105 °C hasta obtener un peso constante.

La parte no disuelta de índigo carmín fue pesada y el peso obtenido se utilizó como factor de corrección para preparar las soluciones en las concentraciones de 0.01, 0.05 y 0.025%.

Las soluciones de índigo carmín preparadas se almacenaron en la oscuridad y en refrigeración a 5 °C.

C. Desarrollo de Patrones para determinar viabilidad

a. Acondicionamiento de semillas

Previo a la tinción de las semillas de las especies en estudio fue necesario acondicionarlas para tener una tinción fiable que permitieran la evaluación de las mismas. En las semillas de Conacaste y Flamboyán se hizo un corte de la testa, posteriormente se pusieron en remojo en agua destilada por 24 Hrs. Las semillas de madre cacao se colocaron en remojo en agua destilada por 24 y 48 Hrs. respectivamente.

Se hicieron grupos de 50 semillas, se observaron y evaluaron en períodos de 24 y 48 Hrs, se consideró como tiempo adecuado de acondicionamiento, cuando la testa de la semilla se desprendió con facilidad.

D. Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín

a. Concentración adecuada de tetrazolio

Con las semillas acondicionadas, se hicieron 4 repeticiones de 50 semillas para cada concentración. Las repeticiones se colocaron en las soluciones dentro del horno a 35 °C. Se observaron las semillas a intervalos de 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de colocadas en la solución. La presencia de tejidos vivos en la semilla se manifestó por la coloración roja de éstas.

Se hizo una comparación de la tinción obtenida en cada una de las concentraciones con sus tiempos con la tinción característica del manual de tetrazolio (8), determinando de esta manera cual fue la concentración más adecuada.

b. Concentración adecuada de índigo carmín

Con las semillas acondicionadas se hicieron 4 repeticiones de 50 semillas para cada concentración. Las repeticiones se colocaron en las soluciones a temperatura ambiente y en la oscuridad. Se observaron las semillas a intervalos de 1, 2, 4, 6, y 8 horas después de haberlas colocado en la solución.

La presencia de tejidos muertos en la semilla se manifestó por la coloración azul de éstas. Se hizo una comparación de la tinción obtenida en cada una de las concentraciones con sus tiempos y el color característico de la tabla de Munsell (12), determinando de esta manera la concentración más adecuada.

E. Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio

Para la elaboración del patrón de tetrazolio las semillas previamente acondicionadas fueron colocadas en la solución con la concentración y tiempo establecido, haciendo cuatro repeticiones de 50 semillas para cada especie. Después fueron agrupadas según el área teñida. Además se indicó el valor de viabilidad o no-viabilidad de acuerdo a los siguientes criterios:



Por el área de tinción:

Características de las semillas viables:

1. El embrión:

Completamente teñido.

Completamente teñido con excepción de las necrosis que se citan a continuación en las siguientes estructuras:

1.1 La radícula:

Completamente teñida.

1.2 Primarios seminales:

Primarios de raíz y/o tejidos que rodean la zona de primordios que estén teñidos.

1.3 Cotiledones:

Completamente teñidos.

Se permitirán necrosis superficiales aisladas y en el centro del cotiledón en la parte superficial exterior, excepto en la unión con el eje del embrión.

1.4 Plúmula:

Completamente teñida.

Que esté teñida por lo menos un cuarto desde el extremo distal.

Otros criterios:

1. Tejidos viables:

Se consideraron tejidos viables:

- Cuando las partes de la semilla se tiñeron gradual y uniformemente, desde las superficies externas hacia el interior.
- Cuando los cambios en la intensidad del color fueron graduales y sin límites, nítidos de color rojo brillante y lustroso, especialmente si no están excesivamente teñidos.
- Cuando la intensidad del color no fue uniforme y se incrementó gradualmente con el aumento del grado de deterioro se considerarán débiles, pero viables.

2. Tejidos no viables:

Se consideraron tejidos no viables:

- Cuando el color del tejido fue moteado, el color pudo ser rojo purpúreo, pardusco o grisáceo, y pudo variar en intensidad, desde el rojo anormalmente oscuro o color corinto a rojo pálido o rosáceo.
- Los tejidos que se mostraron recubiertos de líquido y faltos de turgencia y las superficies de corte flácidas y borrosas, se consideraron también tejidos no viables.

F. Desarrollo de patrón de tinción para índigo carmín

Para la elaboración del patrón de tetrazolio las semillas previamente acondicionadas fueron colocadas en la solución con la concentración y tiempo establecido, haciendo cuatro repeticiones de 50 semillas para cada especie. Después fueron agrupadas según el área teñida. Además se indicó el valor de viabilidad o no-viabilidad de acuerdo a los siguientes criterios:

Por el área de tinción:

Características de las semillas viables:

1. El embrión:

Completamente sin teñir.

Completamente sin teñir con excepción de las necrosis que se citan a continuación en las siguientes estructuras:

1.1 La radícula:

Completamente sin teñir.

1.2 Primordios seminales:

Primordios de raíz y/o tejidos que rodean la zona de primordios que no se tiñan.

1.3 Cotiledones:

Completamente sin teñir.

Se permitieron tinciones superficiales aisladas y en el centro del cotiledón en la parte superficial exterior, excepto en la unión con el eje del embrión.

1.4 Plúmula:

Completamente sin teñir.

Que no esté teñida por lo menos un cuarto desde el extremo distal.



Otros criterios:

1. Tejidos viables:

Se consideran tejidos viables:

- Los que no se tiñen.
- Las partes de la semilla en donde la intensidad del color azul de tinción mostraban áreas muy pequeñas, también se consideraron tejidos viables.

2. Tejidos no viables:

Se considerarán tejidos no viables:

- Cuando el color del tejido se presentó azul y se incrementó gradualmente.
- Los tejidos que se mostraban recubiertos de líquido y faltos de turgencia y las superficies de corte flácidas y borrosas y totalmente teñidos de color azul, se consideraron también tejidos no viables.

G. Prueba de germinación directa en arena

Para esta prueba se empleó la metodología utilizada en el Banco de Semillas Forestales, que es la recomendada por ISTA² (10). Se utilizó la procedencia de Escuintla, la misma que se usó en la elaboración de los patrones de tinción; la semilla fue sembrada en cajas de plástico transparente (de 37 cm de largo, por 28 cm de ancho y 10 cm de alto) con tapadera. Se utilizaron 2000 cc de arena blanca previamente esterilizada en el horno a 105 °C. por 30 minutos. A este sustrato se agregó agua, a razón del 25% del volumen de arena³. La arena fue nivelada con una regla para eliminar el exceso. Se colocaron cuatro repeticiones de 100 semillas de cada especie.

Se consideró como semilla germinada, cuando la testa se rompió junto al extremo micropilar y la radícula emergió. Los cotiledones emergieron de la testa de las semillas, el hipocótilo se alargó. El resultado obtenido por esta prueba sirvió para relacionar el porcentaje de semillas que germinan en la prueba de germinación directa y el porcentaje de semillas viables que se obtienen con la aplicación de las pruebas rápidas de tinción.

² International Seed Testing Association (Asociación Internacional de Ensayos de Semillas)

³ Información obtenida del laboratorio del Banco de Semillas Forestales del INAB

H. Rectificación de patrones de tinción

a. Rectificación de patrón de tinción de tetrazolio

La semilla previamente acondicionada, fue colocada en la solución de tetrazolio con la concentración y tiempo previamente establecido. Utilizando el patrón elaborado, se clasificó y cuantificó obteniendo valores de viabilidad y no viabilidad.

b. Rectificación de patrón de tinción de índigo carmín

La semilla previamente acondicionada, fue colocada en la solución de índigo carmín con la concentración y tiempo previamente establecido. Utilizando el patrón elaborado, la semilla se clasificó y cuantificó obteniendo valores de viabilidad y no viabilidad.

I. Relación del porcentaje de viabilidad con el porcentaje de germinación

Con el fin de determinar la diferencia existente entre las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa, fueron sometidas a un análisis de varianza, siendo evaluadas por medio de un diseño en bloques al azar.

El modelo utilizado fue: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$

donde

Y_{ij} = Variable de respuesta de la ij-ésima unidad experimental

μ = Efecto de la media general

τ_i = Efecto del i-ésima prueba

β_j = Efecto de la j-ésima repetición

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

a. Tratamientos:

Se evaluaron 3 pruebas con 4 repeticiones, distribuidas de la siguiente forma:

prueba de tetrazolio, prueba de índigo carmín y prueba de germinación directa. En total 3 tratamientos, los cuales se describen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en semillas de conacaste, flamboyán y madrecaao

Tratamiento	Prueba	Concentración	Tiempo
1	tetrazolio	0.5%	4 hrs
2	índigo carmín	0.05%	6 hrs
3	germinación directa	-	
	conacaste	-	15
	flamboyán	-	22
	madrecaao	-	10

b. Variable respuesta:

Porcentaje de viabilidad, el cual fue expresado en las pruebas de tinción por medio del número de semillas viables y en la prueba de germinación directa por el número de semillas germinadas.

c. Coeficiente de correlación

Para medir el grado de asociación existente entre la prueba de tetrazolio e índigo carmín y la de germinación directa, éstas se sometieron a un análisis de correlación donde se obtuvo un coeficiente que indicó el grado asociación entre las pruebas. Según Ostle (13) el coeficiente de correlación funcionará satisfactoriamente como medida de correlación, si manifiesta dos características:

- Debe ser grande cuando el grado de asociación es alto y pequeño cuando es bajo.
- Debe ser independiente de las unidades en que se miden las variables.

$$\text{Formula: } (r^2) = \frac{\sum xy}{\sqrt{(\sum x^2)(\sum y^2)}}$$

Donde:

- (r^2) : Coeficiente de correlación
- $\sum xy$: Sumatoria de los valores de "x" multiplicada por los valores "y"
- $\sum x^2$: Sumatoria de los valores de "x" elevados al cuadrado
- $\sum y^2$: Sumatoria de los valores de "y" elevados al cuadrado

Regla de decisión:

- Si $r^2 > 0$ Existe correlación
- r^2 : 0 - 0.4 Correlación baja
- r^2 : 0.4 - 0.7 Correlación media
- r^2 : 0.7 - 1.0 Correlación alta
- Si $r^2 = 0$ No existe correlación

6.2.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas

La prueba de tetrazolio e índigo carmín fueron aplicadas en semilla de tres procedencias (ver Cuadro 1) con el fin de demostrar que esta prueba se puede aplicar en cualquier semilla sin importar su origen, obteniendo resultados confiables. La metodología aplicada en semillas de procedencias distintas fue la misma utilizada en la elaboración de los patrones de tinción.

