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

# DESARROLLO DE PATRONES DE PRUEBAS RAPIDAS PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Pinus caribaea* Morelet (pino del Petén), *Grevillea robusta* A. Cunn (gravilea) Y *Caesalpinia velutina* (Britt. & Rose) Standl (aripín).

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

POR

MAGDA LETICIA RAMIREZ SOTO

En el acto de investidura como

INGENIERA AGRONOMA

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADA

Guatemala, noviembre de 1,999.

## UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

## RECTOR

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

## JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

| | |
|---|---|
| DECANO | Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera |
| VOCAL PRIMERO | Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello |
| VOCAL SEGUNDO | Ing. Agr. William Roberto Escobar López |
| VOCAL TERCERO | Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa |
| VOCAL CUARTO | Prof. Jacobo Bolvito Ramos |
| VOCAL QUINTO | Br. José Domingo Mendoza Cipriano |
| SECRETARIO | Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada |

Guatemala, noviembre de 1999.

**Honorable Junta Directiva**
**Honorable Tribunal examinador**
**Facultad de Agronomía**
**Universidad de San Carlos de Guatemala**

Distinguidos miembros:

De acuerdo con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el agrado de someter a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado.

DESARROLLO DE PATRONES DE PRUEBAS RAPIDAS PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Pinus caribaea* Morelet (pino del Petén), *Grevillea robusta* A. Cunn (gravilea) Y *Caesalpinia velutina* (Britt & Rose) Standl (aripín).

Presentado como requisito previo a optar el Título de **INGENIERA AGRONOMA en SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA,** en el grado académico de **LICENCIADA.**

Con un cordial saludo,

Atentamente,

MAGDA LETICIA RAMIREZ SOTO

# ACTO QUE DEDICO

**A:**

| | |
|---|---|
| **DIOS:** | Suprema inspiración, mi guía y protector |
| **MIS PADRES:** | Julia Margarita Soto de Ramírez<br>Rafael Enrique Ramírez Flores<br>Por su cariño, sacrificio y todo el apoyo que me brindan. |
| **MI HIJO:** | Aarón E. Ramírez Soto<br>Fruto bendito de mi vientre, como un pequeño tributo al profundo amor que le tengo. |
| **MIS HERMANOS:** | Arturo Enrique, Rafael Antonio,<br>Julia Eugenia, Margarita Argentina<br>Por su compañía, cariño y comprensión. |
| **MIS SOBRINOS:** | Wielman Arcángel<br>Ali Froebel<br>Por su alegría y cariño |
| **MIS AMIGOS:** | Por las alegrias y tristezas que juntos compartimos. |

# AGRADECIMIENTOS

A:

DIOS

MIS PADRES

MI HERMANO ARTURO E. RAMIREZ SOTO
Por su cariño, consejos y apoyo, para culminar mis estudios

Ing. Agr. Msc Edgar Oswaldo Franco Rivera
Ing. Agr. Msc Julio López Payes
Ing. Agr. Roderico A. Estrada Muy
por su guía y apoyo en el trabajo de investigación.

Ing. Agr. Carlos Roberto Echeverria
Ing. Agr. Walter E. García Tello
Profesor Ramiro Valiente
Por sus consejos e incondicional apoyo, en los momentos difíciles

Dra. Miriam G. Bethancourt
María del Rosario González
Aura Huertas
por sus cuidados, cariño y por brindarme su mano amiga

Familia : Huertas Ramírez
Por brindarme su hogar y tratarme como a una hija.

# CONTENIDO GENERAL

**PAGINA**

# INDICE DE CUADROS

PAGINA

PAGINA

# INDICE DE FIGURAS

PAGINA

DESARROLLO DE PATRONES DE PRUEBAS RAPIDAS PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE *Pinus caribaea* Morelet (pino del Petén), *Grevillea robusta* A. Cunn (gravilea) Y *Caesalpinia velutina* (Britt. & Rose) Standl (aripín).

DEVELOPMENT OF PATTERNS FOR TESTS TO DETERMINE SEED VIABILITY IN *Pinus caribaea* Morelet (pine of Petén), *Grevillea robusta* A. Cunn (gravilea) AND *Caesalpinia velutina* (Britt. & Rose) Standl (aripín).

## RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el objetivo de desarrollar patrones de tinción de tetrazolio e índigo carmín, para determinar viabilidad en semillas de *Pinus caribaea* Morelet (pino del Petén), *Grevillea robusta* A. Cunn (gravilea) y *Caesalpinia velutina* (Britt & Rose) (aripín). Debido a la limitante que presentan las pruebas directas de germinación, para conocer en corto tiempo la viabilidad en semillas de las especies antes mencionadas, así como al incremento en costo y espacio que ocupan en laboratorio.

Se determinó la concentración más adecuada de tetrazolio (0.5%) e índigo carmín (0.1%) a utilizar para cada especie, desarrollando y rectificando patrones de tinción, constituidos por diagramas que representan las tinciones mas características en las semillas de cada una de las especies.

Los patrones de tinción se rectificaron con base en los resultados obtenidos en la prueba de germinación directa.

Los patrones de tinción se aplicaron a tres diferentes lotes de cada una de las especies estudiadas. Los resultados obtenidos en las pruebas de tetrazolio e índigo carmín demuestran que éstas pueden utilizarse para la determinación de viabilidad en semillas, al no haber diferencia significativa en comparación con la prueba de germinación directa.

Las pruebas rápidas pueden completarse en un día, en contraste con la prueba de germinación directa, que requiere en aripín de 7 a 15 días, para pino del Petén de 15 a 20 días y en gravilea de 35 a 40 días, para obtener resultados.

En la evaluación de los patrones de tinción aplicados a tres lotes de semilla, para cada una de las especies se utilizó por separado un diseño experimental completamente al azar con arreglo combinatorio. Las unidades experimentales estuvieron constituidas por 25 semillas cada una, para pruebas rápidas y 100 semillas para germinación directa. Se evaluaron dos factores (pruebas de viabilidad y lotes de semilla), cada uno de ellos tiene 3 modalidades Factor A; pruebas (tetrazolio, índigo carmín y germinación directa), Factor B; lotes (1,2,3 con sus diversas procedencias), por lo que se aplicaron 9 tratamientos que consistieron en la combinación de los dos factores, utilizando como variable de respuesta el porcentaje de semillas viables.

Los resultados obtenidos en la prueba de normalidad Shapiro y wilk, para el análisis de varianza por medio del programa Statistical Analysis System (SAS) de las 3 pruebas aplicadas (tetrazolio, índigo carmín y germinación directa) en semillas de aripín, gravilea y pino del Petén, indican que no existe diferencia significativa entre ellas, habiendo presentado porcentajes de viabilidad semejantes a los obtenidos en la prueba de germinación directa por lo que pueden ser utilizadas con un 95% de confiabilidad para determinar el porcentaje de viabilidad en semillas de las especies antes mencionadas.

Los costos de aplicación de cada una de las pruebas fue para germinación directa en aripín Q229.08, en pino del Petén fue de Q 212.68 y para gravilea de Q 218.11.

Para la prueba de tetrazolio el costo de la aplicación en aripín fue de Q 115.6, en pino del Petén Q 150.8, para gravilea fue de Q 125.96. La prueba de índigo carmín tuvo un costo en aripín de Q 109.03, para pino del Petén Q 104.93 y en gravilea Q 106.28.

# 1. INTRODUCCION

En Los últimos años, particularmente bajo el auspicio de proyectos regionales como el Proyecto de Semillas Forestales (PROSEFOR), en la región de Centro América y el Caribe y de proyectos nacionales en cada país, se ha dado mayor impulso al estudio de semillas forestales para incrementar su calidad.

Guatemala es un país con alta diversidad biológica y climática, con un 72.5% del territorio nacional con vocación forestal en donde se desarrollan tanto especies de coníferas como de latifoliadas, siendo las primeras importantes en los bosques del altiplano, y las segundas en el sur y norte del país (21).

Un aspecto que se ha considerado importante es el manejo de semilla en el ámbito de laboratorio, especialmente en lo relacionado con la determinación de su viabilidad.

Al incrementarse la producción de semillas las pruebas de germinación convencionales limitan la eficiencia en el funcionamiento de los bancos de semilla debido al tiempo necesario para conocer la viabilidad de las mismas.

Las pruebas para determinar la viabilidad de la semilla establecen una base confiable para tomar decisiones respecto a la calidad de las semillas, ya que por falta de espacio, tiempo, equipo y personal técnico, se dificulta el análisis previo a la venta en lotes grandes de semillas forestales. Las pruebas rápidas de viabilidad pueden resultar convenientes y beneficiosas debido a que dan en corto tiempo resultados confiables a productores y usuarios.

En el presente trabajo se establecieron los procedimientos para las pruebas de tetrazolio e índigo carmín, útiles para la determinación de viabilidad de la semilla en las especies forestales *Pinus caribaea (pino del Petén)*, *Caesalpinia velutina* (aripín) y *Grevillea robusta* (gravilea).

El estudio se realizó determinando en primera instancia la concentración adecuada para el uso de tetrazolio e índigo carmín y seguidamente se desarrollaron los patrones de tinción para las especies que se estudiaron. Se elaboraron tablas con patrones de tinción para tetrazolio e índigo carmín. Posteriormente se procedió a comparar resultados obtenidos por germinación directa con los

resultados de viabilidad que se obtuvieron aplicando las pruebas rápidas a tres distintas procedencias de cada especie.

La investigación se realizó en el laboratorio del Banco de Semillas Forestales (BANSEFOR) del Instituto Nacional de Bosques (INAB) y en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (FAUSAC).

## 2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

En Guatemala, al igual que en la mayoría de países subdesarrollados se están emprendiendo diversas acciones en el campo de los recursos naturales en general y de los recursos forestales en particular, como respuesta al deterioro ambiental producido por la sociedad en su proceso de desarrollo.

La mayoría de especies forestales se reproducen por semilla, y en los últimos años con el apoyo y promoción que ha la producción de semillas forestales se ha dado la demanda de las mismas se ha incrementado así como la cantidad de semilla que se maneja en los bancos de semilla o empresas que las venden promoviendo además la calidad de éstas como factor fundamental en el éxito de las plantaciones.

Las pruebas directas de germinación son una limitante para conocer en corto tiempo la viabilidad especialmente en especies forestales, debido a que requieren periodos de tiempo relativamente largos, para llevar a cabo las pruebas de germinación, incrementando el costo de análisis de semillas así como el espacio que ocupan en el laboratorio.

Para las especies: *C. velutina (aripín)*, *G. robusta (gravilea)* y *P. caribaea (pino del Petén)*, no se han elaborado y evaluado patrones de tinción basados en la aplicación de pruebas rápidas (tetrazolio e índigo carmín), que permitan conocer en corto tiempo la viabilidad de las semillas. Estas pruebas pueden ser una opción para los bancos de semilla o empresas que se dedican al almacenamiento o venta de las mismas, ya que establecen una base confiable en cuanto a la determinación de la viabilidad de las semillas, utilizando en la obtención de resultados menor tiempo y costo.

# 3. MARCO TEORICO.

## 3.1 MARCO CONCEPTUAL

### 3.1.1 La semilla

A. Definición de la semilla

Hartmann (12) define botánicamente a las semillas en las angiospermas como el óvulo maduro encerrado dentro del ovario maduro y fruto. Las semillas y los frutos de las diferentes especies varían en aspecto, tamaño, forma, ubicación y estructura del embrión con relación a los tejidos de almacenamiento.

Jara (13) define el término semilla, en un sentido funcional, como una unidad de reproducción incluyendo tanto a las semillas verdaderas (óvulo fertilizado y maduro, con una planta embrionaria), como a los frutos.

B. Función de la semilla

Las semillas son un medio para asegurar la continuidad de la existencia, la adaptación y evolución de las especies (13). El futuro de las plantaciones forestales depende de la calidad física y genética de la semilla a utilizar (9).

### 3.1.2. Estructura de la semilla

Los elementos básicos de la estructura de una semilla son: cubierta protectora, embrión y tejido de reserva (15, 17).

A. Cubierta protectora

Es una estructura externa que delimita una semilla y generalmente puede estar formada por una cubierta protectora con dos capas, la cubierta externa que tiene diferentes formas (testa) y la interna como de papel (tegumento) (13). El tegumento es una cubierta constituida por células originarias de integumentos ovulares, el pericarpio (testa) puede originarse en las paredes del ovario. La cubierta externa tiene función protectora, reguladora y delimitante (15, 17).

B. Embrión

a. Partes del embrión: El embrión consiste en los cotiledones, que pueden ser uno, dos o más dependiendo de la división o clases de plantas. 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. El embrión puede ser recto de forma irregular. Todas las partes generalmente son de color blanco o crema, aunque algunos cotiledones son de color verde (2).

b. Orientación de la semilla y del embrión: la radícula se encuentra al final de la semilla donde esta la pequeña abertura micropilo, a través del cual creció el tubo polínico. En las angiospermas, la semilla está unida a las paredes del ovario por un tallo corto, este tallo normalmente se une a las semillas cerca del micrópilo y deja una cicatriz o protuberancia (hilo) en la semilla cuando ésta se desprende. La radícula esta cerca del extremo donde la semilla estaba unida al fruto. En las semillas de las Gimnospermas, la testa se separa de la escama en algún momento entre la polinización y la fertilización (13).

C. Tejido de reserva

El eje embrionario depende de una fuente de energía y de sustancias orgánicas para la elaboración de nuevas paredes celulares, citoplasma y núcleos, desde el inicio de la germinación hasta que la plántula se torne autotrófica o sea capaz de sintetizar materias orgánicas por el proceso de fotosíntesis. Esa fuente es el tejido de reserva que actúa como reservorio y como formador de compuestos orgánicos en formas simples, que pueden ser utilizados por el eje embrionario (17).

3.1.3. Morfología de la semilla

A. Partes elementales de las semillas de las coníferas

a. Cubierta de la semilla: es una capa externa, endurecida, relativamente impermeable al oxígeno, al dióxido de carbono y al agua.

b. La nucela: es una membrana semipermeable que recubre la superficie interna de la cubierta de la semilla.

c. El endospermo (tejido gametofítico femenino) es la reserva alimenticia de la semilla, que sé utiliza durante la germinación hasta el momento en que el embrión puede producir sus propias sustancias nutritivas mediante la fotosíntesis. En las coníferas, el endospermo está compuesto usualmente por grasas y aceites.

El órgano central de la semilla es el embrión, el cual tiene cotiledones en un extremo, epicotilo en el centro de éstos y el hipocotilo y la radícula en el otro extremo.

En el caso de las coníferas, los cotiledones son los primeros órganos fotosintetizadores, hasta el momento en que el epicotilo forma las hojas primarias (8).

B. Estructura de las semillas de las latifoliadas: es semejante a la de las coníferas, excepto que todos los tejidos son diploides; las semillas de las coníferas, son diploides, con excepción del endospermo. El endospermo de las semillas de las latifoliadas se compone principalmente de almidón y los cotiledones no llegan a funcionar como hojas, sino que la semilla en germinación los consume como fuente de carbohidratos. Otra diferencia notable es que en el momento de la caída de las semillas, las de las coníferas tienen un contenido de humedad de alrededor del 10%, mientras que las de las latifoliadas contienen hasta 40% de humedad, esto depende del fruto, pues el estrobilo de las coníferas es seco y las latifoliadas tienen mas agua (8).