6.2.3 Determinación de tiempo y costos de aplicación de pruebas rápidas de viabilidad

Se anotaron los tiempos en que se tiñeron las semillas a diferentes concentraciones. Se calculó también el costo del reactivo empleado, con base en el precio de un gramo de reactivo y se hizo la relación según la cantidad de producto que se utilizó. Además se cuantificó el costo de los materiales de laboratorio, equipo de oficina, costo de la energía eléctrica y todos aquellos en que se incurrió en la elaboración de la prueba, obteniendo el total de la misma. Para determinar el valor de la energía eléctrica empleada se obtuvo el costo de un kw/h, el que se relacionó con la cantidad de w o kw utilizados por el horno, sumándole los impuestos del IVA y la tasa municipal.

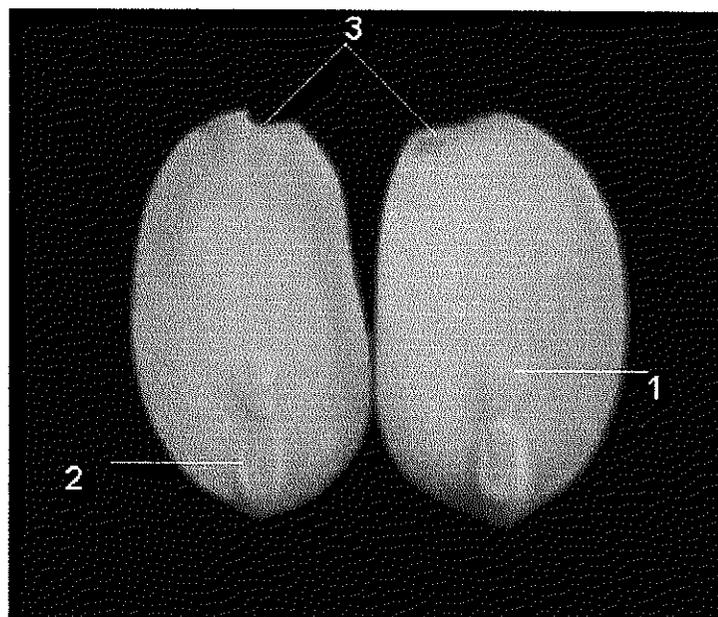
7. RESULTADOS

7.1 Conacaste

7.1.1 Desarrollo de Patrones de tinción:

A. Estudio morfológico y anatómico de las semillas

La semilla de Conacaste esta formada por una testa dura e impermeable de color café, dos cotiledones grandes y carnosos constituyendo la mayor parte del tejido dentro de la semilla, un embrión de forma irregular que a la vez esta formado por la plúmula en la parte superior del mismo y por la radícula en la parte inferior, siendo todas las partes de color blanco como puede observarse en la Figura 4.



1. Plúmula 2. Radícula 3. Cotiledones

Figura 4. Partes de la semilla de conacaste.

En la Figura 4 se observa la semilla despues de haber recibido el tratamiento pregerminativo de corte por la parte distal y permanecido 24 Hrs remojada en agua destilada.

B. Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e Índigo carmín

a. Concentración adecuada de tetrazolio

En las concentraciones de 1% a un tiempo de 2 horas, 0.5% en 4 horas y 0.5 en 6 horas se obtuvo el color rojo típico del manual de pruebas con tetrazolio (8) en las cuatro repeticiones realizadas con las semillas. Al realizar las aplicaciones con el resto de tratamientos (0.1 y 1.0% en los tiempos 2, 6, 8, 12 y 24 horas), la coloración obtenida no coincidía con la presentada por el manual de tetrazolio. En el caso de las concentraciones más bajas, el color fue un rosado muy débil y para las concentraciones altas un color demasiado fuerte llegando hasta un rojo oscuro.

b. Concentración adecuada de índigo carmín

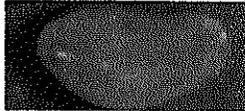
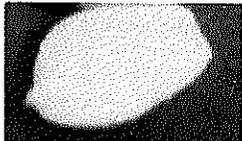
La concentración que presentó las características de color azul según la tabla de Munsell (código 5.PB 3/10)(12) fue la de 0.05% durante 6 horas, en las cuatro aplicaciones. Al observar el resto de las aplicaciones (0.025 y 0.01% en los tiempos de 1, 2, 4, 6 y 8 horas) se obtuvo una serie de coloraciones, desde ausencia de coloración hasta celeste pálido.

C. Desarrollo de patrones de tinción

a. Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio

Para el caso del tetrazolio se elaboraron diagramas, basándose en las áreas teñidas que presentaron las semillas como se observa en el Cuadro 3; éstas se colocaron dentro de cada uno de los tres tipos posibles de clasificación que fueron: semillas viables, semillas dudosas y semillas no viables.

Cuadro 3. Condiciones de clasificación para la semilla de conacaste con la prueba de tetrazolio.

Condicion	Descripcion	Esquema
Viabiles	Embrion y cotiledon completamente tenidos	
No viabiles	Embrion y cotiledon completamente sin teñir	

En el Cuadro 3 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de conacaste, en base a los criterios de tinción, donde se observa el diagrama para cada tipo.

Con la información obtenida del Cuadro 3 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 5; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad, el cual fue de 84% (Ver apéndice 1, Cuadro 25A), para la cual se utilizó la concentración de 0.5% en un período de tiempo de 4 horas.

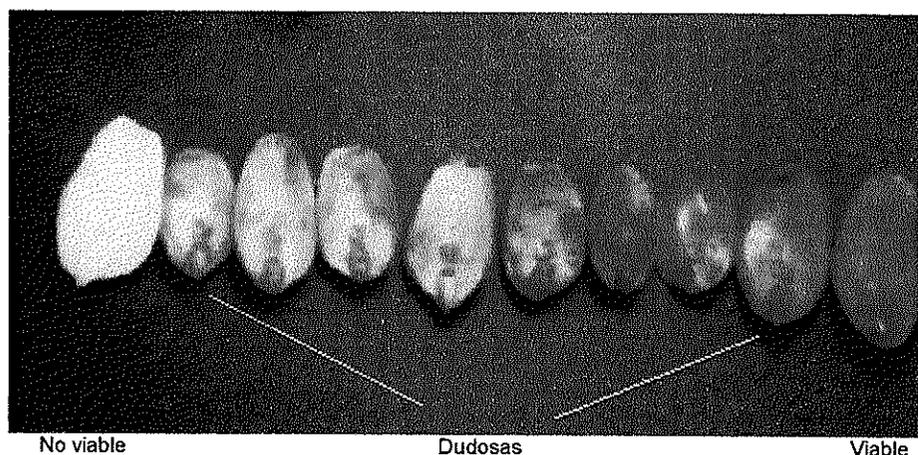


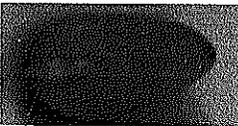
Figura 5. Patrones para la prueba de tetrazolio

En la Figura 5 se observa que la semilla denominada como viable es aquella que tiene el embrión y cotiledon completamente teñido, las semillas dudosas son aquellas que presentan algunas de sus partes teñidas parcialmente y la semilla no viable es aquella que el embrión y cotiledon están completamente sin teñir.

b. Desarrollo del patrón de tinción para índigo carmín

Como en el caso anterior se elaboraron diagramas como se puede ver en el Cuadro 4, con esta información se elaboró el patrón con el cual se obtuvo un valor de viabilidad. Para la elaboración de este patrón se utilizó la concentración de 0.05% por un tiempo de 6 horas.

Cuadro 4. Condiciones de clasificación para la semilla de conacaste con la prueba de índigo carmín.

Condicion	Descripcion	Esquema
Viables	Embrion y cotiledon completamente sin tenir	
No viables	Embrion y cotiledon completamente tenidos	

En el Cuadro 4 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de conacaste, en base a los criterios de tinción. También es posible observar el diagrama para cada uno de los tipos.

Con la información obtenida del Cuadro 4 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 6; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad, el cual fue de 81% (Ver apéndice 1, Cuadro 26A), para lo cual se utilizó la concentración de 0.05% en un período de 6 horas.

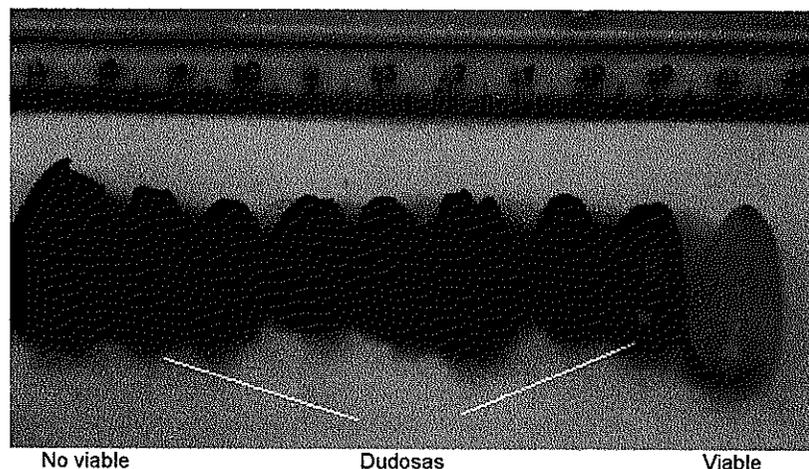


Figura 6. Patrones para la prueba de Índigo carmín.

En la Figura 6 se observan los tipos de clasificación de la semilla en la prueba de Indigo carmín. La semilla viable es aquella en que el el embrión y el cotiledon está completamente sin teñir, las semillas dudosas son aquellas que presentaron algunas partes teñidas parcialmente y la semilla no viable es aquella en la que el embrión y cotiledon se tiñeron completamente.

D. Rectificación de patrones de tinción

a. Rectificación de patrón de tinción de tetrazolio

Al rectificar la prueba de tetrazolio se utilizó el patrón ya elaborado, clasificando a la semilla en viable y no viable, obteniendo en este caso 83% de viabilidad, resultado que es similar al observado durante la elaboración del patrón. Esto da la pauta de que el patrón está correcto (Ver apéndice 1 Cuadro 27A). La fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que ésta presento el mismo comportamiento que la semilla que no germinó en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

b. Rectificación de patrón de tinción de Índigo carmín

Al realizar la rectificación para la prueba de Índigo carmín se clasificó a la semilla en viable y no viable. Se obtuvo un porcentaje de viabilidad de 82% similar al obtenido al momento de elaborar los patrones de tinción (Ver apéndice 1 Cuadro 28A).

Al igual que en la prueba anterior la fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que esta semilla presentó el mismo comportamiento que la semilla que no germinó en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

E. Relación del porcentaje de viabilidad de las pruebas de tinción con el porcentaje de germinación de las pruebas directas

Mediante la prueba de germinación directa en Conacaste se obtuvo un 82% de germinación (Ver apéndice 1 Cuadro 29A). Mediante un análisis de varianza se pudo determinar que no existe diferencia significativa entre la prueba de germinación directa y las pruebas de tinción (tetracólio e Indigo carmín) ya que los resultados de germinación y viabilidad son estadísticamente iguales, como se puede observar en Cuadro 5.