3.1.4 Germinación

Se define como la primera etapa del desarrollo de una semilla para convertirse en plántula y se expresa en el número de semillas germinadas en un lote (1).

La germinación de la semilla es un fenómeno biológico, que puede interpretarse como la continuación del crecimiento del embrión, el cual ha sido temporalmente interrumpido durante la formación de la semilla. Durante el proceso de la germinación ocurren los siguientes eventos: absorción de agua como un fenómeno físico por el cual la semilla se hidrata permitiendo el desencadenamiento de reacciones bioquímicas, activación enzimática, con incremento de la velocidad de la respiración, asimilación y translocacion de las reservas alimenticias a los puntos de crecimiento, alargamiento y división celular, dando lugar a la emergencia de la radícula y de la plúmula (1).

Según reglas de la ISTA (1), la germinación en un ensayo de laboratorio se define como la emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla, de aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla que se esta ensayando indican la capacidad para desarrollarse en planta normal bajo condiciones favorables en el suelo.

A. Tipos de germinación

Los tipos de germinación se clasifican según el patrón que siguen los cotiledones en hipogea y epigea.

a. Germinación hipogea

Este es el patrón típico de ciertas angiospermas como especies de los géneros Quercus y Juglans. En estas, los cotiledones, que son estructuras de almacenamiento, permanecen enterrados y dentro de la cubierta de la semilla; el crecimiento inicial del epicotilo da lugar a la formación del tallo y las hojas primarias (8).

b. Germinación epigea

Este es el patrón típico de la mayoría de las coníferas. En ésta los cotiledones en desarrollo se levantan por encima del suelo, se convierten en estructuras fotosintetizadoras iniciales y luego dejan caer la cubierta de la semilla al suelo (8).

B. Condiciones de la germinación

Popinigis (17) indica que para que la germinación ocurra deben ser satisfechas las siguientes condiciones:

a. La semilla debe ser viable.
b. Las condiciones internas de la semilla deben ser favorables a la germinación (libre de dormancia).
c. Condiciones satisfactorias de sanidad (ausencia de agentes patógenos).
d. Las condiciones ambientales deben ser favorables (agua, temperatura, oxígeno, luz).

3.1.5 Calidad de las semillas

La calidad de la semilla es la sumatoria de todos los atributos genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios que afectan la capacidad de originar plantas de alta productividad (17).

La calidad de la semilla incluye la pureza y la viabilidad, la pureza se establece mediante el peso de la semilla de la especie que se evalúe (9).

A. Pérdida de la calidad de la semilla

La semilla pierde su capacidad germinativa después de periodos cortos o largos, dependiendo de la especie. La semilla alcanza su máxima calidad cuando está madura, después comienza a disminuir su calidad. Las semillas de algunas especies no se secan al madurar y pierden su viabilidad, si esto sucede, reciben el nombre de recalcitrantes, tienen una vida corta y solo se pueden almacenar si hay un contenido de humedad relativamente alto, sin embargo la semilla de algunas especies nunca se puede almacenar.

En las semillas ortodoxas los cambios en las reservas de alimento almacenado

parecen no afectar la viabilidad o vigor de la semilla. A pesar de que las reservas de alimentos en las semillas almacenadas no sufren grandes cambios, esta no permanece viable por siempre y se deteriora por alguna otra razón. La tasa de deterioro depende de la especie, procedencia, las condiciones durante el desarrollo de la semilla, de los métodos de cosecha y procesamiento y las condiciones de almacenamiento (13, 14).

### 3.1.6 Viabilidad en semillas

#### 3.1.6.1 Importancia

Para una población o lote de semillas, la viabilidad es la fracción de semillas que están vivas, por ejemplo aquellas en las que se dan los procesos metabólicos, aunque en forma lenta.

Según Duffus (9) la semilla que puede germinar usualmente se le denomina viable, pero la viabilidad significa, no sólo la germinación sino también la capacidad de formar plántulas sanas.

La viabilidad depende mucho de la madurez de la semilla en el momento de la recolección, del daño que se le ocasione durante el proceso de limpieza, de la duración de la recolección y de la duración del tiempo de almacenamiento (7, 8).

#### 3.1.6.2 Medición de la viabilidad en semillas

La viabilidad se mide por secuencia cronológica de la germinación de un lote dado de semillas, o de la emergencia de plántulas en un almácigo. Hay una demora inicial en el comienzo de la germinación, luego un incremento rápido en el número de semillas que germinan, seguido por una disminución en la tasa de germinación.

#### 3.1.6.3 Expresión de la viabilidad en semillas

La viabilidad puede expresarse como el porcentaje de germinación, que indica el número de plantas producido por un número dado de semillas.

Son características adicionales de alta calidad la germinación rápida, el crecimiento vigoroso de las plántulas y un aspecto normal de ellas. El vigor de las semillas y de las plántulas son atributos importantes de calidad, pero pueden ser algo difíciles de medir.

#### 3.1.6.4 Pruebas rápidas

Las pruebas rápidas se utilizan para la determinación de la viabilidad. Los períodos de tiempo relativamente largos que se requieren para llevar a cabo las pruebas de germinación, han

obstaculizado el progreso hacia la mayor eficiencia en la obtención de buenas plantas para plantación y las operaciones de venta (19).

Existe la posibilidad de utilizar pruebas rápidas en el control de la calidad de las semillas, basadas en la respuesta de los tejidos vivos o muertos a diferentes tratamientos físicos o químicos. La viabilidad se puede determinar en forma física, fisiológica o mediante pruebas de germinación directa (19).

A. Pruebas físicas.

a. Inspección directa: el sistema más práctico para valorar la viabilidad, se realiza cortando la semilla. Esta es la prueba más antigua y simple, y en la que es más probable que los resultados de viabilidad sean mayores que los que indican las pruebas de germinación, especialmente, cuando la semilla ha sido almacenada por largo tiempo (8). Es difícil distinguir las semillas no viables, muertas o dañadas, que siguen teniendo el mismo aspecto que las semillas viables. Esto hace que esta prueba no sea muy fiable (19).

b. Transparencia: las semillas pequeñas de cubierta delgada, pueden pasarse ante una fuente luminosa para observar su transparencia; las semillas vacías son relativamente más transparentes (8).

c. Rayos X: La cubierta de la semilla, el endospermo y el embrión absorben los rayos X en proporciones diferentes; entonces es posible identificar de esta manera aquellas semillas cuyo endospermo está bien desarrollado o las que sufrieron daños ocasionados por procesos mecánicos por insectos. Los tratamientos de rayos X no afectan la viabilidad de la semilla (8, 12).

B. Pruebas fisiológicas.

Las técnicas de tinción y bioquímicas que se han utilizado para probar la actividad enzimática de las semillas son:

a. Tetrazolio: esta prueba fue desarrollada en Alemania por Lakon quien se refirió a ella como una prueba topográfica, ya que la pérdida de la viabilidad del embrión empieza a aparecer en las extremidades de la radícula, del epicotilo y en las puntas de los cotiledones. La reacción se efectúa igualmente bien en semillas que estén en letargo y en las que no lo estén (12).

* Aplicación: El ensayo tiene muchos usos potenciales en los cuales se requiere información rápida, así como nuevos datos de la vida de la semilla. Entre las ventajas que el ensayo permite están:

- La detección del deterioro de la semilla antes de que se haga evidente en los ensayos de germinación.
- Una evaluación rápida de la viabilidad, vigor de la semilla viable, así como las causas de una calidad y rendimiento inferiores.
- Una oportuna guía en los programas de control de calidad.
- Una evaluación rápida de las semillas latentes.
- Una base para la reducción del tiempo de análisis de los ensayos de germinación en los cuales se ha obtenido una medida potencial mediante el ensayo de tetrazolio antes de que finalice el tiempo de evaluación.

* Naturaleza del ensayo: el ensayo de tetrazolio es considerado por lo general como un ensayo de coloración para determinar la viabilidad de la semilla, puede también utilizarse para valorar la turgencia de los tejidos, roturas, partes ausentes de las estructuras, anormalidades, así como otros factores que influyen en la viabilidad.

La fase de color del ensayo se alcanza utilizando una solución incolora de análisis compuesta de agua, un tampón adicional y una sal de cloruro (TTC) o bromuro (TTB) de 2,3,5-trifenil tetrazolio. Después de penetrar en las células vivas, la sal se reduce formando un compuesto rojo brillante e insoluble en agua, que tiñe el tejido vivo.

La ausencia o la presencia y la naturaleza de las características de la coloración en los tejidos junto con otros factores previamente mencionados, permite la localización y reconocimiento en las estructuras del embrión de los tejidos funcionales. El conocimiento de éstos y otros datos es esencial para determinar si las partes interdependientes de una semilla pueden funcionar conjuntamente para producir una plántula normal bajo condiciones favorables de análisis. Esta prueba es positiva en presencia de las enzimas deshidrogenasas.

Mediante la prueba del tetrazolio se establece una base para tomar decisiones respecto a la viabilidad de la semilla. Es más confiable que la intuición o la experiencia. Además, se dispone de los resultados de las pruebas en horas, en vez de días o semanas (19).

b. Indigo Carmín (Disodio 5,5-disulfuro de índigo; azul soluble). Esta prueba fue desarrollada por Neljubow, quien descubrió que el índigo carmín un colorante de anilina penetraba en el tejido muerto pero no el vivo. Es muy utilizada en países como Polonia, Rumania y Yugoslavia. Es

un polvo azul oscuro con cobre lustroso. En solución es azul o azulado-morado, sensible a la luz, por lo que debe guardarse en un lugar obscuro. El Indigo carmín tiñe de color azul las áreas muertas del embrión mientras que las áreas vivas permanecen sin teñir. Es utilizado para determinar viabilidad en semillas de árboles y arbustos.

Se ha reportado que el índigo de carmín es tan exacto como el tetrazolio. En su procedimiento y teñido tiene la ventaja de ser más barato y más seguro (es menos tóxico para los humanos que el tetrazolio) (10).

3.1.6.5 Patrones de tinción de pruebas rápidas

Los patrones de tinción de pruebas rápidas representan graficamente las partes teñidas de la semilla que tienen relación directa con la viabilidad.

3.1.7 Pruebas rápidas de viabilidad realizadas en especies forestales

A. Samaniego y Trujillo (20), desarrollan la metodología para aplicar la prueba de tetrazolio en *Switenia macrophylla* y *Cordia alliodora*, concluyendo que las pruebas de tetrazolio pueden reemplazar las pruebas de germinación tradicional en laboratorio, para ambas especies.

B. Cordero y Trujillo (6), reportan pruebas de tetrazolio aplicadas a *Bombacopsis quinata* y *Tabebuia rosea* indicando el uso potencial de esta prueba para la determinación de la viabilidad en semillas de dichas especies. La prueba puede completarse en uno ó dos días, en contraste con la prueba de germinación directa con la cual se obtienen los resultados de germinación a los quince días.

## 3.2. MARCO REFERENCIAL

3.2.1 Ubicación de los lugares donde se desarrollo la investigación

La investigación se realizó en la Ciudad de Guatemala, en el Instituto Nacional de Bosques, en las instalaciones del laboratorio del Banco de Semillas Forestales (BANSEFOR), del Instituto Nacional de Bosques (INAB). El banco esta ubicado a 1,502.32 msnm. , a una latitud norte de 14° 35' 44" y una longitud oeste de 90° 31' 50", la temperatura promedio es de 23 °C y una humedad relativa del 70%, aquí se realizaron las pruebas de germinación directa.

El estudio de pruebas rápidas se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3.2.2. Especies estudiadas

A. *Caesalpinia velutina* (aripín).

a. Nombre científico: *Caesalpinia velutina.*

b. Nombre común: aripín.

c. Sinónimos: totoposte, chaperno blanco (Guatemala), brasilito (Nicaragua).

d. Familia: pertenece a la familia leguminosae (Caesalpinoideae).

e. Distribución natural: esta especie se encuentra en forma natural en las zonas secas de Oaxaca, México y en Guatemala en las zonas secas de Huehuetenango, cerca de la frontera con México, en el Litoral Pacífico y zonas aledañas al río Motagua, en los departamentos de El Progreso, Zacapa y Chiquimula. En América Central se ha plantado en la mayoría de los países (4).

f. Descripción: especie arbórea decidua de tamaño mediano, alcanza hasta 10 ó 12 metros de altura y hasta 30 centímetros de diámetro; de copa amplia y fuste recto que ramifica a poca altura cuando crece en espacios abiertos. El sistema radicular es profundo con una raíz pivotante y raíces secundarias laterales. No se conoce si forma nódulos o tiene habilidad para fijar nitrógeno.

Las hojas son alternas, bipinadas, parapinadas, sin espinas, pubescentes, de 20-30 centímetros de longitud, con yemas axilares; las hojas jóvenes son densamente velutinosas (aterciopeladas) especialmente en el envés. Las flores se producen en racimos más cortos que las hojas con numerosas flores. Los frutos son legumbres de 10-15 centímetros de longitud y dos a tres centímetros de ancho, persistentes, indehiscentes, de color verde claro cuando inmaduros y café oscuro cuando maduros, finamente velutinosos (4).

g. Usos: especie nativa, de alta calidad de madera, las semillas de la especie latifoliada *C. velutina (aripín),* es una de las 20 especies con mayor demanda en el ámbito nacional. La planta posee crecimiento relativamente rápido en diversas condiciones ecológicas, presenta fácil reproducción por siembra directa, alta calidad de leña (libre de nudos y se raja fácilmente),

madera de uso comercial y familiar, es usada para la reforestación en terrenos con alta pendiente y en la protección de cuencas hidrográficas (4).

h. Reproducción: la planta posee crecimiento rápido en diversas condiciones ecológicas, cada vaina contiene de dos a diez semillas. El número de semillas es de 5,000 a 6,000 por kilogramo. Se regenera fácilmente a partir de semilla cuando no existe competencia con malezas (4).

B. *Grevillea robusta* (gravilea).

a. Nombre científico: *Grevillea robusta*

b. Nombre común: gravilea.

c. Familia: pertenece a la familia Proteaceae.

d. Sinónimo: grevilea, gravilea, roble de seda, peineta (4).

e. Distribución natural: nativa de las áreas costeras subtropicales del oriente Australiano en Nueva Gales del Sur y Queensland, desde la costa hasta 160 kilómetros dentro del continente, entre los 27 y 30 grados latitud sur. Se ha introducido en regiones tropicales y sub-tropicales para sombra y madera, se planta en Asia, Africa, América Latina y El Caribe (3, 4).

f. Descripción: árbol semi-deciduo de tamaño mediano a grande, de 12-20 metros de altura, algunas veces supera los 30 metros. Fuste y base rectos, de 30 a 90 centímetros de diámetro con numerosas ramas. Corteza clara hasta gris oscura, rugosa y gruesa con surcos profundos. Hojas alternas, pinadamente compuestas (casi siempre bipinadas), divididas en lóbulos delgados, finamente aserradas. El haz es de color verde brillante y glabro; el envés sedoso con pubescencia de color blanquecino o cenizo. Flores en racimos sin ramificaciones que nacen la mayoría directamente del tronco y a lo largo de las ramillas por atrás y en la base de las hojas. Las flores son vistosas, amarillentas, numerosas y pareadas, agrupadas en uno de los lados del eje que es rígido y delgado, frutos en folículos, ligeramente aplanados y con un ala alrededor de la misma, de color pardo (3, 4).

g. Usos: es un árbol de rápido crecimiento, la madera es resistente, elástica y moderadamente densa. Debido a su altura y forma atractiva se utiliza en ornamentación de calles, las flores amarillas doradas atraen a las abejas, lo que la convierte en una importante planta productora de néctar (4). La gravilea se utiliza para proporcionar sombra liviana a las plantaciones de café y té, la madera proveniente de las podas de árboles para sombra constituye el combustible básico para hornos de ladrilleras, también sirve de combustible en hogares y panaderías (3, 4).

h. Reproducción: produce aproximadamente 100,000 semillas por kilogramo, especie de crecimiento rápido en suelos francos hasta arenosos.