Cuadro 5. Resumen del análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad y el porcentaje germinación en las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

Fuente de variación	F calculada	Pr > F
Bloques	2.46	0.1605
Tratamientos	0.28	0.7660 α
Error Exp.		
Total		

C.V.= 8.185033

*: Hay significancia

α : No hay significancia

Como se puede ver en el Cuadro 5, se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.760 con un 95% de confiabilidad, lo que indica que no hay diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos aplicados a la semilla de conacaste. En este sentido se puede decir que cualquiera de los tratamientos que con se apliquen para determinar viabilidad, se tendrá la confiabilidad de obtener un resultado similar.

7.1.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas

A. Prueba de tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de conacaste, debido a que el coeficiente de correlación obtenido en las pruebas es cercano al uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Coeficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de conacaste de las distintas procedencias.

Procedencia	Lote	Muestra	% Germinación	Coefficiente de correlación
Escuintla	48/98A	83	81.75	0.9365
Jutiapa	50/98A	82	84.25	0.8514
Los Amates	Sin código	84	86.5	0.8807

En Cuadro 6 se puede observar el coeficiente de correlación (r^2) obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de tetrazolio con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de conacaste.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido con la prueba de tetrazolio y el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa para cada una de las procedencias, como se puede ver en la Figura 7, indica el grado de confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de conacaste.

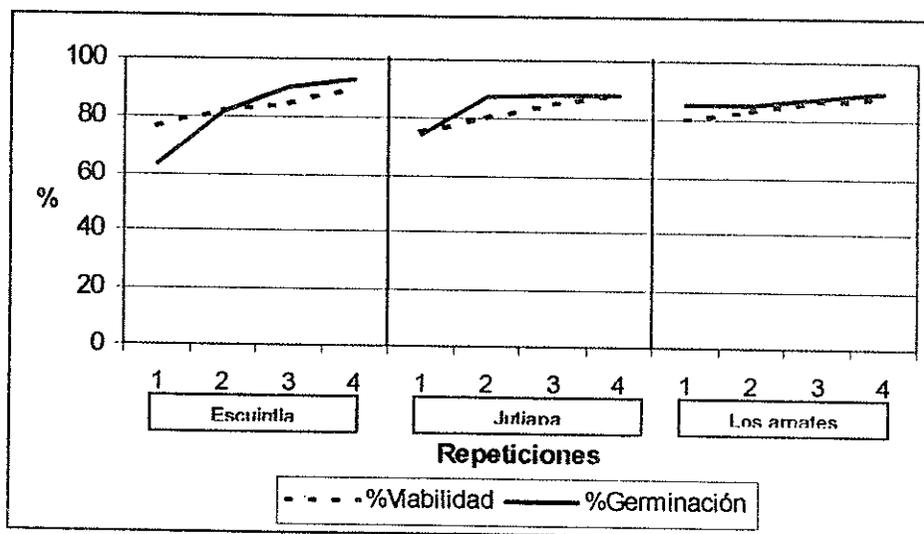


Figura 7. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Conacaste para la prueba de tetrazolio.

En la Figura 7 se presenta el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación de cada uno de los lotes evaluados para la semilla de conacaste. La viabilidad esta representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

B. Prueba de índigo carmín

Para la prueba de índigo carmín se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de conacaste, debido a que el coeficiente obtenido por las mismas es cercano a uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Coeficiente de correlación obtenido por la semilla de conacaste de las distintas procedencias.

Procedencia	Lote	% Viabilidad	% Germinación	Coeficiente de correlación
Escuintla	48/98A	81.0	81.75	0.9116
Jutiapa	50/98A	81.5	84.25	0.6961
Los Amates	Sin codigo	83.0	86.5	0.8807

En el Cuadro 7 se puede observar el coeficiente de correlación r^2 obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de índigo carmín con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de conacaste.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido por la prueba de índigo carmín con el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa, para cada una de las procedencias (Figura 8), nos da una idea de la confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de conacaste.

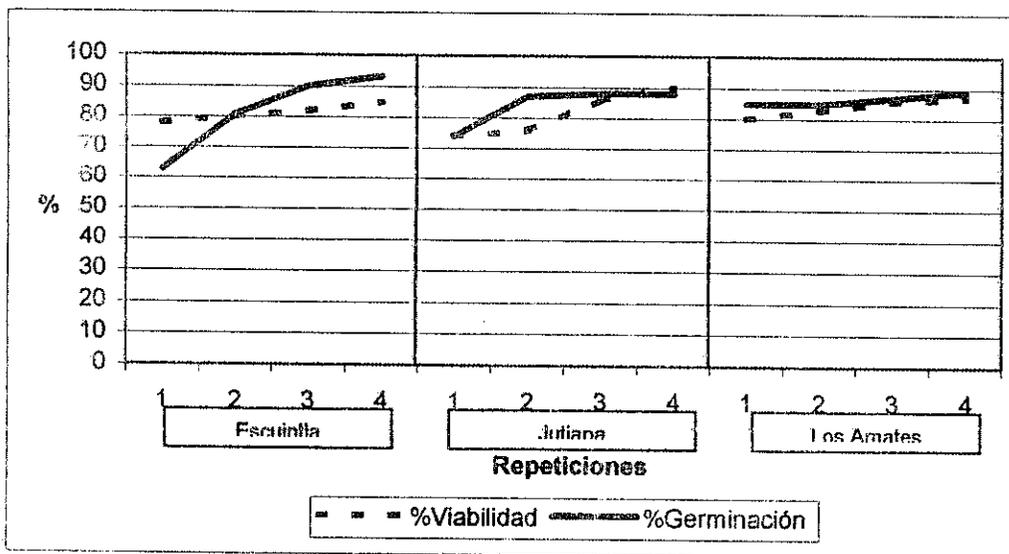


Figura 8. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Conacaste para la prueba de Índigo carmín.

En la Figura 8 se representa el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación de cada uno de los lotes evaluados para la semilla de conacaste, la viabilidad esta representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

7.1.3 Determinación de costos de aplicación de pruebas de tinción

A. Prueba de tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se encontraron tres concentraciones con las que se obtuvo la tinción típica de la prueba de tetrazolio (1.0% 2Hrs, 0.5% 4Hrs y 0.5% 6Hrs), y a las cuales se les aplicó un análisis de costos con los que se determinó cual era más económica de aplicar, tal como se observa en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Resumen de costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Conacaste.

Prueba	Costo
Tetrazolio 0.5% 6Hrs	Q 37.66
Tetrazolio 1.0% 2Hrs	Q 54.06
Tetrazolio 0.5% 4Hrs	Q 36.99
Germinación directa	Q. 233.62

En el Cuadro 8 se observan los costos que representa aplicar una prueba de tetrazolio con cada una de las concentraciones adecuadas. Se observa que la concentración más económica es la de 0.5% en 4Hrs. Además se puede observar que la diferencia entre la concentración 0.5-4Hrs y 0.5-6Hrs es insignificante en relación a sus costos, pero existe una diferencia en tiempo de 2Hrs, que dio la pauta de elección.

De igual manera fueron evaluados los costos de aplicación de una prueba de germinación directa. Se pudo determinar que al aplicar una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado y necesita de un tiempo mayor para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de tetrazolio que es mucho más rápida, ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

B. Prueba de índigo carmín

Para la prueba de Índigo carmín solo se encontró una concentración con la que se obtuvo la tonalidad característica de la tabla de Munsell, haciendo la evaluación de costos únicamente para la misma como se puede observar en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Resumen de costo para la aplicación de la prueba de índigo carmín en Conacaste.

Prueba	Costo
Indigo carmín	Q. 16.69
Germinación directa	Q. 233.62

En el Cuadro 9 se observan los costos que representa aplicar una prueba de índigo carmín con la única solución que se obtuvo la coloración característica siendo esta la de 0.05% en 6Hrs.

De igual manera fueron evaluados los costos de aplicación de una prueba de germinación directa. Como se puede observar que la aplicación de una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado y necesita de un periodo de tiempo para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de índigo carmín que es mucho más rápida ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

7.2 Flamboyán

7.2.1 Desarrollo de patrones de tinción

A. Estudio morfológico y anatómico de las semillas

La semilla de flamboyán esta constituida por una testa de consistencia dura e impermeable de color gris blanquecina, dos cotiledones grandes y carnosos constituyendo la mayor parte del tejido dentro de la semilla, un embrión de forma ovoide que a la vez esta formado por una plúmula en la parte superior del mismo y por la radícula en la inferior, siendo todas las partes color blanco (Figura 9).

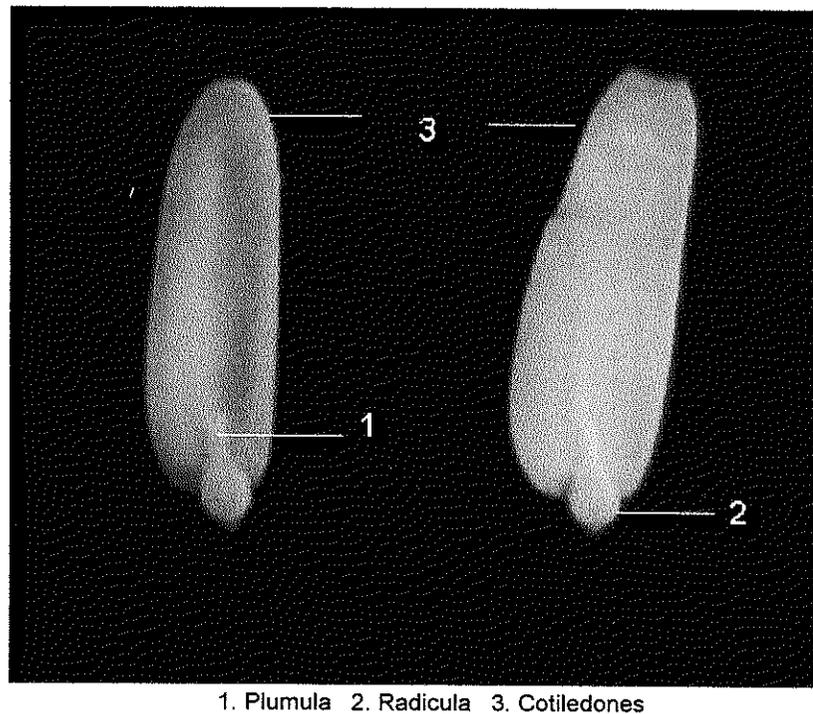


Figura 9. Partes de la semilla de flamboyán (*Delonix regia*).

En la Figura 9 se observa la semilla despues de haber recibido el tratamiento pregerminativo de corte y permanecido 48 Hrs remojada en agua destilada.

B. Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín

a. Concentración adecuada de tetrazolio

En las concentraciones 1% a un tiempo de 4 Hrs, 0.5% en 6 Hrs y 0.5% en 8 Hrs se obtuvo el color rojo típico del manual de prueba con tetrazolio (8). Al realizar las aplicaciones con el resto de concentraciones y tiempos, la coloración obtenida no coincidía con la presentada por el manual de tetrazolio. En el caso de las concentraciones más bajas el color fue un rosado muy débil y para las concentraciones altas un color demasiado fuerte llegando hasta un rojo oscuro.

b. Concentración adecuada de índigo carmín

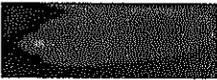
La concentración que presentó características de color según la tabla de Munsell (12) fue de 0.05% durante 6 horas, en las cuatro aplicaciones. Al observar el resto de las aplicaciones (0.025 y 0.01% en los tiempos de 1,2,4,6 y 8 horas) se observó, desde ausencia de coloración hasta un celeste pálido.

C. Desarrollo de patrones de tinción

a. Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio

Para el caso del tetrazolio se elaboraron diagramas, basándose en las áreas teñidas que presentaron las semillas como se observa en el Cuadro 10; éstas se colocaron dentro de cada uno de los tres tipos posibles de clasificación que fueron: semillas viables, semillas dudosas y semillas no viables.

Cuadro 10. Condiciones de clasificación para la semilla de flamboyán con la prueba de tetrazolio

Condicion	Descripcion	Esquema
Viabiles	Embrion y cotiledon completamente tenidos	
No viables	Embrion y cotiledon completamente sin teñir	

En el Cuadro 10 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de flamboyán, que se hicieron en base a los criterios de tinción, también es posible observar el diagrama para cada de los tipos.

Con la información obtenida del Cuadro 10 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 10; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad, el cual fue de 74% (Ver apéndice 1, Cuadro 30A), para lo cual se utilizó la concentración de 0.5% en un período de tiempo de 4 horas.

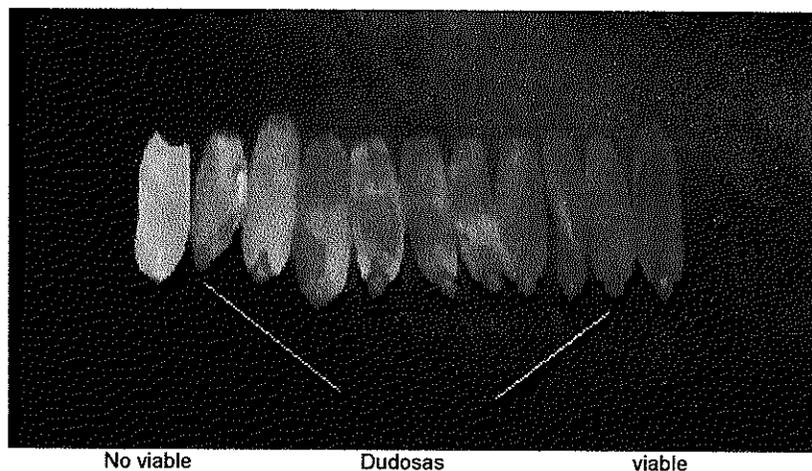


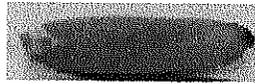
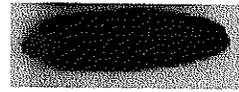
Figura 10. Patrón de tinción para tetrazolio en flamboyán

En la Figura 11 se observa que las semillas denominadas como viables son aquellas en que el embrión y cotiledón se tiñeron completamente, las semillas dudosas son aquellas que presentan algunas de sus partes teñidas y las semillas no viables son aquellas en que el embrión y cotiledón están completamente sin teñir.

b. Desarrollo de patrón de tinción para Indigo carmín

Como en el caso anterior, se realizaron diagramas para la aplicación de criterios de tinción como se puede ver en el Cuadro 11. Con esta información se elaboró el patrón con el cual se obtuvo un valor de viabilidad (Ver apéndice 1, Cuadro 26A). Para la elaboración de este patrón se utilizó la concentración de 0.05% por un tiempo de 6 horas.

Cuadro 11. Condiciones de clasificación para la semilla de flamboyán con la prueba de índigo carmín.

Condicion	Descripcion	Esquema
Viables	Embrion y cotiledon completamente sin tenir	
No viables	Embrion y cotiledon completamente tenidos	

En el Cuadro 11 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de flamboyán, que se hicieron en base a los criterios de tinción, también es posible observar el diagrama para cada uno de los tipos.

Con la información obtenida del Cuadro 11 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 11; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad, el cual fue de 81% (Ver apéndice 1, Cuadro 31A), para la cual se utilizó la concentración de 0.05% en un período de tiempo de 6 horas.

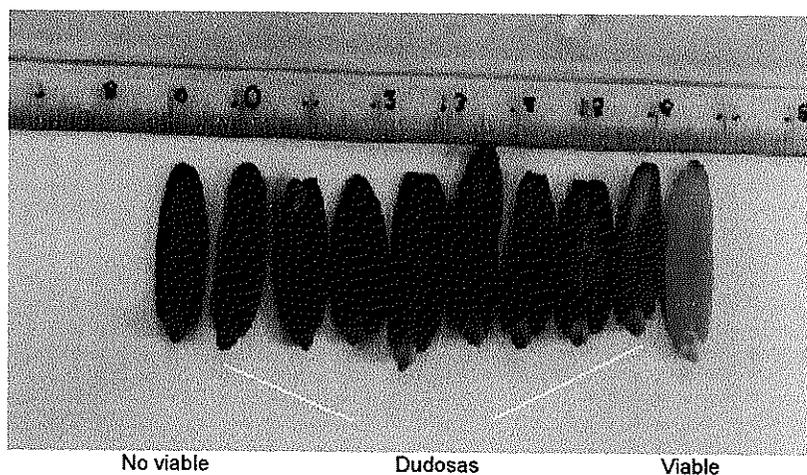


Figura 11. Patrón de tinción para la prueba de Indigo carmín.

En la Figura 11 se observa los tipos de clasificación de la semilla en la prueba de Índigo carmín; la semillas viable es aquella que presento el embrión y cotiledon completamente sin teñir , las semillas dudosas son aquellas que presentaron algunas de sus partes parcialmente sin teñir y las semilla no viable en la que el embrión y cotiledón se tiñeron totalmente.

D. Rectificación de patrones de tinción

a. Rectificación de patrón de tinción de tetrazolio

Al rectificar la prueba de tetrazolio se utilizó el patrón ya elaborado, clasificando a la semilla en viable y no viable, obteniendo en este caso un 74.25% de viabilidad, resultado que es similar al observado durante la elaboración del patrón, lo que indica que el patrón está correcto (Ver apéndice 1 Cuadro 32A). La fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que esta semilla presento el mismo comportamiento que la semilla que no germino en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

b. Rectificación de patrón de tinción de Indigo carmín

Al realizar la rectificación para la prueba de Indigo carmín se clasificó a la semilla en viable y no viable. Se obtuvo un porcentaje de viabilidad de 73.75% similar al obtenido al momento de elaborar los patrones de tinción (Ver apéndice 1 Cuadro 33A).

La fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que esta semilla presentó el mismo comportamiento que la semilla que no germinó en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

E. Relación del porcentaje de viabilidad de las pruebas de tinción con el porcentaje de germinación de las pruebas directas

Mediante la prueba de germinación directa en flamboyán se obtuvo el 76% de germinación (Ver apéndice 1 Cuadro 34A). Se pudo determinar que no existe diferencia significativa entre la prueba de germinación directa y las pruebas de tinción (tetrazolio e índigo carmín) ya que los resultados de germinación y viabilidad son estadísticamente iguales, como se puede observar en Cuadro 12.

Cuadro 12. Resumen de análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de *Delonix regia*.

Fuente de variación	F calculada	Pr > F
Bloques	0.65	0.6104
Tratamientos	0.72	0.5261 α
Error Exp.		
Total		

C.V. = 5.472483 * : Significancia α : No significativo

Como se puede ver en el Cuadro 12, se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.5261 con un 95% de confiabilidad, lo que nos indica que no hay diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos aplicados a la semilla de flamboyán. En este sentido se puede decir que cualquiera de los tratamientos que se apliquen para determinar viabilidad, se tendrá la confiabilidad de obtener un resultado similar.

7.2.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas

A. Prueba de tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de flamboyán, debido a que el coeficiente obtenido por las mismas es cercano a uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Coeficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de flamboyán de las distintas procedencias.

Procedencia	Lote	% Viabilidad	% Germinación	Coeficiente de correlación
Escuintla	49/98A	74.25	76	0.9569
El Progreso	Sin código	63	66.5	0.9424
Morales	Sin código	65.5	62	0.9417

En el Cuadro 13 se puede observar el coeficiente de correlación (r^2) obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de tetrazolio con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de flamboyán.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido por la prueba de tetrazolio con el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa para cada una de las procedencias, como se puede ver en la Figura 12, da una idea de la confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de flamboyán.

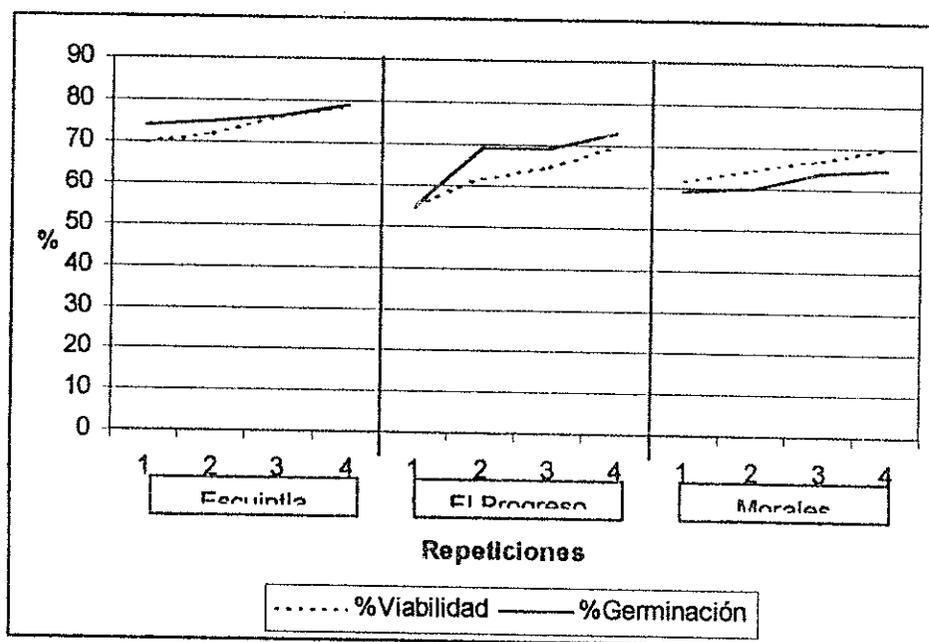


Figura 12. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de flamboyán para la prueba de tetrazolio.

En la Figura 12 se presenta el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación directa de cada uno de las procedencias evaluadas para la semilla de flamboyán, La viabilidad esta representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

B. Prueba de Indigo carmín

Para la prueba de índigo carmín se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de flamboyán, debido a que el coeficiente obtenido por las mismas cercano a uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Coeficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de flamboyán de las distintas procedencias.