C. *Pinus caribaea* (pino del Petén)

a. Nombre científico: *Pinus caribaea*.

b. Nombre común: pino del Petén.

c. Sinónimo: pino colorado, pino de ocote, Ocote blanco, pino caribaea de Honduras, pino macho, pino caribeño.

d. Familia: pinaceae.

e. Distribución natural: se encuentra en forma natural en el Petén (Poptún, Machaquilá y Dolores), Izabal (Morales, El Lobo, Cahaboncito, El Estor, Sierra del Mico), Alta Verapaz (Lanquin, Cahabon, Panzos, Seban Sacaj) (3, 5, 18).

f. Descripción: Presenta corteza grisácea cuando joven o resquebrajada en surcos longitudinales y de color oscuro en árboles adultos, las hojas son aciculares de 1 a 1.5 milímetros de espesor y 13 a 33 centímetros de largo, con dos a cinco canales resiníferos internos. Estas vienen agrupadas en fascículos de tres agujas, las vainas de los fascículos son de 10 a 16 mm de largo, de color castaño claro a pardusco. Las flores masculinas son amentos cilíndricos de 25 a 45 milímetros de largo. Los conos no son persistentes y son de forma oblonga, asimétricos de 6 a 14 centímetros de largo, de 2.8 a 4.5 centímetros de ancho, cuando están cerrados y de 6 a 7.5 centímetros cuando están abiertos. En su área de distribución natural los conos alcanzan su madurez entre junio y julio, de julio a agosto en las

tierras altas del interior. Las semillas son angostamente ovoides de 6.5 milímetros de largo y 3.5 de ancho con 2 milímetros de grosor, su color varía de pardo claro a castaño y hasta negruzco. Las semillas poseen un ala membranosa que se desprende fácilmente y los embriones poseen de 5-9 cotiledones (5).

g. Usos: el pino del Petén se ha convertido en uno de los pinos más importantes para plantaciones comerciales cuya madera es utilizada en aserríos, contrachapeados y postes. Su amplio ámbito de adaptabilidad, resistencia a plagas y enfermedades y alta productividad, fuera de su área de origen, son factores para que se le haya adoptado como una de las principales especies en programas de reforestación, producción de pulpa, fabricación de papel y madera, construcción de barcos y muebles (3).

h. Reproducción: sus semillas no presentan letargo, es una especie nativa importante, de rápido crecimiento, tiene bastante amplitud ecológica en cuanto a suelos, la regeneración natural es buena en sitios donde no exista una cobertura muy densa, posee un amplio ámbito de adaptabilidad, resistencia a plagas y enfermedades y alta productividad, fuera de su área de origen, estiman un total de 50 000 a 60 000 semillas por kilogramo (5).

3.2.3 Datos de procedencia, germinación, disponibilidad de semilla y demanda de las especies estudiadas

A. *Caesalpinia velutina*

a. Procedencia: la semilla fue colectada de las fuentes semilleras, Tulumajillo, Casas Viejas y Morazan las tres del departamento de El Progreso.

b. Germinación: especie para la cual se reporta un 95% promedio de germinación (aplicando tratamiento pregerminativo), en un tiempo de 5-15 días, esta semilla se colecta en el mes de octubre (11).

c. Disponibilidad de semilla: los datos de disponibilidad de semilla de aripín, reportados por el Banco de Semillas Forestales, durante los últimos cinco años fueron: para 1994 (8.25 kg), para 1995 (40.25 kg), para 1996 (6.005 kg), para 1997 (19.64 kg) y para 1998 (0 kg).

d. Demanda: según datos reportados por el Banco de Semillas Forestales, durante los últimos cinco años aripín ha tenido la siguiente demanda: para 1994 (31.25 kg), para 1995 (18.89 kg), para 1996 (27.37 kg), para 1997 (16.85 kg) y para 1998 (17.19 kg).

*B. Grevillea robusta*

a. Procedencia: la semilla fue colectada de las fuentes semilleras de Ciudad Vieja y Alotenango las dos del departamento de Suchitepéquez, presentando una precipitación media anual 8,265 mm, una temperatura promedio de 11.8 ° C, con un área de 10 ha, ubicada en la zona de vida bosque húmedo montano bajo, subtropical.

b. Germinación: especie para la cual se reporta una geminación promedio de 40%, en un tiempo de 30-40 días, la semilla se colecta en los meses de agosto y septiembre, siendo muy susceptible a sufrir contaminación en las pruebas de germinación en laboratorio (11).

c. Disponibilidad y demanda de semilla: según datos reportados por el Banco de Semillas Forestales, durante los últimos cinco años la gravilea ha tenido la siguiente disponibilidad y demanda de semilla; para 1994 (1.00 kg), para 1995 (0.06 kg), para 1996 (4.33 kg), para 1997 (2.09 kg) y para 1998 (0.90 kg).

C. *Pinus caribaea*

a. Procedencia: la semilla se obtuvo de las fuentes semilleras; - base militar Poptún, Petén, ubicada a 16 ° 20 ' Lat N, 89 ° 45' Long W, una altitud de 480 msnm., una zona de vida (Holdrige) bmh-s(c), una precipitación promedio anual de 23, un área de 39 ha. Con una temperatura promedio anual de 23 ° C. – El Limón- Colón, Honduras; ubicada a 15 ° 51' Lat N, 85 ° 23' Long W, una elevación de 20-85 m y una precipitación promedio anual de 2,452 mm.

b. Germinación: la semilla de pino del Petén presenta una geminación de 65% en un tiempo de 12-20 días, la semilla es colectada en los meses de junio y julio (11).

c. Disponibilidad de semilla: los datos reportados por el Banco de Semillas Forestales, para la semilla de pino del Petén fueron; para 1997 (2.28 kg) y para 1998 (23.00 kg).

d. Demanda: Los datos reportados por el Banco de Semillas Forestales para la semilla de pino del Petén fueron; para 1997 (11.27 kg) y para 1998 (1.07 kg).

# 4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar pruebas rápidas, para determinar viabilidad en semillas de las especies *Pinus caribaea*, *Caesalpinia velutina* y *Grevillea robusta*.

## 4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

4.1.1 Definir la concentración y el tiempo adecuados, en la aplicación de las pruebas de tetrazolio e índigo carmín, para las especies *C. velutina, P. caribaea y G. robusta*.

4.2.2 Desarrollar patrones de tinción de pruebas rápidas, para determinar viabilidad en semillas de las especies *P. caribaea, C. velutina* y *G. robusta*.

4.2.3 Definir la prueba rápida (tetrazolio e índigo carmín), más económica y confiable, en la determinación de viabilidad para las especies en estudio.

# 5. HIPOTESIS

5.1 En la aplicación de las distintas concentraciones por lo menos existe una, para cada especie en la que se utilice un menor tiempo, para lograr la tinción característica.

5.2 Entre las pruebas rápidas a desarrollar existe por lo menos una para cada especie a evaluar, en la cual se obtienen resultados de viabilidad semejantes a los obtenidos en la prueba de germinación directa.

5.3 Al menos una de las pruebas rápidas presenta un menor costo, en comparación con el costo de la prueba de germinación directa.

# 6. MATERIALES Y METODOS

## 6.1 MATERIAL EXPERIMENTAL

Se utilizó semilla de las especies *C. velutina*, *P. caribaea* y *G. robusta*, procedente de distintas fuentes semilleras que surten al Banco de Semillas Forestales (BANSEFOR) del Instituto Nacional de Bosques. En el Cuadro 1 se muestran los lugares de procedencia donde se obtuvo la semilla.

CUADRO 1 Información sobre las distintas procedencias de las especies utilizadas.

| Especie | Procedencia | Lote | Año de recolección |
|---|---|---|---|
| *P. caribaea* | Poptún, Petén | 1 | 1997 |
| | Poptún, Petén | 2 | 1998 |
| | El Limón-Colón Honduras | 3 | 1998 |
| *G. robusta* | Alotenango, Sacatepéquez | 1 | 1997 |
| | Alotenango, Sacatepéquez | 2 | 1998 |
| | Ciudad Vieja, Sacatepéquez | 3 | 1998 |
| *C. velutina* | Tulumajillo, El Progreso | 1 | 1996 |
| | Casas viejas, El Progreso | 2 | 1996 |
| | Morazan, El Progreso | 3 | 1996 |

FUENTE: Banco de semillas forestales (BANSEFOR) , Guatemala 1998.

## 6.2 MANEJO DEL EXPERIMENTO

### 6.2.1 Preparación de las soluciones de tinción

El procedimiento para la preparación de soluciones fue el mismo para las tres especies.

A. Preparación de soluciones de Tetrazolio.

El tetrazolio se disolvió en una solución tampón la cual fue preparada mezclando dos soluciones. La primera solución se preparó con 3.6302 gr de fosfato de potasio ($KH_2PO_4$) diluidos en 400 ml de agua destilada y la segunda solución para la mezcla se preparó disolviendo 7.1256 gr de fosfato de sodio ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) en 600 ml de agua destilada. Se mezclaron las dos soluciones, dos partes de la primera con tres partes de la segunda.

Una vez preparada la solución tampón se preparo el tetrazolio de acuerdo a la concentración deseada; 1%, 0.5% y 0.1%.

La solución de tetrazolio se depositó en un recipiente de vidrio y se almacenó a 5 °C en la obscuridad.

B. Preparación de las soluciones de índigo carmín.

Para preparar la solución de índigo carmín a 0.10% de concentración se disolvió 0.5 gramos del reactivo en 500 mililitros de agua en ebullición, manteniendo en agitación la solución por 30 minutos. Posteriormente cuando la solución se enfrió fue filtrada y el remanente del reactivo no disuelto fue secado en el horno a 100 - 105 °C (como no todo el índigo carmín es soluble, se debe determinar la porción insoluble del reactivo). No se obtuvo ningún remanente habiéndose disuelto todo el reactivo. Si hubiera quedado alguna porción insoluble, la parte no disuelta se hubiera pesado y el peso obtenido se hubiera utilizado como factor de corrección para preparar las soluciones de índigo de carmín, utilizando el mismo procedimiento. Para preparar la solución al 0.05% de concentración se disolvió 0.25 gramos del reactivo en 500 mililitros con agua repitiendo todo el procedimiento indicado.

6.2.2 Acondicionamiento de la semilla para su tinción

A. *Caesalpinia velutina* (aripín)

En la semilla de aripín se hizo un agujero con cautil en la testa de la semilla, posteriormente se sumergió en agua durante 24 horas. Se le removió la testa a la semilla, colocándola en la solución de tinción.

B. *Grevillea robusta* (gravilea)

La semilla de gravilea se sumergió en agua durante 24 horas, posteriormente se le removió la testa a la semilla, colocándola en la solución de tinción.

C. *Pinus caribaea* (pino del Petén)

Las semillas de pino se mantuvieron cubiertas completamente en agua durante 12 horas, posteriormente se realizó un corte longitudinal a la mitad de las semillas, descartándose una mitad y la otra fue colocada en solución de tinción.

6.2.3 Determinación de la concentración más adecuada de tetrazolio e índigo carmín

A. Tetrazolio

Para cada una de las especies estudiadas mediante observación directa se analizó un lote de los tres que se evaluaron, utilizando grupos de semillas distribuidas en 5 frascos de vidrio de 50 semillas cada uno, para cada concentración. En aripín se trabajó con la procedencia de Morazan, El Progreso, para gravilea se trabajó con el lote procedente de Alotenango, Sacatepéquez y para pino del Petén se trabajó el lote procedente de Poptún. Las concentraciones utilizadas fueron 1%, 0.5% y 0.1% de tetrazolio, observándose a cada hora, durante un tiempo máximo de 10 horas la coloración de las mismas Como criterio de tinción se consideraron teñidas las partes vivas de la semilla que mostraron una coloración rojo carmín característico del manual de tetrazolio cuyo color se identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.R 3/10. Se determinó la concentración de tetrazolio más adecuada, tomando como criterio para esto, el costo total de la aplicación de la prueba y la rapidez de la misma, determinada en función del tiempo de tinción utilizada en cada una de las especies.

B. Indigo carmín.

Se realizaron observaciones en el lote de aripín procedente de Morazan, El Progreso, para gravilea se trabajó el lote procedente de Alotenango, Sacatepéquez y para pino del Petén se trabajó con el lote procedente de Poptún. Se analizó mediante observación directa un lote de semillas distribuidas en 5 frascos de vidrio con 50 semillas cada uno, para cada una de las procedencias antes mencionadas, habiendo aplicado las concentraciones 0.1% y 0.05% de índigo carmín, observando la coloración de las mismas cada hora durante un máximo de 8 horas. Como criterio de tinción se consideraron teñidas las partes de la semilla que mostraron una coloración característica azul identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.PB 3/10. Se determinó la concentración más adecuada, tomando como criterio el costo total de la aplicación de la prueba y la rapidez de la misma, determinada en función del tiempo de tinción.

6.2.4 Desarrollo de patrones de tinción

Una vez determinada la concentración de índigo carmín y tetrazolio para cada especie, se procedió a desarrollar los patrones de tinción que presentaron tejidos vivos (tetrazolio) y tejidos muertos (índigo carmín).

A. Patrones de tinción para tetrazolio

En el desarrollo del patrón de tinción se trabajó para aripín con la procedencia de Morazan, El Progreso, para gravilea se utilizó la procedencia de Alotenango, Sacatepéquez y para pino del Petén la procedencia de Poptún. El procedimiento de tinción fue el siguiente: las semillas previamente acondicionadas fueron colocadas en la solución de tinción a una concentración de 0.5%, manteniendose en la misma por un periodo promedio de 6 horas en un horno a 40 °C. Posteriormente se extrajo la solución de tetrazolio lavándose varias veces las semillas con agua para eliminar la solución de tinción. Después del último lavado se colocaron en una caja petri cubriéndolas con agua para que la coloración no sufriera ninguna alteración durante el proceso de análisis. La prueba se dio por terminada para aripín en un tiempo de 3 horas, para gravilea 4 horas y pino del Petén 6 horas.

Posteriormente se formaron grupos de semilla con características de tinción similares, según el área teñida y se clasificaron en viables, dudosas y no viables, de acuerdo a los siguientes criterios generales de tinción.

a. Por el área de tinción

i. Características de las semillas viables

* El embrión:

Completamente teñido

- La radícula

Completamente teñida

- Primordios seminales

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

- Cotiledones

Completamente teñidos

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

- Plúmula

Completamente teñida

b. Otros criterios

i. Tejidos viables

Se consideraron tejidos viables:

- Cuando las partes de la semilla se tiñeron gradualmente 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 estaban excesivamente teñidos, cuando la intensidad del color no fue uniforme y se incrementó gradualmente con el aumento del grado de deterioro se consideraron débiles pero viables.

ii. Tejidos no viables

Se consideraron tejidos no viables:

- Cuando el color del tejido fue moteado, el color fue rojo purpúreo, pardusco o grisáceo y varió 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 flácida y borrosa.

B. Patrones de tinción para índigo carmín.

Para el desarrollo del patrón de tinción se trabajó en aripín se utilizó el lote procedente de Morazan, El Progreso, para gravilea se utilizó el lote procedente de Alotenango, Sacapéquez y para pino del Petén el lote procedente de Poptún. El procedimiento de tinción para cada una de las especies fue el siguiente: las semillas previamente acondicionadas fueron colocadas en la solución de tinción a una concentración de 0.1% y se mantuvieron en la misma por un periodo de4 horas. Se utilizaron 5 repeticiones de 50 semillas de cada especie.

Posteriormente se extrajo la solución lavándose las semillas con agua varias veces para eliminar la solución de tinción y se agruparon con base al área teñida clasificándolas en viables, dudosas y no-viables, en base a los siguientes criterios generales de tinción.

a. Por el área de tinción

i. Características de las semillas viables:

* El embrión

Completamente sin teñir

- Radícula:

Completamente sin teñir

- Primordios seminales

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

- 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

- Plúmula

Completamente sin teñir

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

b. Otros criterios:

i. Tejidos viables

Se consideraron tejidos viables:

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

ii. Tejidos no viables

Se consideraron tejidos no viables:

- Cuando el color del tejido fue azul y se incrementó gradualmente.
- Los tejidos que se mostraron recubiertos de líquido y faltos de turgencia y las superficies de corte que se mostraron flácidas y borrosas y totalmente teñidos de color azul.

6.2.5 Prueba de germinación directa

La prueba de germinación directa se utilizó como medio de comparación para establecer la confiabilidad de las pruebas rápidas (tetrazolio e índigo carmín).

Para realizar la prueba de germinación directa se procedió de la manera siguiente:

A. Preparación de sustratos

a. Preparación de mezcla de suelo

La mezcla para la germinación directa estuvo constituida por una proporción de 2:1 (suelo y arena blanca del subsuelo de la Meseta Central de Guatemala).

b. Preparación de la arena blanca

La arena fue cernida en tamices, luego se lavó con agua y se dejó durante 48 horas al sol. Posteriormente se esterilizó en un horno a 200 °C durante 2 horas.

B. Preparación de cajas plásticas

Las cajas plásticas (medianas y pequeñas) fueron desinfectadas con alcohol al 70%, aplicándose este antes de la colocación del sustrato.

C. Siembra

Para gravilea fueron colocadas 500 semillas en una mezcla de suelo y arena en proporción 2:1; se cubrió la semilla dos veces el diámetro de las mismas, se utilizaron cinco cajas plásticas colocando 100 semillas en cada una de ellas, posteriormente se humedeció el sustrato.

Para aripín y pino del Petén fueron utilizadas 500 semillas colocándose en arena 100 semillas por caja, cubriéndose las mismas dos veces el diámetro de la semilla, utilizando cinco cajas plásticas en total, posteriormente se humedeció el sustrato.

D. Toma de datos

Se determinó el porcentaje de germinación para aripín a los 15 días después de la siembra, pino del Petén a los 20 días y gravilea a los 40 días. Se tomó como criterio de germinación la presencia de la radícula y los cotiledones emergidos. En un lote de 500 semillas se utilizaron 5 repeticiones distribuidas en 5 cajas plásticas de 100 semillas cada una, obteniendo un promedio de germinación.

6.2.6 Rectificación de patrones de tinción

Después de desarrollar los patrones de tinción de tetrazolio e índigo carmín con la concentración y tiempo establecidos, se procedió a su ajuste y rectificación para la definición de algunas semillas dudosas en viables o no viables. Se realizó todo el procedimiento anteriormente mencionado en el inciso 6.2.4 de desarrollo de patrones de tinción para cada una de las especies. Se comparó la coloración de cada semilla, con el patrón de tinción elaborado para cada especie.

El porcentaje de semillas viables obtenido en los resultados de la aplicación de los patrones de tinción, tetrazolio e índigo carmín se compararon con los resultados obtenidos en la aplicación de pruebas de germinación directa. Esto sirvió para rectificar en el patrón aquellas semillas cuya tinción se consideraba dudosa.

## 6.3 EVALUACION DE PATRONES DE TINCION

Posteriormente al desarrollo y rectificación de los patrones de tinción previamente definidos, fueron aplicados a tres diferentes lotes de semillas, de cada una de las especies.

Para evaluar las pruebas de viabilidad estadísticamente en cuanto a la aplicación de cada uno de los patrones de tinción en comparación con la germinación directa se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo combinatorio, para cada una de las especies en donde se evaluaron dos factores (pruebas de viabilidad y lotes de semilla). Cada arreglo tiene tres modalidades; factor 1 (prueba de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa), factor 2 (lote 1, 2 y 3 de las diversas procedencias), por lo que generan 9 tratamientos. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones de 25 semillas cada una, para tetrazolio e índigo carmín y 5 repeticiones de 100 semillas cada una, para germinación directa. La concentración utilizada de tetrazolio fue 0.5% y para índigo carmín 0.1%, para cada una de las especies.

El modelo utilizado fue el siguiente:

$Yijk = \mu + Ai + \beta j + (A\beta)ij + \varepsilon ijk$

En donde:

$Yijk$= viabilidad de la semilla de la ijk-ésima unidad experimental.

$\mu$= efecto de la media general de porcentaje de viabilidad.

$Ai$= efecto de la i-ésima prueba de viabilidad

$\beta j$= efecto del j-ésimo nivel de lote.

$A\beta ij$= efecto de la interacción del i-ésimo nivel de la prueba de viabilidad con el j-ésimo nivel de lote.

$\varepsilon ij$= error experimental

### 6.3.1 Tratamientos

Fueron las diferentes combinaciones de las modalidades de los dos factores evaluados pruebas y lotes, para cada especie utilizada (aripín, gravilea y pino del Petén). La distribución de tratamientos estuvo de la siguiente manera:

Cuadro 2 Descripción de tratamientos para la evaluación de las especies, *C. velutina, P. caribaea* y *G. robusta, Guatemala 1998.*

| TRATAMIENTOS | PRUEBAS Y LOTES | DESCRIPCION |
|---|---|---|
| 1 | TZL1 | Prueba de tetrazolio, para el lote 1 |
| 2 | TZL2 | Prueba de tetrazolio, para el lote 2 |
| 3 | TZL3 | Prueba de tetrazolio, para el lote 3 |
| 4 | ICL1 | Prueba de índigo carmín, para el lote 1 |
| 5 | ICL2 | Prueba de índigo carmín, para el lote 2 |
| 6 | ICL3 | Prueba de índigo carmín, para el lote 3 |
| 7 | GDL1 | Prueba de germinación directa, para el lote 1 |
| 8 | GDL2 | Prueba de germinación directa, para el lote 2 |
| 9 | GDL3 | Prueba de geminación directa, para el lote 3 |

6.3.2 Variable respuesta

Se midió la viabilidad en la prueba de germinación directa por medio del porcentaje de germinación que indica el número de plantas producidas para un número dado de semillas y en las pruebas de tinción por medio del número de semillas teñidas, que de acuerdo al patrón de tinción son viables.

6.3.3 Unidad experimental

La unidad experimental para cada una de las especies estuvo constituida de la siguiente manera:

A. *C. velutina*

a. Germinación directa: la unidad experimental consistió en 100 semillas que se colocaron en una caja plástica con arena.

b. Pruebas rápidas: la unidad experimental consistió en 25 semillas que se colocaron en frascos de vidrio de 125 mililitros de capacidad.

B. *G. robusta*

a. Germinación directa: la unidad experimental consistió en 100 semillas, que se colocaron en una caja plástica con una mezcla de tierra y arena en una relación 2:1, en el germinador a 32 ° C y 12 horas luz.

b. Pruebas rápidas: la unidad experimental consistió en 25 semillas que se colocaron en frascos de vidrio de 125 mililitros de capacidad.

C. *P. caribaea*

a. Germinación directa: la unidad experimental consistió en 100 semillas que se colocaron en una caja plástica con arena.

b. Pruebas rápidas: la unidad experimental consistió en 25 semillas que se colocaron en frascos de vidrio de 125 mililitros de capacidad.

6.3.4 Análisis estadístico

El análisis de los datos para cada especie se hizo utilizando el modelo correspondiente al diseño experimental completamente al azar con arreglo combinatorio, en la evaluación de los patrones con un nivel de significancia de 0.05%.

El análisis de la distribución normal de los datos para cada una de las especies se realizó por medio de la prueba de normalidad Shapiro y wilk, en la transformación de los porcentajes de viabilidad cuya distribución no fue normal se utilizó la fórmula de arco seno; mediante el procedimiento ANOVA se realizó el análisis de varianza de los resultados obtenidos haciéndose uso del programa Statistical Analysis System (SAS). En gravilea y aripín la distribución de los datos no fue normal por lo que se aplicó la formula de arco seno, para transformar los porcentajes obtenidos para la realización del análisis de varianza. No así para pino del Petén cuya distribución de los datos fue normal.

$Y = Sen^{-1} \sqrt{X} / 100$

X= En donde X expresa la viabilidad de las semillas en porcentaje de germinación.

## 6.4 ANALISIS DE COSTOS DE APLICACION DE LAS PRUEBAS REALIZADAS

Se realizaron los cálculos del costo de un gramo del reactivo utilizado (tetrazolio e índigo carmín, haciendo la relación según la cantidad que se utilizó) el costo de la energía eléctrica, costo de materiales de laboratorio (semillas de pino del Petén, gravilea y aripín, fungicidas; PCNB, Bavistin, reactivos; tetrazolio, índigo carmín, $KH_2PO_4$ y $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$), costo de mano de obra (jornales), depreciación del equipo de laboratorio (pinzas de disección, cajas petri de vidrio, embudo de propileno, vidrio de reloj, pizeta, frascos de vidrio, refrigeradora, horno, germinador), obteniéndose el total de la aplicación de cada una de las pruebas realizadas.

# 7. RESULTADOS

## 7.1 *Caesalpinia velutina* (aripín)

### 7.1.1 Anatomía de la semilla

Semillas obloide-circulares y aplanadas, de color café oliva suave, el embrión llena la cavidad entera, posee 2 cotiledones grandes y gruesos cubiertos por un delgado endospermo y una cubierta dura e impermeable al agua. Miden en promedio 6 milímetros de ancho y 7 milímetros de largo. Las partes elementales de la semilla se muestran en la Figura 1.

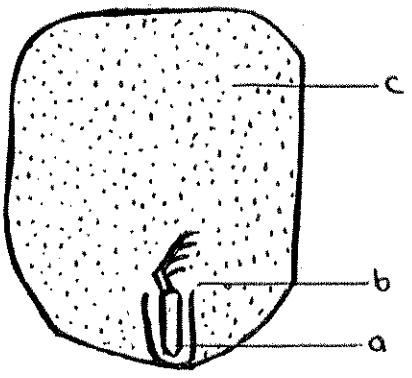



**Figura. 1** Anatomía de la semilla de aripín
a) radícula b) plúmula c) cotiledones

### 7.1.2 Resultado de la aplicación de las distintas concentraciones de tetrazolio e índigo carmín

A. Tetrazolio

La interpretación de los resultados se basó en la extensión y localización de una coloración rojo carmín característico del manual de tetrazolio, identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5. R 3/10, que se desarrolló en el tejido vivo como resultado de la penetración en las células vivas de la solución incolora compuesta de agua, un tampón adicional y bromuro de 2,3,5-trifenil tetrazolio, el cual se redujo formando un compuesto rojo insoluble en agua.

En la concentración 1% se necesitaron 3 horas de tinción con un costo total de Q 129.6; en la concentración 0.5% fue necesario un tiempo de tinción de 3 horas y tuvo un costo total de Q 115.6, en la concentración 0.1% el tiempo de tinción empleado fue de 10 horas, con un costo total de Q 195.6. Los datos de análisis de costos se muestran en el cuadro 18 "A", del apéndice.

La diferencia en la rapidez de tinción en las distintas concentraciones utilizadas en la prueba de tetrazolio, medidas en función del tiempo en el cual se obtiene la coloración rojo carmín, varían debido a la distinta cantidad de reactivo utilizado.

Los resultados obtenidos en las distintas concentraciones utilizadas se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3 Resultados de las distintas concentraciones y tiempos evaluados en la tinción con tetrazolio de la semilla de aripín (lote3), Guatemala 1998.

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 10 | 195.3 |
| 0.5 | 3 | 115.6 |
| 1 | 3 | 129.6 |

Las diferencias en los costos totales en la aplicación de la prueba se deben fundamentalmente a la distinta cantidad de reactivo utilizada, así como a los diferentes jornales y la variación en el gasto de energía utilizada por el horno.

Con base en el criterio del costo total y el tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.5% de concentración, debido a que es la concentración en la que se obtuvo el costo más bajo (Q115.6). Aunque con la concentración del 1% se tiñe en igual tiempo, tiene un costo de Q14.0 más que 0.5% de concentración.

B. Índigo carmín

La interpretación de los resultados se basó en la obtención de la tinción característica color azul identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.PB 3/10, en los tejidos muertos.

Los resultados obtenidos muestran los tiempos en que a determinada concentración se logró la tinción azul. Con 0.1% de concentración la tinción se obtuvo en un tiempo de 4 horas con un costo total de Q 109.03, con la concentración 0.05% se utilizó un tiempo de tinción de 5

horas, con un costo total de Q 121.03. Los datos de análisis de costos se muestran en el Cuadro 18 "A", del apéndice.

Cuadro 4 Resultados de las distintas concentraciones y tiempos evaluados en la tinción con índigo carmín de la semilla de aripín (lote 3), Guatemala 1998

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 4 | 109.03 |
| 0.05 | 5 | 121.03 |

Con base en el criterio del costo total y la rapidez de la prueba, en función del tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.1% por ser la concentración que presentó en menor tiempo (4 horas) la tinción característica y el menor costo (Q 109.03), esta diferencia debido a que se utilizo menos jornales. La variación en la rapidez de tinción en las distintas concentraciones utilizadas se debe a la diferente cantidad de reactivo que se utilizó en la prueba de índigo carmín.

7.1.3 Patrones de tinción

7.1.3.1 Desarrollo de patrones de tinción

A. Tetrazolio

Para el desarrollo y rectificación del patrón de tinción se aplicó la solución de tetrazolio al 0.5% de concentración definida anteriormente a las semillas de aripín proveniente de Morazan, El Progreso. Las áreas teñidas de las semillas se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación que fueron: Semillas viables 92%, dudosas 1% y no viables 7% Cuadro 24 "A", del apéndice.