Procedencia	Código	Viabilidad (%)	Germinación (%)	Coeficiente de correlación (r^2)
Escuintla	49/98A	73.75	76	0.9699
El Progreso	Sin código	63.75	66.5	0.7819
Morales	Sin código	65.5	62	0.9561

En el Cuadro 14 se puede observar el coeficiente de correlación (r^2) obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de índigo carmín con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de flamboyán.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido por la prueba de índigo carmín con el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa para cada una de las procedencias (Figura 13), da una idea de la confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de flamboyán.

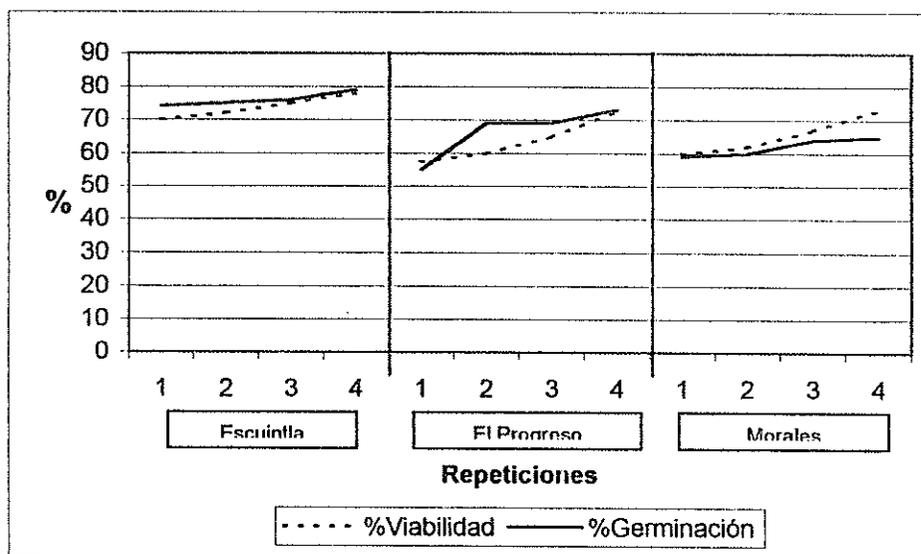


Figura 13. Porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de flamboyán para la prueba de índigo carmín.

En la Figura 13 se representa el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación directa de cada uno de los lotes evaluados para la semilla de flamboyán. La viabilidad esta representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

7.2.3 Determinación de tiempo y costos de aplicación de pruebas rápidas de viabilidad

A. Prueba de tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se encontraron tres concentraciones con las que se obtuvo la tinción típica de la prueba de tetrazolio (1.0% 4Hrs, 0.5 6 Hrs y 0.5% 8 Hrs), a las cuales se les aplicó un análisis de costos con los que se determinó cual era más económico aplicar, como se observa en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Resumen de costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en flamboyán.

Prueba	Costo
Tetrazolio 0.5% 6Hrs	Q 37.66
Tetrazolio 1.0% 4Hrs	Q 54.06
Tetrazolio 0.5% 8Hrs	Q 38.33
Germinación directa	233.62

En el Cuadro 15 se observan los costos que representa aplicar una prueba de tetrazolio con cada una de las concentraciones adecuadas. Además la concentración más económica es la de 0.5% en 6Hrs. También se puede observar que la diferencia entre la concentración 0.5-6Hrs y 0.5-8Hrs es insignificante en relación a sus costos, pero existe una diferencia en tiempo de 2Hrs, que dio la pauta de elección.

De igual manera fueron evaluados los costos de aplicación de una prueba de germinación directa. De igual manera la aplicación de una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado y necesita de un periodo de tiempo para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de tetrazolio que es mucho más rápida ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

B. Prueba de Indigo carmín

Para la prueba de Indigo carmín solo se encontró una concentración con la que se obtuvo la tonalidad característica, haciendo la evaluación de costos únicamente para la misma como se puede observar en el Cuadro 16.

Cuadro 16. Resumen de costos de aplicación de una prueba índigo carmín en comparación con los costos de una prueba de germinación directa.

Prueba	Costo
Indigo carmín	Q. 16.69
Germinación directa	Q. 233.62

En el Cuadro 16 se observan los costos que representa aplicar una prueba de índigo carmín para la única solución con la que se obtuvo la coloración característica siendo esta la de 0.05% en 6Hrs.

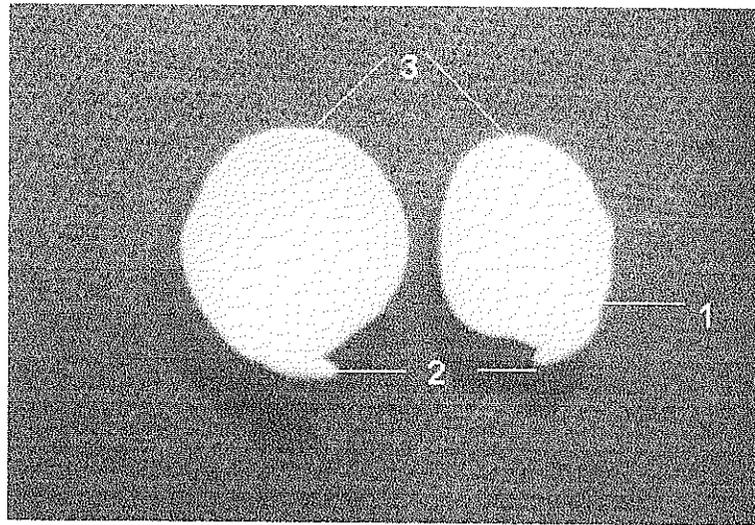
Como se puede observar en la aplicación de una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado y necesita de un periodo de tiempo para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de índigo carmín que es mucho más rápida ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

7.3 Madrecacao

7.3.1 Desarrollo de patrón de tinción

A. Estudio morfológico y anatómico de las semillas

La semilla de Madrecacao esta formada por una testa relativamente delgada y fácilmente permeable al agua, de color amarillo, dos cotiledones grandes y carnosos constituyendo la mayor parte del tejido de la semilla, un embrión de forma alargada y cilíndrica que a la vez esta formado por una plúmula en la parte superior y en la inferior por la radícula, siendo todas las parte de color blanco como se observa en la Figura 14.



1. Plúmula 2. Radícula 3. Cotiledones

Figura 14. Partes de la semilla de Madrecacao (*Gliricidia sepium*)

En la Figura 14 se observan las partes que componen la semilla, la cual recibió un tratamiento de 24 Hrs de remojo en agua destilada.



B. Determinación de la concentración adecuada de tetrazolio e índigo carmín

a. Concentración adecuada de tetrazolio

En las concentraciones de 0.5% por 4 horas y en 0.5% por 6 horas, se obtuvo el color rojo típico del manual de pruebas con tetrazolio (8) en las cuatro repeticiones realizadas con las semillas. Al realizar las aplicaciones con el resto de concentraciones y tiempos, la coloración obtenida no coincidía con la presentada por el manual de tetrazolio, en el caso de las concentraciones más bajas, el color fue un rosado muy débil y para las concentraciones altas un color demasiado fuerte llegando hasta un rojo oscuro.

b. Concentración adecuada de Indigo carmín

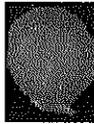
La concentración que presentó las características de color según la tabla de Munsell (12) fue la de 0.05% durante seis horas, en las cuatro aplicaciones. Al observar el resto de las aplicaciones (0.025 y 0.01% en los tiempos de 1, 2, 4, 6 y 8 horas) se obtuvo una serie de coloraciones, desde ausencia de coloración hasta celeste pálido.

C. Desarrollo de patrones de tinción

a. Desarrollo de patrón de tinción para tetrazolio

Para el caso del tetrazolio se elaboraron diagramas, basándose en las áreas teñidas que presentaron las semillas, tal como se observa en el Cuadro 17. Estas se colocaron dentro de cada uno de los tres tipos posibles de clasificación que fueron: semillas viables, semillas dudosas y semillas no viables.

Cuadro 17. Condiciones de clasificación para la semilla de madrecaaco con la prueba de tetrazolio

Condicion	Descripcion	Esquema
Viabiles	Embrion y cotiledon completamente tenidos	
No viabiles	Embrion y cotiledon completamente sin tenir	

En el Cuadro 17 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de madrecaaco, que se hicieron en base a los criterios de tinción, también es posible observar el diagrama para cada uno de los tipos.

Con la información obtenida del Cuadro 17 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 15; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad (Ver apéndice 1, Cuadro 35A), para la cual se utilizó la concentración de 0.5% en un período de tiempo de 4 horas.

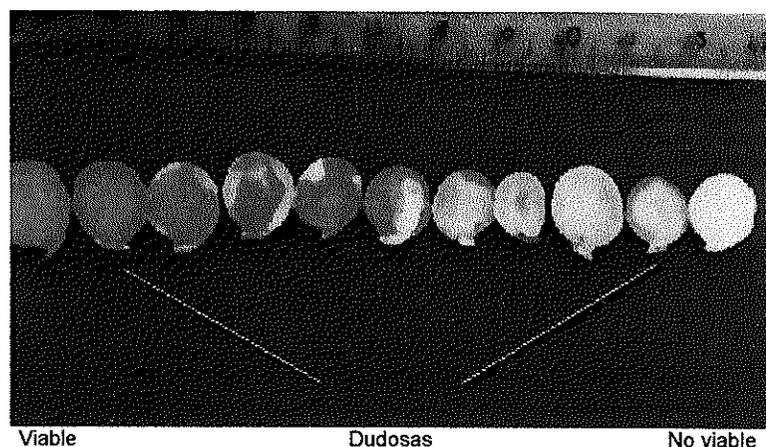


Figura 15. Patrones para la prueba de tetrazolio

En la Figura 15 se observa que la semilla denominada como viable es aquella que el embrión y cotiledon se tiñen completamente, las semillas dudosas son aquellas que en que algunas de sus partes se tiñeron parcialmente y la semilla no viable es aquella que el embrión y cotiledon están totalmente sin teñir.

b. Desarrollo del patrón de tinción para índigo carmín

Como en el caso anterior se elaboraron diagramas, tal como se puede ver en el Cuadro 18. Con esta información se elaboró el patrón con el cual se obtuvo un valor de viabilidad. Para la elaboración de este patrón se utilizó la concentración de 0.05% por un tiempo de 6 horas.

Cuadro 18. Condiciones de clasificación para la semilla de Madrecacao con la prueba de índigo carmín

Condición	Descripción	Esquema
Viables	Embrion y cotiledon completamente sin tenir	
No viables	Embrion y cotiledon completamente tenidos	

En el Cuadro 18 se hace la descripción de los tipos de clasificación en la semilla de madrecacao, que se hicieron en base a los criterios de tinción; también es posible observar el diagrama para cada uno de los tipos.