B. Indigo carmín

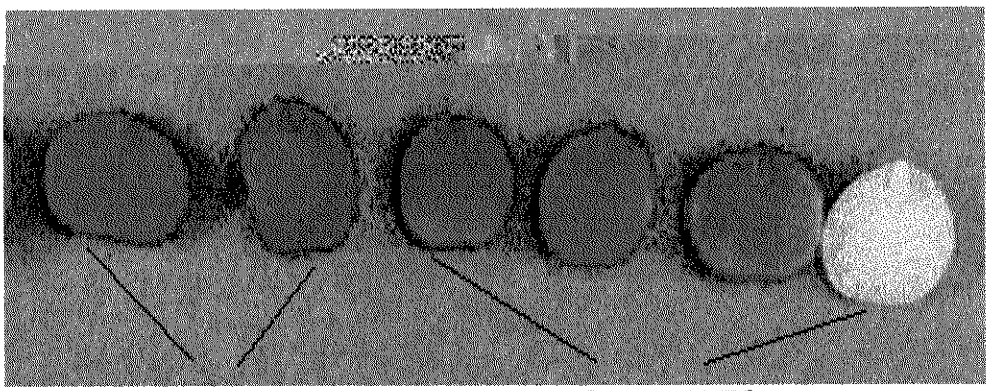
Se aplicó la solución de índigo carmín a 0.1% de concentración, al lote de aripín procedente de Morazan, El Progreso por ser la que presentó el menor tiempo de tinción (4 horas) y costo. Las semillas ya teñidas se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación siguientes: semillas viables 92%, dudosas 2% y no viables 6%. Se obtuvo un valor de viabilidad de 92% Cuadro 24 "A".

7.1.3.2 Rectificación de patrones de tinción

A. Tetrazolio

Para la rectificación se utilizó el patrón de tinción ya elaborado definiendo las semillas dudosas (1%) en no viables debido a que este grupo tiene similitud con el porcentaje de semillas que no germinó en la prueba de germinación directa. El valor de viabilidad obtenido fue de 92%, semejante al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad 8% Cuadro 25 "A", del apéndice. Se utilizo 0.5% de concentración en un tiempo de tinción de 3 horas.

El patrón de tetrazolio ya rectificado se puede observar en la Figura 2.



VIABLES NO VIABLES

Figura 2 Patrón de tinción característico, para la prueba de tetrazolio en semillas de aripín.

En la Figura 2 se observa que la semilla denominada viable es aquella que tiene el embrión y cotiledón completamente teñidos color rojo carmín. Las semillas no-viables presentan algunas de sus partes parcialmente teñidas o que el embrión y cotiledón están conmpletamente sin teñir.

B. Indigo carmín

Para la rectificación se utilizó el patrón de tinción elaborado anteriormente definiendo las semillas dudosas (2%) en no viables debido a que este grupo tiene semejanza con el porcentaje de semillas que no germinó en la prueba de germinación directa. El valor de viabilidad obtenido fue de 92%, semejante al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad 8% Cuadro 25 "A", del apéndice. Se utilizó una concentración de 0.1% en un tiempo de tinción de 4 horas. El patrón ya rectificado se puede observar en la figura 3.


ii

FIGURA 3 Patrones de tinción, para la prueba de índigo carmín en semillas de aripín.

En la figura 3 se observa que la semilla no viable es la que poresenta alguna de sus partes parcial o totalmente teñidas color azul. Las semillas viables presentan el embrión y cotiledón sin tinción.

7.1.4 Resultado de la aplicación del patrón de tinción a tres lotes de semilla de la especie *Caesalpinia velutina*

Con la aplicación del patrón de tinción de tetrazolio e índigo carmín a las semillas de los diferentes lotes y con base al análisis de varianza para el porcentaje de semillas viables, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Al aplicar la prueba de tetrazolio a 0.5% de concentración se obtuvo un promedio de 99% de semillas viables para el lote de Tulumajillo, mientras que para el lote de Casas Viejas un promedio de 98% y para el lote de Morazan un promedio de 92%.

La aplicación de la prueba de tetrazolio proporciona valores de porcentajes semejantes al compararla con los valores, obtenidos en la aplicación de la prueba de germinación directa Cuadro 12 "A", del apéndice. En la aplicación de la prueba de índigo carmín a 0.1% de concentración mostró un promedio de 98% de semillas viables para el lote de Tulumajillo, un promedio de 97% para el lote de Casas Viejas y un promedio de 92% para el lote de Morazan.

Los resultados de la prueba de índigo carmín proporcionan valores similares al compararlos con los valores obtenidos del porcentaje de semillas viables en la prueba de germinación directa. Esta prueba es tan exacta como la de tetrazolio, en su procedimiento y teñido tiene la ventaja de ser más barata Cuadro 12 "A", del apéndice.

La prueba de germinación directa obtuvo un promedio de 98% de semillas viables para el lote de Tulumajillo, 97%, para el lote de Casas Viejas y 92% para el lote de Morazan. En esta prueba el procedimiento es mucho más complejo y costoso que las pruebas rápidas de tetrazolio e índigo carmín, además genera resultados del porcentaje de semillas viables hasta en 10 días (Cuadro 5).

Cuadro 5 Resultados obtenidos en la aplicación de las pruebas tetrazolio, índigo carmín y germinación directa a tres lotes de la semilla de aripín, Guatemala 1998.

| PRUEBA | LOTE | CONCENTRACION (Porcentaje) | TIEMPO | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|
| TETRAZOLIO | Tulumajillo (1) | 0.5 | 3 horas | 99 |
| | Casas Viejas (2) | 0.5 | 3 horas | 98 |
| | Morazan (3) | 0.5 | 3 horas | 92 |
| INDIGO CARMIN | Tulumajillo (1) | 0.1 | 4 horas | 98 |
| | Casas viejas (2) | 0.1 | 4 horas | 97 |
| | Morazan (3) | 0.1 | 4 horas | 92 |
| GERMINACION DIRECTA | Tulumajillo (1) | | 10 días | 98 |
| | Casas Viejas (2) | | 10 días | 97 |
| | Morazan (3) | | 10 días | 92 |

Con base en los resultados obtenidos en la prueba de normalidad Shapiro y Wilk y la aplicación de la formula arco seno, para transformar los datos del porcentaje de viabilidad para la realización del análisis de varianza mediante el uso del programa Statistical Analysis System (SAS) Cuadro 15 "A", del apéndice, se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.6419 y la "F" calculada de 0.45 lo cual indica que no hubo diferencia significativa entre las pruebas tetrazolio a 0.5% de concentración e índigo carmín a 0.1% de concentración, con un 95% de confiabilidad para medir el porcentaje de semillas viables en aripín, obteniéndose porcentajes de viabilidad semejantes a los encontrados en la prueba de germinación directa, dentro del porcentaje de confiabilidad indicado. Al hacer las comparaciones de la prueba de tetrazolio con la prueba de germinación directa llevada a cabo en laboratorio en donde se utilizaron las mejores condiciones probadas (temperatura, sustrato, luz, acondicionamiento de la semilla) muestran equivalencia (tolerancia) (ISTA 1963). Puede decirse que el tetrazolio e índigo carmín, son pruebas que dan resultados confiables sobre la viabilidad de semillas de aripín.

Al realizar el análisis de la rapidez de las pruebas en función del tiempo de tinción, con tetrazolio se utilizaron 4 horas para obtener resultados. La prueba de índigo se realizó en un tiempo de 3 horas y en la prueba de germinación directa se necesitaron 10 días para obtener resultados sobre el porcentaje de semillas viables, por lo que las pruebas de tetrazolio e índigo carmín resultan ser más rápidas que la germinación directa.

Al analizar costos de aplicación en las pruebas realizadas, la de índigo carmín tuvo un costo total de Q 109.03, la aplicación de la prueba de tetrazolio fue de Q 115.6 y los costos más elevados los presentó la aplicación de la prueba de germinación directa, el cual fue de Q 229.08. La diferencia de costos totales en la aplicación de la prueba de tetrazolio con relación a los costos totales de la aplicación de la prueba de índigo carmín se debe al precio del reactivo tetrazolio más la solución tampón y al costo que tiene la energía que utiliza el horno. La diferencia de los costos totales en la aplicación de la prueba de germinación directa con relación a las dos pruebas rápidas, tetrazolio e índigo carmín, se debe a que los costos totales en insumos, equipo y mano de obra son mucho más altos Cuadro 21 "A", del apéndice.

## 7.2 *Pinus caribaea* (pino del Petén)

### 7.2.1 Anatomía de la semilla

Se determinó que las semillas son angostamente ovoides a triangulares, de color gris moteado a pardo claro, tegumento débil, posee de 4 a 8 cotiledones, en promedio la semilla mide 2 milímetros de ancho y 6 milímetros de largo. Las partes elementales de la semilla se muestran en la Figura 4.

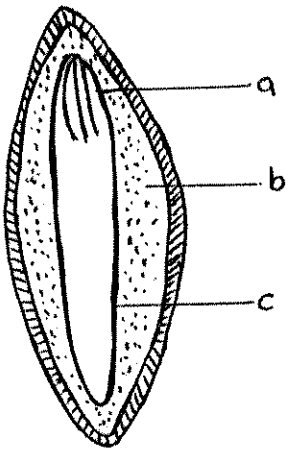



**Figura 4 Anatomía de la semilla de pino del Petén**
**a) cotiledones b) endosperma c) radícula**

### 7.2.2 Resultado de la aplicación de las distintas concentraciones de tetrazolio e índigo carmín

A) Tetrazolio

La interpretación de los resultados se basó en la extensión y localización de una tinción rojo carmín característico del manual de tetrazolio, identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.R 3/10., que se desarrolló en el tejido vivo como resultado de la penetración en las células vivas de la solución incolora compuesta de agua, un tampón adicional y tetrazolio.

Para la concentración de 1% fueron necesarias 6 horas de tinción con un costo total de la prueba de Q165.8 y en la concentración 0.5% se utilizó un tiempo de 6 horas de tinción con un costo total de Q150.8 y en la concentración 0.1% se utilizó un tiempo de tinción de 9 horas, con un costo de total de Q 178.1 Cuadro 6. Los datos de análisis de costos se muestran en el Cuadro 19 "A", del apéndice.

Cuadro 6 Resultados de las distintas concentraciones y tiempos evaluados en la tinción con tetrazolio de la semilla de pino del Petén (lote 1), Guatemala 1998.

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 9 | 178.1 |
| 0.5 | 6 | 150.8 |
| 1 | 6 | 165.8 |

La diferencia en la rapidez de tinción en las distintas concentraciones utilizadas en la aplicación de la prueba de tetrazolio, medidas en función del tiempo en que se obtuvo la coloración rojo carmín, varían debido a que la cantidad del reactivo utilizada en cada concentración es diferente, aún en las semillas del mismo tipo, en las que se utilizo la misma concentración, realizando el experimento bajo iguales condiciones.

La variación en los costos totales en la aplicación de la prueba se deben fundamentalmente a la distinta cantidad de reactivo usado, así como a los diferentes jornales y al diverso gasto de energía utilizada por el horno.

Con base en el criterio del costo total y el tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.5% de concentración, por ser ésta en la que se utilizó el costo más bajo (Q 150.8). Aunque la concentración 1% tiñe también en igual tiempo que 0.5%, tiene un costo de Q 15.00 más que 0.5% de concentración.

La concentración 0.1% no es conveniente para ser utilizada en la realización de la prueba debido a que presenta los costos totales mas elevados Q 178.1; esto debido a que utiliza más jornales y al gasto de energía utilizada por el horno.

B. Indigo carmín

La interpretación de los resultados se basó en la tinción característica color azul identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.PB 3/10, debido a que índigo carmín (disodio 5,5 disulfuro de índigo) es un colorante de anilina que penetra en los tejidos muertos.

Los resultados obtenidos muestran el tiempo en que a determinada concentración se logró la tinción azul. En 0.1% de concentración la tinción se obtuvo en un tiempo de 4 horas con un costo total de Q 104.9, la concentración 0.5% utilizó un tiempo de tinción de 5 horas, con un costo total de Q 116.4 Cuadro 7. Los datos de análisis de costos se muestran en el Cuadro 19 "A", del apéndice.

Cuadro 7 Resultados de las distintas concentraciones y tiempos evaluados en la tinción con índigo carmín de la semilla de pino del Petén (lote 1), Guatemala 1998.

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 4 | 104.9 |
| 0.05 | 5 | 116.4 |

Con base en el criterio del costo total de la aplicación de la prueba y la rapidez de la misma en función del tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.1% por ser la concentración que presentó en menor tiempo(4 horas) la tinción característica y el menor costo (Q 104.9). La variación en el tiempo de tinción en las concentraciones utilizadas se debe a la diferente cantidad de reactivo que se utilizó en la prueba de índigo carmín.

### 7.2.3 Patrones de tinción

#### 7.2.3.1 Desarrollo de patrones de tinción

A. Tetrazolio

Para el desarrollo y rectificación del patrón de tinción se aplicó la solución de tetrazolio al 0.5% de concentración definida anteriormente a las semillas de pino del Petén del lote 1 Poptún, las áreas teñidas de la semilla se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación que fueron: semillas viables 42%, dudosas 14% y no viables 44%. El valor de viabilidad obtenido fue de 42% Cuadro 26 "A", del apéndice.

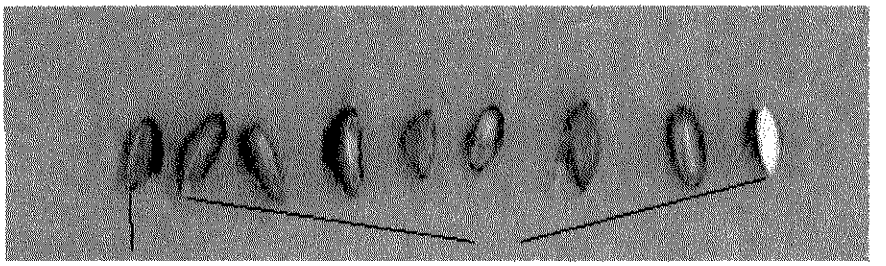
B. Indigo carmín

Se aplicó la solución de índigo carmín a una concentración de 0.1% por ser la que presentó el menor tiempo de tinción (4 horas), a las semillas de pino, del lote Poptún, (1997). Las semillas se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación que fueron: semillas viables 43%, dudosas 13% y no viables 44%. Se obtuvo un valor de viabilidad de 43%, Cuadro 26 "A", del apéndice.

7.2.3.2 Rectificación de patrones de tinción

A. Tetrazolio

En la rectificación se utilizó el patrón de tinción ya elaborado definiendo las semillas dudosas (14%) en no viables, debido a que este grupo es semejante al porcentaje de semillas que no germinó en la prueba de geminación directa. El valor de viabilidad obtenido fue de 42%, similar al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad fue de 58% Cuadro 27 "A", del apéndice. Se utilizó 0.5% de concentración en un tiempo de tinción de 6 horas. El patrón de tinción ya rectificado se observa en la Figura 4.



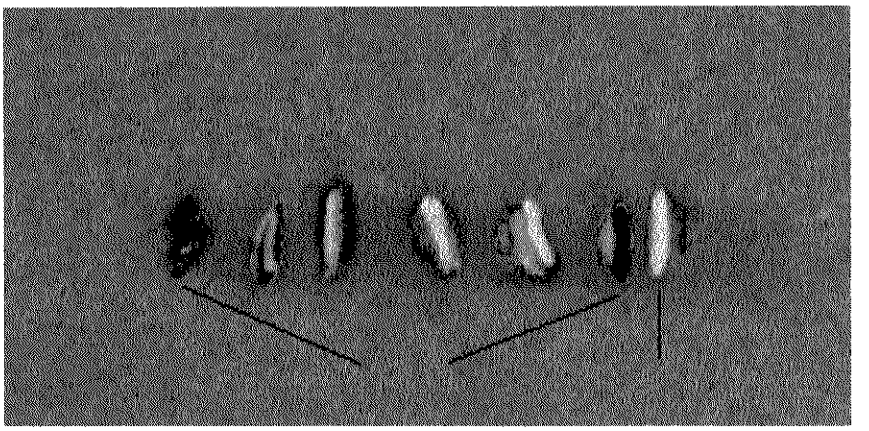
VIABLE NO VIABLES

Figura 4 Patrón de tinción característico, para la prueba de tetrazolio en semillas de pino del Petén.