Con la información obtenida del Cuadro 18 se elaboró el patrón de tinción tal como se puede observar en la Figura 16; además, se obtuvo su respectivo valor de viabilidad, el cual fue de 94.50% de viabilidad (Ver apéndice 1, Cuadro 36A), para la cual se utilizó la concentración de 0.05% en un período de tiempo de 6 horas.

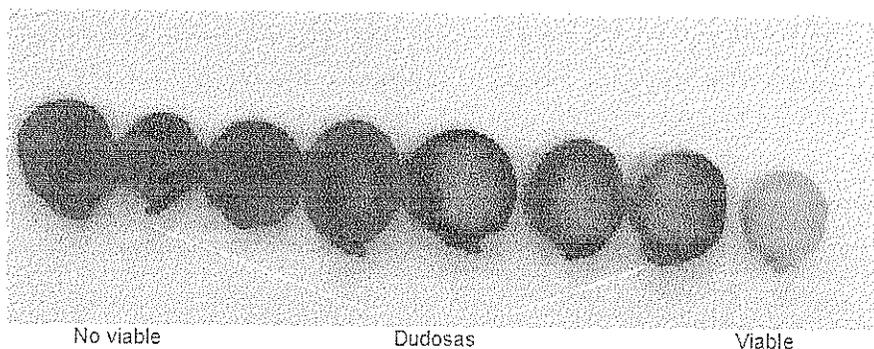


Figura 16. Patrones para la prueba de Indigo carmín.

En la Figura 16 se observan los tipos de clasificación de la semilla en la prueba de Indigo carmín, la semilla viable es aquella que el embrión y cotiledon están completamente sin teñir, las semillas dudosas son aquellas que algunas de sus partes se encuentran parcialmente sin teñir y la semilla no viable la que el embrión y cotiledon están completamente teñidos.

D. Rectificación de patrones de tinción

a. Rectificación de patrón de tinción de tetrazolio

Al rectificar la prueba de tetrazolio se utilizó el patrón ya elaborado, clasificando a la semilla en viable y no viable, obteniendo en este caso un 94.5% de viabilidad, resultado que es similar al observado durante la elaboración del patrón lo que indica que el patrón están correcto (Ver apéndice 1 Cuadro 37A). La fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que esta semilla presentó el mismo comportamiento que la semilla que no germinó en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

b. Rectificación de patrón de tinción de Indigo carmín

Al realizar la rectificación para la prueba de Indigo carmín se clasificó a la semilla en viable y no viable. Se obtuvo un porcentaje de viabilidad de 96% similar al obtenido al momento de elaborar los patrones de tinción (Ver apéndice 1 Cuadro 38A). La fracción de semilla dudosa fue incluida dentro de la semilla no viable debido a que durante la elaboración del patrón se observó que esta semilla presentó el mismo comportamiento que la semilla que no germinó en la prueba de germinación directa, evitando de esta manera el error de aumentar el porcentaje de viabilidad.

E. Relación del porcentaje de viabilidad de las pruebas de tinción con el porcentaje de germinación de las pruebas directas

Mediante la prueba de germinación directa en Madrecacao se obtuvo el 76% de germinación (Ver apéndice 1 Cuadro 39A). Se pudo determinar que no existe diferencia significativa entre la prueba de germinación directa y las pruebas de tinción (Tetrazolio e Indigo carmín) ya que los resultados de germinación y viabilidad son estadísticamente iguales, como se puede observar en Cuadro 19.

Cuadro 19. Resumen de análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de *Gliricidia sepium*.

Fuente de variación	F calculada	Pr > F
Bloques	2.80	0.1310
Tratamientos	1.56	0.2848
Error Exp.		
Total		

C.V.= 1.742160

*: Significativo

□: No significativo

Como se puede ver en el Cuadro 19, se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.2848 con un 95% de confiabilidad, lo que nos indica que no hay diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos aplicados a la semilla de Madrecacao. En este sentido se puede decir que en cualquiera de los tratamientos que se aplique para determinar viabilidad, se tendrá la confiabilidad de obtener un resultado similar.

7.3.2 Aplicación de patrones de tinción en otros lotes de semillas

A. Prueba de Tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de madrecacao, debido a que el coeficiente obtenido por las mismas es cercano a uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 20.

Cuadro 20. Coeficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de Madrecacao de las distintas procedencias.

Procedencia	Lotes	Viabilidad	Germinación	Coeficiente de correlación
Escuintla	43/98A	94.5	96	0.8705
Retalhuleu	Sin código	70	74	0.9154
Monterrico	Sin código	97	98	0.8807

En Cuadro 20 se puede observar el coeficiente de correlación (r^2) obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de tetrazolio con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de madrecacao.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido por la prueba de tetrazolio con el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa para cada una de las procedencias, como se puede ver en la Figura 17, nos da una idea de la confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de madrecacao.

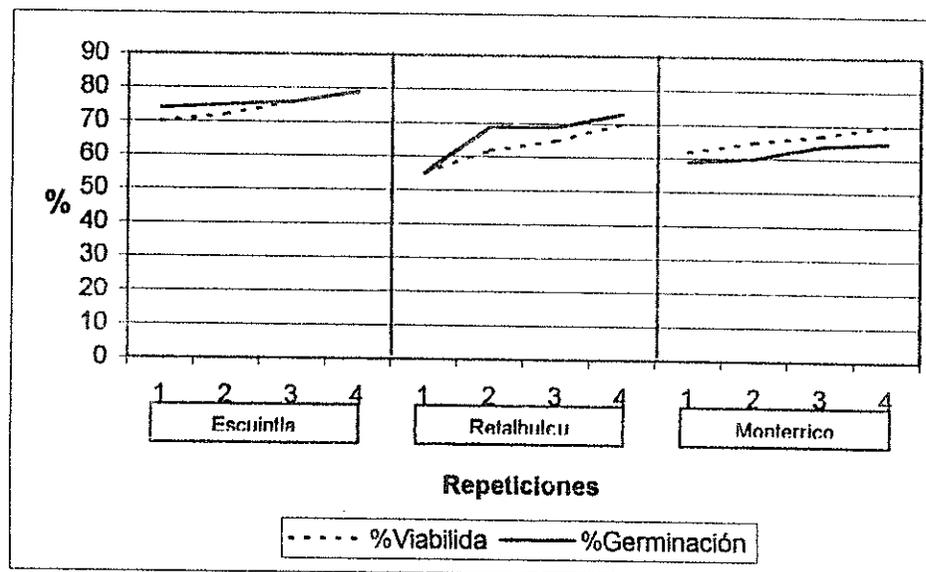


Figura 17. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Madrecacao para la prueba de Tetrazolio.

En la Figura 17 se representa el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación directa de cada uno de los lotes evaluados para la semilla de madrecaao, la viabilidad está representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

B. Prueba de Indigo carmín

Para la prueba de índigo carmín se pudo determinar que existe correlación para cada una de las procedencias de la semilla de madrecaao, debido a que el coeficiente obtenido por las mismas es cercano a uno, cumpliendo de esa manera con la regla de decisión, como se puede observar en el Cuadro 21.

Cuadro 21. Coeficiente de correlación obtenido en las pruebas de viabilidad y germinación por la semilla de Madrecaao de las distintas procedencias.

Procedencia	Código	Viabilidad	Germinación	Coeficiente de correlación
Escuintla	43/98 A	96	96	0.9534
Retalhuleu	Sin código	74	76	0.9166
Monterico	Sin código	95	98	0.8762

En el Cuadro 21 se puede observar el coeficiente de correlación (r^2) obtenido de correlacionar el resultado de la prueba de índigo carmín con el resultado de la prueba de germinación directa en las distintas procedencias de semilla de madrecaao.

La gran similitud existente entre el porcentaje de viabilidad obtenido por la prueba de índigo carmín con el porcentaje de germinación de la prueba de germinación directa para cada una de las procedencias (Figura 18), nos da una idea de la confiabilidad con que se puede aplicar esta prueba para la semilla de Madrecaao.

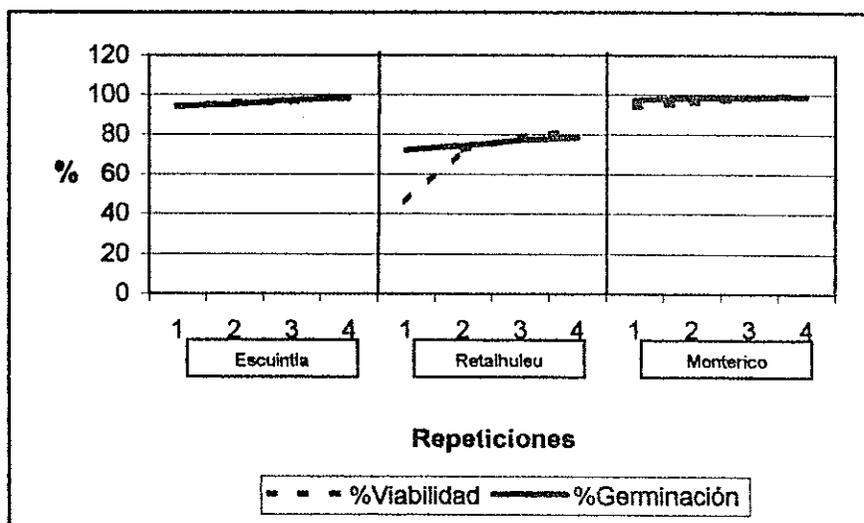


Figura 18. Comparación del porcentaje de viabilidad y germinación de los lotes de semilla de Madrecacao para la prueba de tetrazolio.

En la Figura 18 se representa el comportamiento del porcentaje de viabilidad y germinación directa de cada uno de los lotes evaluados para la semilla de madrecacao, la viabilidad esta representada en la gráfica por una línea punteada y la germinación por una línea continua.

7.3.3 Determinación de costos de aplicación de pruebas de tinción

A. Prueba de tetrazolio

Para la prueba de tetrazolio se encontraron dos concentraciones con las que se obtuvo la tinción típica de la prueba de tetrazolio (1.0% 4Hrs y 0.5% 6Hrs), y a las cuales se les aplicó un análisis de costos con los que se determinó cual era más económico de aplicar, tal como se observa en el Cuadro 22.

Cuadro 22. Resumen de costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Madrecacao.

Prueba	Costo
Tetrazolio 0.5% 6 Hrs	Q. 37.66
Tetrazolio 1.0% 4 Hrs	Q. 54.06
Germinación directa	Q. 75.62

En el Cuadro 22 se observan los costos que representa aplicar una prueba de tetrazolio con cada una de las concentraciones adecuadas. Se observa que la concentración más económica es la de 0.5% en 6Hrs.

De igual manera fueron evaluados los costos de aplicación de una prueba de germinación directa.