En la figura 4 se observa que la semilla denominada viable es aquella que tiene el embrión y endosperma completamente teñidos rojo carmín. Las semillas no-viables presentan algunas de sus partes parcialmente teñidas o que el embrión y endosperma estan completamente sin teñir

B. Indigo carmín

En el proceso de rectificación se utilizo el patrón de tinción ya elaborado definiendo las semillas dudosas 13% en no viables, debido a que este grupo tiene similitud con el porcentaje de semillas que no germinó en la prueba de germinación directa. El valor de viabilidad obtenido fue 43% equivalente al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad fue de 57% Cuadro 27 "A", del apéndice.



NO VIABLES VIABLES

FIGURA 6 Patrones de tinción, para la prueba de índigo carmín en semillas de pino del Petén

En la Figura 6 se observa que la semilla no-viable presenta alguna de sus partes parcial c totalmente teñidas color azul . Las semillas viables presentan el embrión y endosperma sin tinción.

7.2.4 Resultados de la aplicación del patrón de tinción a tres lotes de semilla de la especie *Pinus caribaea*

Con la aplicación del patrón de tinción de tetrazolio e índigo carmín a las semillas del lote 1 de Poptún (1997), lote 2 Poptún (1998) y El Limón-Colón, Honduras y con base al análisis de varianza para el porcentaje de semillas viables los resultados obtenidos fueron los siguientes:

En la aplicación de la prueba de tetrazolio a 0.5% de concentración, se obtuvo un promedio de 42% de semillas viables para el lote de Poptún (1997), mientras que para el lote de Poptún (1998) un promedio de 80% y para el lote de Honduras un promedio de 64%. La aplicación de la prueba de tetrazolio proporciona valores de porcentajes equivalentes al compararla con los valores obtenidos en la aplicación de la prueba de germinación directa, Cuadro 13 "A", del apéndice.

Al aplicar la prueba de índigo carmín a 0.1% de concentración se obtuvo un promedio de 43% de semillas viables para el lote de Poptún (1997), un promedio de 80% para el lote de Poptún (1998), y un promedio de 68% para el lote de Honduras. Los resultados de la prueba de índigo carmín proporcionan valores similares al compararlos con los valores obtenidos en porcentaje de semillas viables de la prueba de germinación directa Cuadro 13 "A", del apéndice.

En la prueba de germinación directa se obtuvo un promedio de 40% de semillas viables, para el lote 1 de Poptún (1997), un promedio de 81% para el lote 2 de Poptún (1998) y un promedio de 64% para el lote de Honduras. En la prueba de germinación directa el procedimiento es mucho más complejo y costoso que las pruebas de tetrazolio e índigo carmín, además genera resultados del porcentaje de semillas viables hasta los 20 días, Cuadro 8.

Cuadro 8 Resultados obtenidos en la aplicación de las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa a tres lotes de la semilla de pino del Petén', Guatemala 1998.

| PRUEBA | LOTE | CONCENTRACION (Porcentaje) | TIEMPO | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|
| TETRAZOLIO | Poptún, 1997 (1) | 0.5 | 6 horas | 42 |
| | Poptún, 1998 (2) | 0.5 | 6 horas | 80 |
| | Colón, Honduras (3) | 0.5 | 6 horas | 64 |
| INDIGO CARMIN | Poptún, 1997 (1) | 0.1 | 4 horas | 43 |
| | Poptún, 1998 (2) | 0.1 | 4 horas | 80 |
| | Colón, Honduras (3) | 0.1 | 4 horas | 68 |
| GERMINACION DIRECTA | Poptún, 1997 (1) | | 20 días | 40 |
| | Poptún, 1998 (2) | | 20 días | 81 |
| | Colón, Honduras (3) | | 20 días | 64 |

Con base en los resultados obtenidos en la prueba de normalidad Shapiro y Wilk, para la realización del análisis de varianza por medio del uso del programa Statistical Analysis System (SAS) Cuadro 16 "A", del apéndice, se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.6204 y la F calculada de 0.48 lo cual indica que no existe diferencia significativa entre las pruebas rápidas tetrazolio a 0.5% de concentración e índigo carmín a 0.1% de concentración, con un 95% de confiabilidad para medir el porcentaje de semillas viables en pino del Petén, lo que significa que cualquiera de las rápidas que se utilice dará resultados del porcentaje de viabilidad semejantes a los obtenidos en la prueba de germinación directa, dentro del porcentaje de confiabilidad anteriormente indicado. Al realizar comparaciones de la prueba de tetrazolio con la prueba de germinación directa llevada a cabo en laboratorio en donde se utilizaron las mejores condiciones probadas (temperatura, luz, sustrato, acondicionamiento de la semilla) muestran equivalencia (tolerancia) (ISTA 1963) puede decirse que el tetrazolio es una prueba en la que se obtienen resultados confiables sobre la viabilidad de semillas de pino.

Al realizar el análisis de la rapidez de las pruebas en función del tiempo de tinción, en tetrazolio se utilizaron 6 horas de tinción para obtener resultados y la prueba de índigo carmín se realizó en un tiempo de 6 horas. La prueba de germinación directa tardó 20 días para poder obtener resultados sobre el porcentaje de semillas viables, por lo que las pruebas de tetrazolio e índigo carmín resultan ser más rápidas que la de geminación directa.

Al analizar los costos de aplicación de las pruebas realizadas, índigo carmín tuvo un costo total de Q 104.93, la aplicación de la prueba de tetrazolio presentó un costo total de Q 150.8 y los costos más elevados los tiene la aplicación de la prueba de germinación directa con Q 212.68. La diferencia de costos totales en la aplicación de la prueba de tetrazolio con relación a los costos totales de la prueba de índigo carmín se debe al precio del reactivo de tetrazolio más la solución tampón y al costo que tiene la energía que utiliza el horno. La diferencia de los costos totales en la aplicación de la prueba de germinación con relación a las dos pruebas rápidas anteriores se debe a que los costos totales en insumos, equipo y mano de obra son mucho más altos, Cuadro 22 "A", del apéndice.

## 7.4 *Grevillea robusta* (gravilea)

### 7.4.1 Anatomía de la semilla

Semillas ovado lanceoladas, de color café rojizo obscuro a rojo obscuro, poseen 2 cotiledones grandes y gruesos, miden en promedio 5 milímetros de ancho y 9 milímetros de largo.
Las partes elementales de la semilla se muestran en la Figura 7.

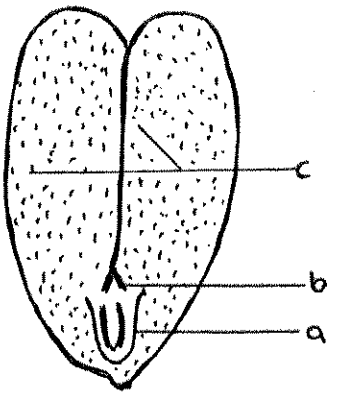



**Figura 7 Anatomía de la semilla de gravilea**
**a) cotiledones b) radícula c) plúmula**

### 7.4.2 Resultados de la aplicación de las distintas concentraciones de tetrazolio e índigo carmín

A. Tetrazolio

La interpretación de los resultados se basó en la extensión y localización de una tinción rojo carmín característico del manual de tetrazolio, identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5.R 3/10., que se desarrollo en el tejido vivo como resultado de la penetración en las células vivas de la solución incolora compuesta de agua, un tampón adicional y bromuro 2,3,5 trifenil tetrazolio el cual se redujo formando un compuesto rojo llamado formazan insoluble en agua.

En la concentración 1% se necesitaron 4 horas de tinción con un costo total de Q140.96, en la concentración 0.5% se necesitaron 4 horas de tinción y tuvo un costo total de Q 126.51, en la concentración 0.1% el tiempo de tinción empleado fue de 8 horas, con un costo total de Q 166.45. Los datos de análisis de costos se muestran en el Cuadro 20 "A", del apéndice.

Los resultados obtenidos en las distintas concentraciones utilizadas se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9 Resultados de las distintas concentraciones y tiempos evaluados en la tinción con tetrazolio de la semilla de gravilea (lote 2), Guatemala 1998.

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 8 | 166.45 |
| 0.5 | 4 | 126.51 |
| 1 | 4 | 140.96 |

La diferencia en los costos totales en la aplicación de la prueba se deben fundamentalmente a la distinta cantidad de reactivo utilizado, así como a los diferentes jornales y la variación en el gasto de energía utilizada por el horno.

Con base en el criterio del costo total y el tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.5% de concentración, debido a que es la concentración en la que se utilizó el menor tiempo (4 horas) de tinción y tuvo el costo más bajo (Q 126.5). Aunque con la concentración del 1% se tiñe en igual tiempo, pero tiene un costo de Q 14.45 más que 0.5% de concentración.

B. Indigo carmín

La interpretación de los resultados se basó en la tinción color azul de anilina identificada en el sistema de anotación del color de Munsell (16) como 5. PB 3/10.

Los resultados obtenidos muestran los tiempos en que a determinada concentración se logró en la semilla la tinción característica azul. Con 0.1% de concentración se obtuvo en un tiempo de 4 horas con un costo total de Q 106.28, con la concentración 0.05% se utilizó un tiempo de tinción de 5 horas, con un costo total de Q 117.78. Los datos de análisis de costos se muestran en el Cuadro 20 "A", del apéndice.

Los resultados obtenidos en las distintas concentraciones se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10 Resultados obtenidos en la semilla de gravilea (lote2) según las distintas concentraciones de índigo carmín utilizadas, Guatemala 1998.

| CONCENTRACION (Porcentaje) | TINCION (horas) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|
| 0.1 | 4 | 106.28 |
| 0.05 | 5 | 117.78 |

Con base en el criterio del costo total y la rapidez de la prueba en función del tiempo de tinción, se desarrolló el patrón utilizando 0.1% por ser la concentración que presentó en menor tiempo (4 horas) la tinción característica azul y el menor costo (106.28). La variación en la rapidez de tinción en las distintas concentraciones utilizadas se debe a la diferente cantidad de reactivo que se utilizó en la prueba de índigo carmín.

7.3.3 Patrones de tinción

7.3.3.1 Desarrollo de patrones de tinción

A. Tetrazolio

Para el desarrollo y rectificación del patrón de tinción se aplicó la solución de tetrazolio a 0.5% de concentración definida anteriormente a las semillas de gravilea del lote Alotenango, Sacatepéquez (1998), las áreas teñidas de las semillas se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación que fueron: semillas viables 4%, dudosas 5% y no viables 91% Cuadro 28 "A", del apéndice.

B. Indigo carmín

Se aplicó la solución de índigo carmín a una concentración de 0.1% por ser la que presentó el menor tiempo de tinción (4 horas) a las semillas de gravilea de lote Alotenango, (1998). Las semillas ya teñidas se ubicaron dentro de cada uno de los tres tipos de clasificación siguiente: Semillas viables 4%, dudosas 10% y no viables 86%. Se obtuvo un valor de viabilidad de 4%, Cuadro 28 "A", del apéndice.

7.3.3.2 Rectificación de patrones de tinción

A. Tetrazolio

Para realizar la rectificación se utilizó el patrón de tinción ya elaborado, se utilizó una concentración de 0.5%, en un período de tiempo de tinción de 4 horas definiendo las semillas dudosas (5%) en no viables, debido a que este grupo tiene similitud con el porcentaje de semillas que no germinó en la prueba de germinación directa. El valor de viabilidad obtenido fue de 4% similar al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad de 96%. Cuadro 29 "A", del apéndice, el patrón ya rectificado se puede observar en la Figura 8.

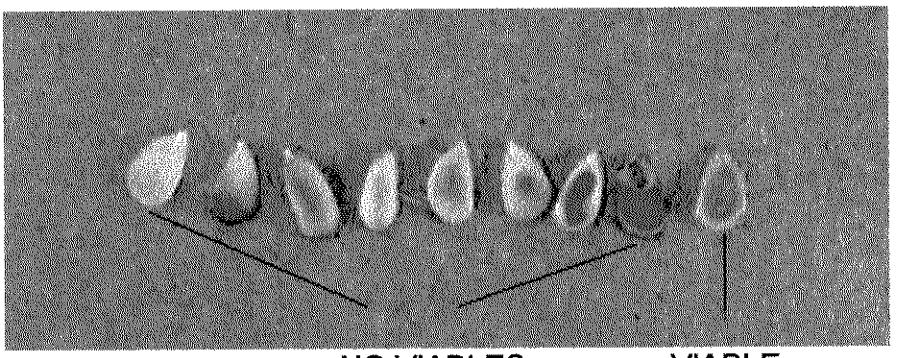


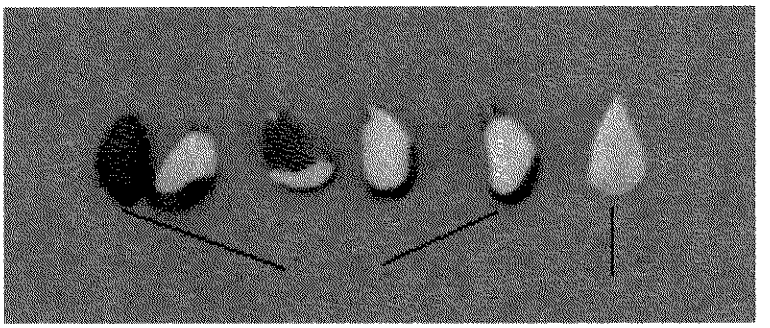

Figura 8 Patrón de tinción característico, para la prueba de tetrazolio en semillas de gravilea.

En la figura 8 se observa que la semilla viable presenta el embrión y cotiledón completamente teñidos rojo carmín. Las semillas no-viables presentan algunas de sus partes parcialmente teñidas o el embrión y cotiledón sin ninguna tinción

B. Indigo carmín

En el proceso de rectificación se utilizó el patrón ya elaborado, se utilizó una concentración de 0.1% y un tiempo de tinción de 4 horas, definiendo las semillas dudosas 10% en no viables debido a que este grupo forma parte de las semillas que no germinaron en la prueba de germinación directa.

El valor de viabilidad obtenido fue de 4% equivalente al obtenido en el desarrollo del patrón y el valor de no-viabilidad fue de 96% Cuadro 29 "A", del apéndice, el patrón de tinción ya rectificado puede observarse en la Figura 9.



NO VIABLES VIABLE

Figura 9 Patron de tinción característico, para la prueba de índigo carmín en semillas de gravilea

En la Figura 9 se observa que la semilla no-viable es la que presenta algunas de sus partes parcial o totalmente teñidas color azul. Las semillas viables presentan el embrión y cotiledón sin ninguna tinción.

7.3.4 Resultados de la aplicación del patrón de tinción a tres lotes de semilla de la especie *Grevillea robusta*

Con la aplicación del patrón de tinción de tetrazolio e índigo carmín a las semillas de los lotes de Alotenango y Ciudad Viejas los dos del departamento de Sacatepéquez y con base al análisis de varianza para el porcentaje de semillas viables Cuadro 14 "A", del apénice los resultados obtenidos fueron:

En la aplicación de la prueba de tetrazolio a 0.5% de concentración, se obtuvo 0% de semillas viables, para el lote de Alotenango (1997), mientras que para el lote de Ciudad Vieja un promedio de 4% y para el lote Alotenango (1998) un promedio de 5%.

La aplicación de la prueba de tetrazolio proporciona valores de porcentajes semejantes al compararla con los valores, obtenidos en la aplicación de la prueba de germinación directa. En la aplicación de índigo carmín a 0.1% de concentración esta prueba mostró 0% de semillas viables para el lote Alotenango (1997), un promedio de 4% para el lote Alotenango (1998) y para el lote de Ciudad Vieja un promedio de 5%. Estos resultados proporcionan valores similares al compararlos con los valores obtenidos del porcentaje de semillas viables en la prueba de germinación directa Cuadro 14 "A", del apéndice.

Los resultados obtenidos en la prueba de germinación directa fueron 0% para el lote Alotenango(1997), un promedio de 2% para el lote Alotenango (1998) y un promedio de 3% para el lote de Ciudad Vieja. En esta prueba el procedimiento es mucho más complejo y costoso que tetrazolio e índigo carmín, además genera resultados del porcentaje de semillas viables hasta en 40 días Cuadro 11.

Cuadro 11 Resultados obtenidos en la aplicación de las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa a 3 lotes de la semilla de gravilea, Guatemala 1998.

| PRUEBA | LOTE | CONCENTRACION (Porcentaje) | TIEMPO | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|
| TETRAZOLIO | Alotenango 1997 (1) | 0.5 | 4 horas | 0 |
| | Alotenango 1998 (2) | 0.5 | 4 horas | 4 |
| | Ciudad Vieja (3) | 0.5 | 4 horas | 5 |
| INDIGO CARMIN | Alotenango 1997 (1) | 0.1 | 4 horas | 0 |
| | Alotenango 1998 (2) | 0.1 | 4 horas | 4 |
| | Ciudad Vieja (3) | 0.1 | 4 horas | 5 |
| GERMINACIÓN DIRECTA | Alotenango 1997 (1) | | 40 días | 0 |
| | Alotenango 1998 (2) | | 40 días | 2 |
| | Ciudad Vieja (3) | | 40 días | 3 |

Los resultados de la prueba de germinación directa fueron mucho más bajos que los obtenidos en las pruebas rápidas, debido a que esta es una especie muy sensible a sufrir contaminación en pruebas de laboratorio y necesita condiciones especiales para su germinación, por lo que aunque la semilla sea viable no precisamente va a germinar, además gravilea es una especie que pierde con rapidez su viabilidad. Una de las limitantes que tienen las pruebas rápidas es que no reflejan la detección de hongos, pero si permiten la detección del deterioro de la semilla antes de que se haga evidente en los ensayos de germinación.

Con base en los resultados obtenidos en la prueba de normalidad Shapiro y Wilk y la formula de arco seno para transformar los datos del porcentaje de viabilidad para la realización del análisis de varianza por medio del programa Statistical analysis System (SAS) (Cuadro 17 "A", del apéndice) podemos utilizar los patrones de tinción de las pruebas rápidas tetrazolio a 0.5% de concentración e índigo carmín a 0.1% de concentración, ya que se obtuvo una probabilidad de "F" de 0.6372 y la "F" calculada de 0.46 con un 95% de confiabilidad, para medir el porcentaje de semillas viables en gravilea, debido a que no hubo diferencia significativa entre las pruebas, lo que significa que aunque los porcentajes de viabilidad y germinación fueron bajos, cualquiera de las pruebas rápidas que se apliquen nos darán resultados del porcentajes de viabilidad confiables, dentro del porcentaje de confiabilidad indicado. Al hacer las comparaciones de la prueba de tetrazolio con la prueba de germinación directa llevada a cabo en laboratorio en donde se utilizaron

tetrazolio con la prueba de germinación directa llevada a cabo en laboratorio en donde se utilizaron las mejores condiciones probadas (temperatura del germinador, sustrato, luz, acondicionamiento de la semilla) muestran equivalencia (tolerancia) (ISTA 1963). Puede decirse que tetrazolio es una prueba que da resultados confiables sobre la viabilidad de semillas de gravilea.

Al analizar las pruebas en función del tiempo de tinción, con tetrazolio se utilizaron 4 horas para obtener resultados, la prueba de índigo carmín se realizó en un tiempo de 3 horas, la prueba de germinación directa tardó 40 días para brindar resultados sobre el porcentaje de semillas viables, por lo que las pruebas de tetrazolio e índigo carmín resultan ser más rápidas que la germinación directa, en la obtención de porcentajes de semillas viables para los laboratorios de semillas.

Al realizar el análisis de los costos de la aplicación en las pruebas realizadas índigo carmín tuvo un costo total de Q106.28, la aplicación de la prueba de tetrazolio tuvo un costo total de Q 125.96 y los costos más elevados los tiene la aplicación de la prueba de germinación directa con Q 218.11.

La diferencia de los costos totales en la aplicación de la prueba de germinación directa son más altos con relación a las pruebas tetrazolio e índigo carmín, lo cual se debe a que los costos totales en insumos, equipo y mano de obra son mucho más altos Cuadro 23 "A", del apéndice.

# 8. CONCLUSIONES

8.1 En la especie *Caesalpinia velutina* el menor tiempo de tinción se obtiene con la aplicación de la prueba de tetrazolio (3 horas de tinción) a una concentración de 0.5%.

8.2 Para la especie *C. velutina* la aplicación de la prueba de índigo carmín, presenta el menor costo, con un tiempo de tinción de 4 horas a una concentración de 0.1%.

8.3 Para la especie *Pinus caribaea* el menor tiempo de tinción se obtiene con la prueba de índigo carmín a una concentración de 0.1%.

8.4 La prueba con menor costo de aplicación , para pino lo presenta la prueba de índigo carmín.

8.5 En la especie *Grevillea robusta* el tiempo de tinción (4 horas) es el mismo tanto en la aplicación de la prueba de tetrazolio a una concentración de 0.5%, como en la prueba de índigo carmín a una concentración de 0.1%.

8.5 La prueba de índigo carmín en la especie *G. robusta* presentó el menor costo de aplicación.

8.7 Las pruebas rápidas de índigo carmín y tetrazolio, pueden ser utilizadas con la misma confiabilidad que la prueba de germinación directa, para determinar el porcentaje de semillas viables en las especies *P. caribaea, G. robusta y C. velutina,* ya que presentan resultados de viabilidad semejantes a los obtenidos en la prueba de germinación directa.

8.8 La especie *G. robusta* es muy sensible a sufrir contaminación en pruebas de laboratorio por lo que necesita condiciones especiales para su germinación.

# 9. RECOMENDACIONES

9.1 La aplicación de la prueba de índigo carmín es la más barata y tienen la misma confiabilidad que la de tetrazolio, sin embargo esta prueba no es reconocida por la Asociación Internacional Para Ensayos de Semilla (ISTA), por lo que se recomienda utilizarla en rutinas internas de laboratorio, dado a su bajo costo.

9.2 Para las especies *Caesalpinia velutina, Grevillea robusta y Pinus caribaea*, se recomienda utilizar, para reportar la viabilidad de las semillas, la prueba de tetrazolio en la concentración 0.5%, con un tiempo de tinción de 3 horas *(C. velutina)*, 4 horas (*G. robusta*) y 6 horas (*P. caribaea*), debido a que esta prueba proporciona resultados del porcentaje de viabilidad semejantes a los obtenidos en germinación directa, mostrando equivalencia (tolerancia), siendo reconocida por la ISTA.

9.3 Para *G. robusta* se recomienda realizar investigaciones, sobre mejoramiento de la condición de germinación en laboratorio, para semillas de esa especie.

## 10. BIBLIOGRAFIA


1. ASOCIACION INTERNACIONAL PARA ENSAYOS DE SEMILLAS (España). 1976. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Trad. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. España. 184 p.

2. BIDWELL, R. 1979. Fisiología vegetal. Trad por Gerónimo Cano y Manuel Rojas. México, A.G.T. p. 76-425.

3. CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (C.R.). 1984. Especies para leña, arbustos y árboles para la producción de energía. Turrialba, C.R. p. 104-143.

4. --------. 1986. Silvicultura de especies promisorias para producción de leña en América Central: resultado de cinco años de investigación. Costa Rica, CATIE. Serie Técnica:Informe Técnico, no.86. 288 p.

5. CONTRERAS, J. 1987. Estudio del crecimiento y rendimiento del *Pinus caribaea* Morelet en Machaquilá, Poptún Petén. Tesis. Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 96 p.

6. CORDERO, D.; TRUJILLO, E. 1995. Pruebas rápidas de viabilidad para semillas de *Bombacopsis quinata* y *Tabebuia rosea.* Boletin Mejoramiento Genético y Semillas Forestales (C.R.) no.11: 4-6.

7. CORDOBA, C. 1976. Fisiologia vegetal. España, HIB H. Blume. p. 1-45.

8. DANIEL, T.; HELMS, J.; BACKER, F. 1982. Principios de silvicultura. Mexico, McGraw-Hill. p. 363-400.

9. DUFFUS, C.; SLAUGTHER. 1980. Las semillas y sus usos. Trad por Fidel Marquez. México, AGT. p. 5-89.

10. ELLIS, R.H *et al.* 1985. Handbook of seed technology for genebanks; principles and methodology. Rome, Italia, International Board Genetic Resomes Handbooks for Genebanks. v.1, 210 p.

11. GUATEMALA. INSTITUTO NACIONAL DE BOSQUES. 1998. Tarjeta de control de datos sobre germinación de semillas forestales.

Sin publicar.

12. HARTMANN, H.; KESLER, D. 1988. Propagación de plantas, principios y prácticas. 2 ed. Trad. por Marino Ambrocio. México, CECSA. p. 75-254.

13. JARA N., L.F. 1996. Biología de semillas; forestales. Turrialba, C.R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Investigación, Proyecto de Semillas Forestales. 31 p.

14. MILLER, E. 1981. Fisiologia vegetal. Trad. por Francisco La Torre. Mexico, UTEHA. p. 230-235.

15. MOORE, R. 1985. Manual de ensayos de tetrazolio. Trad. por Luis Martinez. Zurich, Switzerland, International Seed Testing Association. 92 p.

16. MUNSELL COLOR MACBETH (EE.UU.). 1976. Munsell book of color glossy finish colleaction removable Samples in tho binders. Maryland, USA. s.p.

17. POPINIGIS, F. 1985. Fisiología da semente. 2 ed. Brasilia, Tecnología de Sementes de la Mississippi State Universiti. 289 p.

18. ROJAS, F; ORTIZ, F. 1991. Pino caribe (*Pinus caribaea* Morelet.): árbol de uso multiple en América Central. Turrialba, Costa Rica., CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico, no.175. 78 p.

19. SAMANIEGO, J; PEÑA, A. 1995. Estandarización de técnicas para el manejo de semillas de *Switenia macrophylla y Cordia alliodora* . Turrialba, C.R, CATIE. 134 p.

20. SAMANIEGO, J.; TRUJILLO, E.; JARA, L. 1995. Pruebas rápidas para determinar viabilidad de caoba *Switenia macropylla* y laurel *Cordia alliodora*. Boletin Mejoramiento Genético y Semillas Forestales (C.R.) no. 12: 9-11

21. TORRES, J. 1990. Silvicultura. In Congreso Forestal Nacional (1., 1990, Guatemala). Memoria. Guatemala, Dirección General de Bosques y Vida Silvestre. p. 1-24.



No. Bo. Rolando Barrios.

# 11. APENDICE

Cuadro 12A Porcentaje de viabilidad de la semilla de *Caesalpinia velutina*, Guatemala 1998.

| PRUEBA Y LOTE | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| TZ 1 | 96 | 100 | 100 | 100 | 100 | 99 |
| TZ 2 | 96 | 96 | 100 | 100 | 96 | 98 |
| TZ 3 | 96 | 92 | 88 | 88 | 96 | 92 |
| IC 1 | 100 | 92 | 100 | 100 | 96 | 98 |
| IC 2 | 100 | 100 | 100 | 92 | 92 | 97 |
| IC 3 | 88 | 88 | 100 | 96 | 88 | 92 |
| GD 1 | 98 | 98 | 99 | 99 | 98 | 98 |
| GD 2 | 95 | 97 | 99 | 98 | 97 | 97 |
| GD 3 | 94 | 92 | 83 | 94 | 99 | 92 |

REFERENCIA:

TZ= Tetrazolio
IC= Indigo carmín
GD= Germinación directa

1= Lote 1
2= Lote 2
3= Lote 3

Cuadro 13A Porcentaje de viabilidad de la semilla de *Pinus caribaea*, Guatemala 1998.

| PRUEBA Y LOTE | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| TZ 1 | 36 | 48 | 52 | 44 | 32 | 42 |
| TZ 2 | 72 | 76 | 80 | 80 | 92 | 80 |
| TZ 3 | 68 | 64 | 56 | 64 | 56 | 64 |
| IC 1 | 56 | 40 | 52 | 24 | 44 | 43 |
| IC 2 | 76 | 72 | 84 | 80 | 88 | 80 |
| IC 3 | 80 | 64 | 68 | 60 | 68 | 68 |
| GD 1 | 47 | 32 | 37 | 45 | 40 | 40 |
| GD 2 | 81 | 79 | 81 | 78 | 85 | 81 |
| GD 3 | 70 | 64 | 68 | 55 | 62 | 64 |

Cuadro 14A Porcentaje de viabilidad de la semilla de *Grevillea robusta*, Guatemala, 1998.

| PRUEBA Y LOTE | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| TZ 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TZ 2 | 4 | 4 | 0 | 8 | 4 | 4 |
| TZ 3 | 8 | 0 | 4 | 8 | 4 | 5 |
| IC 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| IC 2 | 8 | 4 | 0 | 4 | 4 | 4 |
| IC 3 | 0 | 8 | 4 | 4 | 8 | 5 |
| GD 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| GD 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| GD 3 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 |

Cuadro 15A Análisis de varianza de la variable porcentaje de viabilidad de la semilla de aripín, Guatemala, 1998

| FUENTE DE VARIACION | GRADOS DE LIBERTAD | SUMATORIA DE CUADRADOS | CUADRADOS MEDIOS | F EVALUADA | PR > F |
|---|---|---|---|---|---|
| PRUEBA | 2 | 0.01096285 | 0.00548143 | 0.45 | 0.6419 |
| LOTE | 2 | 0.25288004 | 0.12644002 | 10.35 | 0.0003 |
| PRUEBA * LOTE | 4 | 0.01664654 | 0.00416163 | 0.34 | 0.8487 |
| ERROR | 36 | 0.43972316 | 0.01221453 | | |
| TOTAL | 44 | 0.72021259 | | | |

CV= 7.84%

Cuadro 16A Análisis de varianza de la variable porcentaje de viabilidad de la semilla de Pino del Petén, Guatemala, 1998.

| FUENTE DE VARIACION | GRADOS DE LIBERTAD | SUMATORIA DE CUADRADOS | CUADRADOS MEDIOS | F EVALUADA | PR > F |
|---|---|---|---|---|---|
| PRUEBA | 2 | 51.911 | 25.95 | 0.48 | 0.6204 |
| LOTE | 2 | 11,134.177 | 5,567.088 | 103.76 | 0.0001 |
| PRUEBA * LOTE | 4 | 80.089 | 20.022 | 0.37 | 0.8262 |
| ERROR | 36 | 1,931.600 | 1,408.272 | | 0.0001 |
| TOTAL | 44 | 13,197.778 | | | |