Se puede observar que la aplicación de una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado en relación a la aplicación de una prueba de viabilidad y necesita de un promedio de 15 días para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de tetrazolio que es mucho más rápida ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

B. Prueba de Indigo carmín

Para la prueba de Indigo carmín solo se encontró una concentración con la que se obtuvo la coloración característica según la tabla de Munsell, haciendo la evaluación de costos únicamente para la misma como se puede observar en el Cuadro 23.

Cuadro 23. Resumen de costo para la aplicación de la prueba de Indigo carmín en Madrecacao.

Prueba	Costo
Indigo carmín	Q. 16.69
Germinación directa	Q. 75.62

En el Cuadro 23 se observan los costos que representa aplicar una prueba de Indigo carmín para la única solución con la que se obtuvo la concentración característica siendo esta la de 0.05% en 6Hrs. De igual manera fueron evaluados los costos de aplicación de una prueba de germinación directa.

Se puede observar que la aplicación de una prueba de germinación directa tiene un costo muy elevado y necesita de un periodo de tiempo más largo para obtener resultados, a diferencia de aplicar una prueba de índigo carmín que es mucho más rápida, ya que se obtienen resultados en 2 o 3 días y es más económica.

8. CONCLUSIONES

1. Con las pruebas de tinción de Tetrazolio e Indigo carmín es posible obtener un valor de viabilidad que no difiere significativamente del obtenido por la prueba de germinación directa.
2. Se desarrollaron los patrones de tinción para las pruebas de tetrazolio e indigo carmín en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao, con los que es posible la aplicación de dicha prueba.
3. Con las pruebas de tinción de Tetrazolio e Indigo carmín en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao se obtiene el valor de viabilidad mucho más rápido que al utilizar la prueba de germinación directa.
4. La aplicación de pruebas de Tetrazolio e Indigo carmín en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao tienen menor valor económico en comparación de la aplicación de la prueba de germinación directa.
5. La aplicación de la prueba de Indigo carmín en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao tiene menor valor económico en comparación de la aplicación de la prueba de Tetrazolio.

9. RECOMENDACIONES

1. Utilizar pruebas de tinción con Tetrazolio e Indigo carmín para determinar la viabilidad en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao.
2. Para determinar la viabilidad en semillas de Conacaste, Flamboyán y Madrecacao se recomienda utilizar la prueba de Tetrazolio que no requiere de conocimientos técnicos para su aplicación.
3. Antes de aplicar las pruebas de Tetrazolio e Indigo carmín en semillas de Conacaste y Flamboyán realizar un corte en la parte distal y colocar en remojo por un periodo de 24 a 48 Hrs. para obtener mejores resultados.
4. Antes de aplicar las pruebas de Tetrazolio e Indigo carmín en semillas de Madrecacao colocar en remojo por un periodo de 24 Hrs para obtener mejores resultados.
5. Elaborar patrones de tinción con las pruebas de Tetrazolio e Indigo carmín en especies agrícolas y forestales de importancia y que no cuenten con los mismos.

10. BIBLIOGRAFIA

1. AGUILAR GIRON, J.I. 1966 Relaciones de algunos aspectos de la flora útil de Guatemala. 2 ed. Guatemala, Tipografía Nacional de Guatemala. 255 p.
2. ASOCIACIÓN INTERNACIONAL PARA ENSAYOS DE SEMILLAS (España). 1976. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Trad. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Madrid, España, Ministerio de Agricultura, Dirección General de Producción Agraria. 184 p.
3. BIDWELL, R.G. 1979. Fisiología vegetal. Trad. Guadalupe Gerónimo Cano y Cano. México D.F, AGT Editores. p. 451-455.
4. BONNER, F.T. *et al.* 1994. Tree seed technology training course; instructor's manual. New Orleans, EEUU., United States Department of Agriculture, Forest Service. General Technical Report SO-106. p. 15-18.
5. CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA. 1997. Biología de semillas forestales. Luis Fernando Jara N., adaptada. y ed. Tec. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Materiales de Enseñanza no. 36. 32 p.
6. _____. 1997. Nota técnica sobre manejo de semillas forestales *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Nota Técnica no.25. 2 p.
7. _____. 1997. Nota técnica sobre manejo de semillas forestales *Gliricidia sepium* (Jacquin.) Kunth ex Walpers. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Nota Técnica no.3. 2 p.
8. ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION. INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS Y PLANTAS DE VIVERO. ESTACION DE ENSAYOS DE SEMILLAS. 1985. Manual de ensayos al tetrazolio. Trad. Martínez Vasallo. Madrid, España. 92 p.
9. ESTADOS UNIDOS. DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA. 1986. Semillas. México, Continental. 102 p.
10. HARTMANN, H.T.; KESTLER, D.E. 1988. Propagación de plantas; principio y práctica. 2 ed. México, McGraw Hill. 760 p.
11. JAMES, H.O.; ALBERT, C. 1989. Biología moderna. Trad. Gabriel González Loyola. 11 ed. México, McGraw Hill. 550 p.
12. MIRANDA, M. 1987. Respuesta de las semillas de tres especies forestales, *Phytoclobium saman* (Jacq), *Cassia jumbosa* (Britton) y *Delonix regia* (Bojer), a diferentes tratamientos pregerminativos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 75 p.
13. MUNSELL BOOK of color. 1976. Maryland, Baltimore, EE.UU. Macbeth a Division of Kollmorgen Corporation. s.p.

14. OSTLE, B. 1986. Estadística aplicada. México D.F, Limusa. p. 251-273.
15. POPINIGIS, F. 1977. Fisiología de semente. Brasil, Ministerio de Agricultura. 289 p.
16. RAYMOND, F.O. 1988. Biología; sistemas vivientes. Trad. Jorge González Quintana. 6 ed. México, Continental. 288 p.
17. ROSTOVTSEV, S.A.; LYUBICH, E.S. 1978. Determination of the viability of tree and shrub seed by staining with indigocarmine in the USSR. Seed Science and Technology. (EE.UU) 6:669-875.
18. SAMANIEGO PEÑA, J.A. 1995. Estandarización de técnicas para el manejo de semillas de *Swietenia macrophylla* y *Cordia alliodora*. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 134 p.
19. SOMARRIBA, E.; FERREIRO, O. 1994. Efecto de tres tratamientos pregerminativos sobre la germinación y viabilidad de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. Boletín Mejoramiento de Semillas Forestales (C.R.) no.4:3
20. TRUJILLO, N.E. 1995 Fisiología de la germinación y tratamientos pregerminativos. In Curso Nacional y Procesamiento de Semillas Forestales (1995, Costa Rica). Memorias. Costa Rica, CATIE. p.452.
21. _____; CORDERO CAMACHO, D. 1995. Evaluación de sistemas de determinación de la viabilidad de semillas de *Bombacopsis quinata* y *Tabebuia rosea*, y comparación con resultados de vivero. In Curso Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina (1995, Nicaragua). Memorias. Nicaragua, CATIE. p.193-198

U. B. O
Actualizado



11. APENDICE

Cuadro 25A. Viabilidad obtenida en la semillas de *Enterolobium cyclocarpum* para la prueba de tetrazoilo.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	87	13		100
2. Rep.	80	20		100
3. Rep.	82	18		100
4. Rep.	87	13		100
Total	336	64		400
Media	84	16		
%	84	16		

Cuadro 26A. Viabilidad obtenida en la semillas de *Enterolobium cyclocarpum* para la prueba de índigo carmín.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	84	16		100
2. Rep.	80	20		100
3. Rep.	78	22		100
4. Rep.	80	20		100
Total	322	78		400
Media	80.5	19.5		
%	81	19		

Cuadro 27A. Porcentaje de viabilidad para la prueba de tetrazoilo obtenida en la semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	90		10	100
2. Rep.	82		18	100
3. Rep.	76		24	100
4. Rep.	84		16	100
Total	322		78	400
Media	83		17	
%	83		17	

Cuadro 28A. Porcentaje de viabilidad obtenida en la rectificación de la prueba de índigo carmín en semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	80		20	100
2. Rep.	85		15	100
3. Rep.	78		22	100
4. Rep.	82		18	100
Total	328		72	400
Media	82		18	
%	82		18	

Cuadro 29A Porcentaje de germinación obtenida en la semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

	% Germinación
1 Rep.	93
2 Rep.	81
3 Rep.	63
4 Rep.	90
Total	327
%	81.75

Cuadro 30A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Enterolobium cyclocarpum* para los lotes de 50/98 A y Los Amates en la prueba de tetrazolio.

	50/98 A		Los Amates		Total
	Viables	No viables	Viables	No viables	
1. Rep.	80	10	83	17	100
2. Rep.	75	25	86	14	100
3. Rep.	88	12	80	20	100
4. Rep.	85	15	87	13	100
Total	328	62	336	64	400
Media	82	15.5	84	16	
%	82	15.5	84	16	

Cuadro 31A. Viabilidad de la semilla de *Enterolobium cyclocarpum* para los lotes de 48/98A, 50/98 A y Los Amates en la prueba de índigo carmín.

	50/98 A		Los Amates		Total
	Viables	No viables	Viables	No viables	
1. Rep.	90	10	88	12	100
2. Rep.	76	24	80	20	100
3. Rep.	86	14	83	17	100
4. Rep.	74	26	81	19	100
Total	326	74	332	78	400
Media	81.5	18.5	83	17	
%	81.5	18.5	83	17	

Cuadro 32A. Porcentaje de germinación obtenida en la semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

50/98 A

	% Germinación
1 Rep.	87
2 Rep.	88
3 Rep.	88
4 Rep.	74
Total	337
%	84.25

Los Amates

	% Germinación
1 Rep.	85
2 Rep.	85
3 Rep.	87
4 Rep.	89
Total	346
%	86.5

Cuadro 33A. Viabilidad obtenida por el *Delonix regia* durante la prueba de tetrazolio.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	82	18		100
2. Rep.	72	28		100
3. Rep.	68	32		100
4. Rep.	74	26		100
Total	296	104		400
Media	74	26		
%	74	26		

Cuadro 34A. Porcentaje de viabilidad para *Delonix regia* obtenida en la prueba de índigo carmín.

	Viabiles	Dudosas	No viabiles	Total
1. Rep.	78	22		100
2. Rep.	78	22		100
3. Rep.	80	20		100
4. Rep.	74	26		100
Total	310	90		400
Media	77.5	22.5		
%	77.5	22.5		

Cuadro 35A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Delonix regia* durante la rectificación de la prueba de tetrazolio.

	Viabiles	No viabiles	Total
1. Rep.	72	28	100
2. Rep.	76	24	100
3. Rep.	70	30	100
4. Rep.	79	21	100
Total	297	103	400
Media	74.25	25.75	
%	74.25	25.75	

Cuadro 36A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Delonix regia* en la rectificación de los patrones para la prueba de índigo carmín.

	Viabiles	No viabiles	Total
1. Rep.	70	30	100
2. Rep.	78	22	100
3. Rep.	75	25	100
4. Rep.	72	28	100
Total	295	105	400
Media	73.75	26.25	
%	73.75	26.25	

Cuadro 37A. Porcentaje de germinación obtenida por *Delonix regia* en la elaboración del patron.

	% Germinación
1 Rep.	75
2 Rep.	79
3 Rep.	74
4 Rep.	76
Total	304
%	76

Cuadro 38A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Delonix regia* de los lotes de El Progreso y la de Morales, en la prueba de tetrazolio.

	Progreso		Morales		Total
	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	
1. Rep.	65	35	70	30	100
2. Rep.	62	38	65	35	100
3. Rep.	70	30	67	33	100
4. Rep.	55	45	62	38	100
Total	252	148	264	136	400
Media	63	37	66	34	
%	63	37	65.5	34	

Cuadro 39A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Delonix regia* de los lotes de 49/98A, El Progreso y la de Morales, en la prueba de índigo carmín.

	Progreso		Morales		Total
	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	
1. Rep.	65	35	73	27	100
2. Rep.	72.5	27.5	60	40	100
3. Rep.	57.5	42.5	67	33	100
4. Rep.	60	40	62	38	100
Total	255	145	262	138	400
Media	63.75	36.25	65.5	34.5	
%	63.75	36.25	65.5	34.5	

Cuadro 40A. Porcentaje de germinación obtenida por los lotes El progreso y Morales para la prueba de geminación directa de *Delonix regia*.

Progreso	
	% Germinación
1 Rep.	55
2 Rep.	69
3 Rep.	73
4 Rep.	69
Total	266
%	66.5

Morales	
	% Germinación
1 Rep.	60
2 Rep.	59
3 Rep.	64
4 Rep.	65
Total	248
%	62

Cuadro 41A. Porcentaje de viabilidad obtenido por *Gliricia sepium* durante la realización del patron de tinción para tetrazolio.

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	100	0		100
2. Rep.	94	6		100
3. Rep.	96	4		100
4. Rep.	96	4		100
Total	386	14		400
Media	96.5	3.5		
%	96.5	3.5		

Cuadro 42A. Porcentaje de viabilidad obtenido por *Gliricia sepium* durante la realización del patron de tinción para índigo carmín

	Viables	Dudosas	No viables	Total
1. Rep.	96	4		100
2. Rep.	94	6		100
3. Rep.	92	8		100
4. Rep.	96	4		100
Total	378	22		400
Media	94.5	5.5		
%	94.5	5.5		

Cuadro 43A. Porcentaje de viabilidad obtenido por *Gliricia sepium* durante la rectificación del patron de tinción para tetrazolio.

	Viables	No viables	Total
1. Rep.	98	2	100
2. Rep.	94	6	100
3. Rep.	91	9	100
4. Rep.	95	5	100
Total	378	22	400
Media	94.5	5.5	
%	94.5	5.5	

Cuadro 45A. Porcentaje de viabilidad obtenido por *Gliricia sepium* durante la rectificación del patron de tinción para índigo carmín.

	Viabiles	No viabiles	Total
1. Rep.	98	2	100
2. Rep.	96	4	100
3. Rep.	97	3	100
4. Rep.	93	7	100
Total	384	16	400
Media	96	4	
%	96	4	

Cuadro 44A. Porcentaje de germinación obtenida por *Gliricia sepium* en la elaboración del patron.

	% Germinación
1 Rep.	98
2 Rep.	97
3 Rep.	95
4 Rep.	94
Total	384
%	96

Cuadro 46A. Porcentaje de germinación obtenida por *Gliricia sepium* en la rectificación del patron.

	% Germinación
1 Rep.	98
2 Rep.	97
3 Rep.	95
4 Rep.	94
Total	384
%	96

Cuadro 47A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Gliricidia sepium* de los lotes 43/98A, Retalhuleu y Monterico en la prueba de tetrazolio.

	43/98A		Retalhuleu		Monterico		Total
	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	
1. Rep.	98	2	80	30	94	18	112
2. Rep.	94	6	68	29	100	0	100
3. Rep.	91	9	70	21	96	2	98
4. Rep.	95	5	62	24	98	2	100
Total	378	22	280	104	388	22	410
Media	94.5	5.5	70	26	97	5.5	
%	94.5	5.5	70	26	97	5.5	

Cuadro 48A. Viabilidad obtenida por la semilla de *Gliricidia sepium* de los lotes 43/98A, Retalhuleu y Monterico en la prueba de índigo carmín.

	43/98A		Retalhuleu		Monterico		Total
	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	Viabiles	No viabiles	
1. Rep.	98	2	78	22	98	2	100
2. Rep.	96	4	77	28	100	0	100
3. Rep.	97	3	53	52	98	2	100
4. Rep.	93	7	88	18	96	4	100
Total	384	16	296	120	392	8	400
Media	96	4	74	30	98	2	
%	96	4	74	30	98	2	

Cuadro 49A. Porcentaje de germinación obtenido por la procedencias de *Gliricidia sepium*.

	43/98A		Retalhuleu		Monterico	
	% Germinación		% Germinación		% Germinación	
1 Rep.	98		77		97	
2 Rep.	97		74		98	
3 Rep.	95		75		99	
4 Rep.	94		78		98	
Total	384		304		392	
%	96		76		98	

Cuadro 50A. Análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad y el porcentaje germinación en las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	Pr > F
Bloques	3	332.9166667	110.9722222	2.46	0.1605
Tratamientos	2	25.1666667	12.5833333	0.28	0.7660
Error Exp.	6	270.8333333	45.1388889		
Total	11	628.9166667			

C.V.= 8.185033

Cuadro 51A. Costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Conacaste.

Rubros	unidad	Cantidad	Precio Q.	0.5% 6H	1.0% 2H.	0.5% 4H
Tetrazolio	gr	0.5	35.50	17.75		
	gr	1	35.50		35.5	
	gr	0.5	35.50			17.75
Fosfato de potasio	gr	9.078	0.11	1.04	1.04	1.04
Fosfato de sodio	gr	11.876	0.06	0.68	0.68	0.68
Luz eléctrica	kw/hr	6	0.34	2.02		
	kw/hr	2	0.34		0.67	
	kw/hr	4	0.34			1.35
Mano de obra	hrs	2	8.08	16.17	16.17	16.17
Total				37.66	54.06	36.99

Cuadro 52A. Costo para la aplicación de la prueba de germinación directa en conacaste.

Rubros	Unidad	Cantidad	Precio Q.	Total Q.
Cajas plasticas	-	4	27.00	108.00
Sustrato (arena)	cc	2000	20.00	50.00
Banrot.	gr	9.2	140	15.22
PCNB.	gr	6	120	20.00
Mano de obra.	hrs	5	8.08	40.40
				233.62

Cuadro 53A. Costo para la aplicación de la prueba de índigo carmín en Conacaste.

Rubros	Unidad	Cantidad	Precio Q.	Total Q.
Índigo carmín	gr.	0.05	10.40	0.52
Mano de obra	hrs	2	8.08333	16.17
				16.69

Cuadro 54A. Análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de *Delonix regia*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	Pr > F
Bloques	3	33.66666667	11.22222222	0.65	0.6104
Tratamientos	2	24.66666667	12.33333333	0.72	0.5261
Error Exp.	6	103.33333333	17.22222222		
Total	11	161.66666667			

C.V.= 5.472483

Cuadro 55A. Costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en flamboyán.

RUBROS	Unidad	Cantidad	Precio Q.	0.5% 6 H	1.0% 4H.	0.5% 8H
Tetrazolio	gr	0.5	35.50	17.75		
	gr	1	35.50		35.5	
	gr	0.5	35.50			17.75
Fosfato de potasio.	gr	9.078	0.11	1.04	1.04	1.04
Fosfato de sodio.	gr	11.876	0.06	0.68	0.68	0.68
Luz eléctrica kw/hr.	kw/hr	6	0.34	2.02		
	kw/hr	2	0.34		0.67	
	kw/hr	8	0.34			2.69
Mano de obra.	hrs	2	8.08	16.17	16.17	16.17
Total				37.659168	54.063056	38.332224

Cuadro 56A. Análisis de varianza para las variables porcentaje de viabilidad y germinación en las semillas de *Gliricidia sepium*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	Pr > F
Bloques	3	23.33333333	7.77777778	2.80	0.1310
Tratamientos	2	8.66666667	4.33333333	1.56	0.2848
Error Exp.	6	16.66666667	2.77777778		
Total	11				

C.V.= 1.742160

Cuadro 57A. Costo para la aplicación de la prueba de tetrazolio en Madrecacao.

RUBROS	unidad	Cantidad	Precio Q.	0.5% 6H	1.0% 4H.
Tetrazolio .	gr	0.5	35.50	17.75	
	gr	1	35.50		35.5
	gr	0.5	35.50		
Fosfato de potasio	gr	9.078	0.11	1.04	1.04
Fosfato de sodio	gr	11.876	0.06	0.68	0.68
Luz eléctrica	kw/hr	6	0.34	2.02	
	kw/hr	2	0.34		0.67
	kw/hr	4	0.34		
Mano de obra	hrs	2	8.08	16.17	16.17
				37.66	54.06

Cuadro 58A. Costo para la aplicación de la prueba de germinación directa en Madrecacao.

INSUMOS	Unidad	Cantidad	Precio Q.	Total Q.
Cajas plasticas	-	4	27.00	108.00
Sustrato (arena)	cc	2000	20.00	50.00
Banrot.	gr	9.2	140	15.22
Pcnb.	gr	6	120	20.00
Mano de obra.	hrs	5	8.08	40.40
				75.62



FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

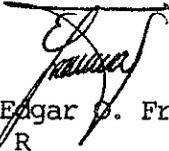
LA TESIS TITULADA: "DESARROLLO DE PATRONES DE TINCION DE TETRAZOLIO E INDIGO CARMIN, PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Enterolobium cyclocarpum*, (jacq) Griseb.(Conacaste), *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walper (Madrecacao) y *Delonix regia* (Bojer) Raf. Fl. Tellur. (Flamboyán)".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: LUIS IVAN PIVARAL LEIVA

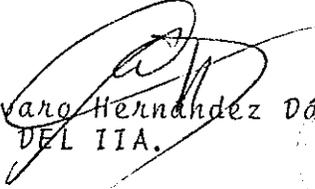
CARNET No: 9219219

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Edwin Enríque Cano Morales
Ing. Agr. Francisco J. Vásquez Vásquez

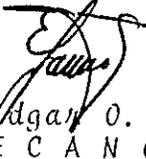
Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.


Ing. Agr. M.Sc. Edgar O. Franco Rivera
A S E S O R


Ing. Agr. M.Sc. Julio G. López Páyes
A S E S O R


Ing. Agr. M.Sc. Alvaro Hernández Dávila
DIRECTOR DEL IIA.

IMPRIMASE


Ing. Agr. M.Sc. Edgar O. Franco Rivera
D E C A N O

c: Control Académico
Archivo
AH/prt.

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C. A.
TELEFONO 476-9794 § FAX (502) 476-9770
E-mail: lia@usac.edu.gt § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>