CV= 11.77%

Cuadro 17A Análisis de varianza de la variable porcentaje de viabilidad de la semilla de gravilea, Guatemala, 1998.

| FUENTE DE VARIACION | GRADOS DE LIBARTAD | SUMATORIA DE CUADRADOS | CUADRADOS MEDIOS | F EVALUADA | PR > F |
|---|---|---|---|---|---|
| PRUEBA | 2 | 0.00489864 | 0.00244932 | 0.46 | 0.6372 |
| LOTE | 2 | 0.29790239 | 0.14895119 | 27.75 | 0.0001 |
| PRUEBA*LOTE | 4 | 0.00245436 | 0.00061359 | 0.11 | 0.9767 |
| ERROR | 36 | 0.19324227 | 0.00536784 | | |
| TOTAL | 44 | 0.49849766 | | | |

CV= 64%

Cuadro 18A Resultado de los costos totales de la aplicación de las distintas concentraciones de tetrazolio e índigo carmín en semillas de la especie *Caesalpinia velutina*, Guatemala, 1998.

| RUBRO | CONCENTRACION (Porcentaje) | CANTIDAD | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|---|
| TETRAZOL | 0.1 | 0.1 | gramos | 30.00 | 3.00 |
| SEMILLA | | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| KH2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 1.5 | jornal | 100.00 | 150.00 |
| ENERGIA | | 8.28 | kilowats/hora | 0.72 | 5.96 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **195.3** |
| TETRAZOLIO | 0.5 | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.00 |
| SEMILLA | | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| KH2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 0.625 | jornal | 100.00 | 62.5 |
| ENERGIA | | 2.48 | kilowats/hora | 0.72 | 1.79 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **115.6** |
| TETRAZOLIO | 1 | 1 | gramos | 30.00 | 30.00 |
| SEMILLA | | 19.615 | gramos | 0.32 | 5.28 |
| KH2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 0.625 | jornal | 100.00 | 62.5 |
| ENERGIA | | 2.48 | kilowats/hora | 0.72 | 1.79 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **129.6** |
| INDIGO CARMIN | 0.1 | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| SEMILLA | | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| MANO DE OBRA | | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | | **109.03** |
| INDIGO CARMIN | 0.05 | 0.1 | gramos | 10.00 | 1.00 |
| SEMILLA | | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| MANO DE OBRA | | 0.88 | jornal | 100.00 | 88.00 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | | **121.03** |

Cuadro 19A Resultado de los costos totales de la aplicación de distintas concentraciones de tetrazolio e índigo carmín en semillas de *Pinus caribaea*, Guatemala, 1998.

| RUBRO | CONCENTRACION (Porcentaje) | CANTIDAD (Quetzales) | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|---|
| TETRAZOLIO | 0.1 | 0.1 | gramos | 30.00 | 3.00 |
| SEMILLA | | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| KH2PO4 | | 0.36 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 1.38 | jornal | 100.00 | 137.5 |
| ENERGIA | | 7.45 | kilowats/hora | 0.72 | 5.36 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **178.1** |
| TETRAZOLIO | 0.5 | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.00 |
| SEMILLA | | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| KH2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 1 | jornal | 1.00 | 100.00 |
| ENERGIA | | 4.968 | kilowats/hora | 0.72 | 3.58 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **150.8** |
| TETRAZOLIO | 1% | 1 | gramos | 30.00 | 30 |
| SEMILLA | | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| KH2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| MANO DE OBRA | | 1 | jornal | 100.00 | 100 |
| ENERGIA | | 4.968 | kilowats/hora | 0.72 | 3.58 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | | **165.8** |
| INDIGO CARMIN | 0.10% | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| SEMILLA | | 2.178 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| MANO DE OBRA | | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | | **104.9** |
| INDIGO CARMIN | 0.05 | 0.1 | gramos | 10.00 | 1.00 |
| SEMILLA | | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| MANO DE OBRA | | 0.88 | jornal | 100.00 | 87.5 |
| EQUIPO DEPRECIACION 20% | | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | | **116.4** |

uadro 20A Resultados de los costos totales de la aplicación de distintas concentraciones e tetrazolio e índigo carmín en semillas de *Grevillea robusta*, Guatemala, 1998.

| RUBRO | CONCENTRACION (Porcentaje) | CANTIDAD | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|---|
| ETRAZOLIO | 0.1 | 0.1 | gramos | 30.00 | 3 |
| EMILLA | | 1.05 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| H2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| a2 HPO4. 2HO | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| ANO DE OBRA | | 1.25 | jornal | 100.00 | 125 |
| NERGIA | | 6.62 | kilowats/hora | 0.72 | 4.77 |
| QUIPO DEPRECIACION 0% | | | | | 29.74 |
| OTAL | | | | | **166.45** |
| ETRAZOLIO | 0.5 | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.55 |
| EMILLA | | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| H2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| a2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| ANO DE OBRA | | 0.75 | jornal | 100.00 | 75 |
| NERGIA | | 3.31 | kilowats/hora | 0.72 | 2.38 |
| QUIPO DEPRECIACION 0% | | | | | 29.74 |
| OTAL | | | | | **126.51** |
| ETRAZOLIO | 1 | 1 | gramos | 30.00 | 30 |
| EMILLA | | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| H2PO4 | | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| a2 HPO4. 2H2O | | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.2 |
| ANO DE OBRA | | 0.75 | jornal | 100.00 | 75 |
| NERGIA | | 3.31 | kilowats/hora | 0.72 | 2.38 |
| QUIPO DEPRECIACION 0% | | | | | 29.74 |
| OTAL | | | | | **140.96** |
| IDIGO CARMIN | 0.1 | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| EMILLA | | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| ANO DE OBRA | | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| QUIPO DEPRECIACION 0% | | | | | 25.75 |
| OTAL | | | | | **106.28** |
| IDIGO CARMIN | 0.05 | 0.1 | gramos | 10.00 | 1 |
| EMILLA | | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| ANO DE OBRA | | 0.88 | jornal | 100.00 | 87.5 |
| QUIPO DEPRECIACION 0% | | | | | 25.75 |
| OTAL | | | | | **117.78** |

Cuadro 21A Resultado de costos totales para semillas de aripín en la aplicación de las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa, Guatemala 1998.

| RUBRO | CANTIDAD | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|
| TETRAZOLIO (0.5%) | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.00 |
| SEMILLA | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| KH2PO4 | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.20 |
| MANO DE OBRA | 0.625 | jornal | 100.00 | 62.5 |
| ENERGIA | 2.48 | kilowats/hora | 0.72 | 1.79 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 29.74 |
| TOTAL | | | | 115.6 |
| INDIGO CARMIN | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| SEMILLA | 19.615 | gramos | 0.32 | 6.28 |
| MANO DE OBRA | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 25.75 |
| TOTAL | | | | 109.03 |
| GERMINACION DIRECTA | | | | |
| SEMILLA | 78.46 | gramos | 0.32 | 25.11 |
| FUNGICIDA BAVISTIN | 1 | gramos | 0.072 | 0.072 |
| FUNGICIDA PCNB | 2 | gramos | 0.074 | 0.15 |
| ARENA | 2 500 | gramos | | 50.00 |
| MANO DE OBRA | 1 | jornal | 100.00 | 100.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 33.75 |
| TOTAL | | | | 229.08 |

Cuadro 22A Resultado de costos totales para semillas de pino del Petén en la aplicación de las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa, Guatemala 1998.

| RUBRO | CANTIDAD | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|
| **TETRAZOLIO (0.5%)** | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.00 |
| SEMILLA | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| KH2PO4 | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.20 |
| MANO DE OBRA | 1 | jornal | 100.00 | 100.00 |
| ENERGIA | 4.968 | kilowats/hora | 0.72 | 3.58 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | **150.8** |
| **INDIGO CARMIN** | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| SEMILLA | 2.1783 | gramos | 1.00 | 2.18 |
| MANO DE OBRA | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | **104.93** |
| **GERMINACION DIRECTA** | | | | |
| SEMILLA | 8.713 | gramos | 1.00 | 8.71 |
| FUNGICIDA BAVISTIN | 1 | gramos | 0.072 | 0.072 |
| FUNGICIDA PCNB | 2 | gramos | 0.074 | 0.15 |
| ARENA | 2 500 | gramos | | 50.00 |
| MANO DE OBRA | 1 | jornal | 100.00 | 100.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 33.75 |
| **TOTAL** | | | | **212.68** |

Cuadro 23A Resultado de costos totales para semillas de gravilea en la aplicación de las pruebas de tetrazolio, índigo carmín y germinación directa, Guatemala 1998.

| RUBRO | CANTIDAD | UNIDAD | COSTO UNITARIO (Quetzales) | COSTO TOTAL (Quetzales) |
|---|---|---|---|---|
| **TETRAZOLIO (0.5%)** | 0.5 | gramos | 30.00 | 15.00 |
| SEMILLA | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| KH2PO4 | 0.363 | gramos | 0.30 | 0.11 |
| Na2 HPO4. 2H2O | 0.71 | gramos | 0.28 | 0.20 |
| MANO DE OBRA | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| ENERGIA | 3.30 | kilowats/hora | 0.72 | 2.38 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 29.74 |
| **TOTAL** | | | | **125.96** |
| **INDIGO CARMIN** | 0.2 | gramos | 10.00 | 2.00 |
| SEMILLA | 1.054 | gramos | 3.35 | 3.53 |
| MANO DE OBRA | 0.75 | jornal | 100.00 | 75.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 25.75 |
| **TOTAL** | | | | **106.28** |
| **GEMINACION DIRECTA** | | | | |
| SEMILLA | 4.22 | gramos | 3.35 | 14.14 |
| FUNGICIDA BAVISTIN | 1 | gramos | 0.072 | 0.072 |
| FUNGICIDA PCNB | 2 | gramos | 0.074 | 0.15 |
| ARENA | | gramos | | 50.00 |
| TIERRA | | gramos | | 20.00 |
| MANO DE OBRA | 1 | jornal | 100 | 100.00 |
| DEPRECIACION EQUIPO 20% | | | | 33.75 |
| **TOTAL** | | | | **218.11** |

Cuadro 24A Porcentaje de semillas viables obtenido en aripín lote 3 en el desarrollo del patrón de tición en la prueba de tetrazolio e índigo carmín, Guatemala, 1998.

| PRUEBA | REPETICION | SEMILLAS | | |
|---|---|---|---|---|
| | | VIABLE | DUDOSA | NO VIABLE |
| TETRAZOLIO | I | 96 | 0 | 4 |
| | II | 92 | 4 | 4 |
| | III | 88 | 0 | 12 |
| | IV | 88 | 0 | 12 |
| | V | 96 | 0 | 4 |
| | **MEDIA** | **92** | **1** | **7** |
| INDIGO CARMIN | I | 88 | 4 | 8 |
| | II | 88 | 0 | 12 |
| | III | 100 | 0 | 0 |
| | IV | 96 | 0 | 4 |
| | V | 88 | 4 | 8 |
| | **MEDIA** | **92** | **2** | **6** |

Cuadro 25A Valores de viabilidad obtenidos en la rectificación de patrones de tinción en semillas de aripín lote 3, Guatemala 1998.

| PRUEBA | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV | V | (Porcentaje) |
| tetrazolio | 96 | 92 | 88 | 88 | 96 | 92 |
| indigo carmin | 88 | 88 | 100 | 96 | 88 | 92 |
| germinacion directa | 94 | 92 | 83 | 94 | 99 | 92 |

Cuadro 26A Porcentaje de semillas viables obtenido en pino en el desarrollo del patrón en la prueba de tetrazolio e índigo carmín, Guatemala 1998.

| PRUEBA | REPETICION | SEMILLA | | |
|---|---|---|---|---|
| | | VIABLE | DUDOSA | NO VIABLE |
| TETRAZOLIO | I | 36 | 14 | 50 |
| | II | 48 | 15 | 37 |
| | III | 52 | 14 | 34 |
| | IV | 44 | 13 | 43 |
| | V | 32 | 14 | 54 |
| | **MEDIA** | **42** | **14** | **44** |
| INDIGO CARMIN | I | 56 | 13 | 31 |
| | II | 40 | 13 | 47 |
| | III | 52 | 12 | 36 |
| | IV | 24 | 14 | 62 |
| | V | 44 | 13 | 43 |
| | **MEDIA** | **43** | **13** | **44** |

Cuadro 27 A Valores de viabilidad obtenidos en la rectificación de patrones de tinción en semillas de pino del Petén lote 1, Guatemala 1998

| PRUEBA | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV | V | |
| Tetrazolio | 36 | 48 | 52 | 44 | 32 | 42 |
| Indigo carmín | 56 | 40 | 52 | 24 | 44 | 43 |
| germinación directa | 47 | 32 | 37 | 45 | 40 | 40 |

Cuadro 28A Porcentaje de semillas viables obtenido en gravilea, en el desarro llo del patrón en la prueba de tetrazolio e índigo carmín, Guatemala 1998.

| PRUEBA | REPETICION | SEMILLAS | | |
|---|---|---|---|---|
| | | VIABLE | DUDOSA | NO VIABLE |
| | I | 4 | 8 | 88 |
| | II | 4 | 4 | 92 |
| | II | 0 | 4 | 96 |
| | IV | 8 | 3 | 89 |
| | V | 4 | 4 | 92 |
| | **MEDIA** | **4** | **5** | **91** |
| INDIGO CARMIN | I | 8 | 4 | 88 |
| | II | 4 | 5 | 92 |
| | III | 0 | 12 | 88 |
| | IV | 4 | 12 | 84 |
| | V | 4 | 16 | 80 |
| | **MEDIA** | **4** | **10** | **86** |

Cuadro 29A Valores de viabilidad obtenido en la rectificación de patrones de tinción en semillas de gravilea lote 2, Guatemala 1998.

| PRUEBA | REPETICIONES | | | | | VIABILIDAD (Porcentaje) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV | V | |
| Tetrazolio | 4 | 4 | 0 | 8 | 4 | 4 |
| Indigo carmín | 8 | 4 | 0 | 4 | 4 | 4 |
| Germinación directa | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

Ref. Sem.100-99

LA TESIS TITULADA: "DESARROLLO DE PATRONES DE PRUEBAS RAPIDAS PARA DETERMINAR VIABILIDAD EN SEMILLAS DE: Pinus caribaea Morelet, Grevillea robusta A. Cunn., y caesalpinia velutina (Britt & Rose) Standl."

DESARROLLADA POR LA ESTUDIANTE: MAGDA LETICIA RAMIREZ SOTO

CARNET No: 8813164

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Luis F. Morán Palma
Ing. Agr. Marco Tulio Aceituno Juárez
Ing. Ftal. José Mario Saravia Molina
Ing. Agr. William R. Escobar López

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 Oswaldo Franco Rivera
A S E S O R

Ing. Agr. Julio Gustavo López Payes
A S E S O R

FACULTAD DE AGRONOMIA
Instituto
de Investigaciones Agronómicas
DIRECCION
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS

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

I M P R I M A S E

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DECANO
FACULTAD DE AGRONOMIA

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

cc:Control Académico
Archivo

HA/prr.

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.
TEL/FAX (502) 476-9794
e-mail: ilusac.edu.gt § http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm