

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**EVALUACIÓN DE TRES TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS Y TRES
SÚSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLEROS DE GUAYACÁN
(*Guaiaacum sanctum* L.), BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO Y
ANÁLISIS HISTOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DE SU SEMILLA.**

Wagner Guillermo Alonzo De León

Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de Plantas Medicinales

Guatemala, mayo de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**EVALUACIÓN DE TRES TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS Y TRES
SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLEROS DE GUAYACÁN
(*Guaiaacum sanctum* L.), BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO Y
ANÁLISIS HISTOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DE SU SEMILLA.**

Trabajo de tesis presentado por
Wagner Guillermo Alonzo De León

Para optar al grado de Maestro en Ciencias

Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de Plantas Medicinales

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

| | |
|--|------------|
| Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda | DECANO |
| MA. Elsa Julieta Salazar de Ariza | SECRETARIA |
| MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo | VOCAL I |
| Dr. Juan Francisco Pérez Sabino | VOCAL II |
| Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera | VOCAL III |
| Br. Andreina Delia Irene López Hernández | VOCAL IV |
| Br. Carol Andrea Betancourt Herrera | VOCAL V |

CONSEJO ACADÉMICO
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D.
María Ernestina Ardón Quezada, MSc.
Jorge Mario Gómez Castillo, MA.
Clara Aurora García González, MA.
Silvia María Morales Cabrera, MSc.

ACTO QUE DEDICO

A: DIOS

Por ser mi guía Divina, mi amigo fiel, Él que estuvo conmigo siempre, en las buenas y en las malas. Gracias totales Padre.

LA VIRGEN SANTÍSIMA

Por interceder por mí ante su hijo, al iluminar mí camino, Gracias por tus bendiciones Madre.

MIS PADRES

Carlos Enrique Alonzo Catalán, América Nancy De León Escobar por impulsarme a alcanzar mis metas y brindarme todo su apoyo y amor incondicional. Los amo.

MIS HERMANOS

Carlos Alejandro, Nancy Deyna. Por su ejemplo, cariño, apoyo y consejos. Los amo.

MI MEJOR AMIGA

Analy López, por todo el ánimo y amor que me brindas día con día, gracias por tu apoyo en los momentos difíciles.

MI FAMILIA

Abuelos, tíos, tías, madrinas, primos, primas y familia en general. En especial a mi tía Yolanda De León (†), Carolina De León (†).

MIS ABUELOS

Carlos Alonzo (†), Victoria Catalán (†), Raúl De León (†), Socorro Escobar (†). Dios los tenga en su gloria.

MIS AMIGOS

Roberto Maldonado, Miguel Abaj, Jacky Escobar, Ely Escobar, Melissa Morales, Raúl Álvarez, Rolando Sagastume (†), Leonel Hernández, Iván Juárez. Por haber compartido momentos inolvidables en mi vida universitaria y personal. Que nuestra amistad dure para siempre.

MUPLANENSES

Gracias por la amistad y apoyo mutuo durante esta aventura. En especial a Oscar Sacahuí, Domitila Martínez, Zara Salguero, Nereida Marroquín.

AGRADECIMIENTOS

A: La Universidad de San Carlos de Guatemala

Alma Mater dónde se desarrolló mi pensamiento académico.

Dr. José Vicente Martínez Arévalo

Por los consejos que me ha brindado, por el apoyo y oportunas sugerencias en la elaboración de este documento.

Licda. María Eugenia Paredes Sánchez

Por su tiempo, amistad y apoyo brindado en la elaboración de cortes anatómicos.

Ing. Agr. Milvia Alejandra Liquez Castillo

Mi más profundo agradecimiento por su valioso apoyo en el manejo agronómico de la investigación.

Ing. Agr. Víctor Roberto Macario Pérez

Por su apoyo y consejos brindados para realizar la investigación.

Don Juan Manuel Alvarado

Por su apoyo en la recolección de semilla y por compartir su valioso conocimiento.

Ing. Agr. Rolando Arnulfo Sagastume Méndez (†)

Hasta pronto maestro de las cuatro cuerdas, el universo te abrace en donde estés.

**Licda. MSc. María Ernestina Ardón
Quezada**

Por su valiosa y desinteresada
colaboración en el desarrollo del presente
documento.

**Licda. MA. Clara Aurora García
González**

Quién puso su granito de arena para llegar
a la meta.

Un especial agradecimiento a la Facultad de Agronomía, y al centro experimental docente
de agronomía “CEDA” quienes permitieron realizar esta investigación con todo el apoyo.

Un especial agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, y al
Laboratorio de Cito histología por permitirme realizar los cortes anatómicos necesarios.

RESUMEN

El Guayacán (*Guaiaecum sanctum* L.), es una especie con propiedades antirreumáticas, antiinflamatorias, diuréticas y laxantes; sus poblaciones pueden llegar a estar en peligro de extinción si no se manejan adecuadamente, por lo que se encuentra listada en el Apéndice II de Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, CITES. Se desconoce la mejor tecnología para su propagación, por lo que la presente investigación aporta información que permite establecer plantaciones con fines maderables y medicinales. El objetivo de la investigación fue evaluar tratamientos pregerminativos y sustratos en la propagación de guayacán, y hacer una descripción anatómica de la semilla y la presencia cualitativa de almidón, mucílagos, alcaloides y lípidos, a través de pruebas histoquímicas. La investigación tuvo tres fases: a) se seleccionaron árboles semilleros en el Parque Regional “Niño Dormido”, municipio de Cabañas, Zacapa, Guatemala. La semilla se recolectó en el mes de agosto; b) en septiembre se procedió a establecer semilleros bajo condiciones de invernadero, con el objetivo de evaluar 4 tratamientos pregerminativos con 4 sustratos, para determinar el porcentaje de germinación; c) se realizaron cortes histológicos para describir anatómicamente la semilla. Los resultados muestran que doce tratamientos presentaron porcentajes de germinación igual o mayores al 70%, el análisis de varianza reveló que existen diferencias significativas entre los tratamientos, la prueba de medias jerarquizó dos grupos, en donde el tratamiento, inmersión en ácido giberélico + Peat moss, e inmersión en ácido giberélico + abono orgánico F2® presentaron los mayores porcentajes de germinación, 93 y 92% respectivamente, todos los tratamientos donde se utilizó inmersión en agua hervida presentaron los más bajos porcentajes de germinación. Con el análisis anatómico de semillas se describió: la cubierta seminal, endospermo y meristemas apicales, en tanto que con las pruebas histoquímicas se determinó la presencia de alcaloides, mucílagos y lípidos. Se concluye que, esta información puede contribuir al establecimiento de un método adecuado que logre mayor porcentaje de germinación de la especie *G. sanctum* a nivel de vivero.

Se sugiere continuar con investigaciones sobre estos compuestos fitoquímicos de su semilla, los cuales podrían tener relevancia a nivel agronómico, medicinal o farmacológico.

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2 | MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1 | <i>Guaiacum sanctum</i> L. | 3 |
| 2.1.1 | Descripción | 3 |
| 2.1.2 | La Madera | 3 |
| 2.1.3 | Valores medicinales y comerciales..... | 4 |
| 2.1.4 | Distribución | 5 |
| 2.1.5 | Silvicultura | 6 |
| 2.2 | La semilla | 8 |
| 2.2.1 | La semilla de las angiospermas..... | 11 |
| 2.2.2 | Embriogénesis | 12 |
| 2.3 | Latencia y germinación de las semillas | 12 |
| 2.3.1 | Latencia por la cubierta de las semillas o exógena | 14 |
| 2.3.2 | Latencia morfológica o endógena..... | 14 |
| 2.3.3 | Latencia Interna | 15 |
| 2.3.4 | Latencia combinada exógena – endógena | 16 |
| 2.4 | Tratamientos pre-germinativos..... | 18 |
| 2.4.1 | Estratificación | 18 |
| 2.4.2 | Escarificación..... | 19 |
| 2.4.3 | Lixiviación | 20 |
| 2.4.4 | Combinación de tratamientos | 21 |
| 2.4.5 | Hormonas y otros estimulantes químicos | 21 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.4.6 | Flotación | 21 |
| 2.5 | Sustrato..... | 21 |
| 2.5.1 | Propiedades de los sustratos | 22 |
| 2.5.2 | Propiedades físicas de los sustratos | 23 |
| 2.5.3 | Propiedades químicas del sustrato..... | 26 |
| 2.5.4 | Propiedades Biológicas | 28 |
| 2.5.5 | Características del sustrato ideal..... | 29 |
| 2.5.6 | Materiales utilizados como sustratos | 30 |
| 2.5.7 | Descripción de los materiales para la elaboración de los sustratos .. | 32 |
| 3 | JUSTIFICACIÓN | 36 |
| 4 | OBJETIVOS | 37 |
| 4.1 | General | 37 |
| 4.2 | Específicos..... | 37 |
| 5 | HIPÓTESIS..... | 38 |
| 6 | MÉTODOS Y TÉCNICAS EMPLEADAS..... | 39 |
| 6.1 | Metodología Experimental..... | 39 |
| 6.1.1 | Selección de árboles semilleros | 39 |
| 6.1.2 | Semilla utilizada..... | 39 |
| 6.1.3 | Sustratos utilizados..... | 39 |
| 6.1.4 | Tratamientos pregerminativos | 39 |
| 6.1.5 | Análisis y determinaciones previas..... | 40 |
| 6.2 | Manejo del Experimento..... | 40 |
| 6.2.1 | Siembra | 40 |
| 6.2.2 | Riego | 40 |

| | | |
|--------|--|----|
| 6.2.3 | Control de plagas y enfermedades..... | 41 |
| 6.2.4 | Diseño Experimental..... | 41 |
| 6.2.5 | Modelo estadístico..... | 41 |
| 6.2.6 | Factor de estudio..... | 42 |
| 6.2.7 | Niveles del factor..... | 42 |
| 6.2.8 | Repeticiones..... | 42 |
| 6.2.9 | Descripción de la Unidad experimental..... | 43 |
| 6.2.10 | Variables de respuesta..... | 43 |
| 6.2.11 | Análisis estadístico..... | 44 |
| 6.2.12 | Toma de datos..... | 44 |
| 6.2.13 | Proceso para realizar las pruebas histoquímicas..... | 45 |
| 6.2.14 | Proceso para realizar el estudio anatómico..... | 46 |
| 7 | RESULTADOS..... | 47 |
| 7.1 | Selección de árboles semilleros..... | 47 |
| 7.2 | Porcentaje de germinación..... | 48 |
| 7.3 | Análisis costo beneficio..... | 53 |
| 7.4 | Análisis anatómico de la semilla de <i>G. sanctum</i> | 56 |
| 7.5 | Pruebas histoquímicas de la semilla de <i>G. sanctum</i> | 59 |
| 8 | DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 61 |
| 9 | CONCLUSIONES..... | 66 |
| 10 | RECOMENDACIONES..... | 67 |
| 11 | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 68 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Condiciones edafoclimáticas naturales en las que se desarrolla. | 4 |
| Tabla 2. Datos de árboles seleccionados..... | 47 |
| Tabla 3. Resumen del análisis de varianza para la variable “Porcentaje de germinación”..... | 48 |
| Tabla 4. Descripción de los tratamientos evaluados, medias de germinación y prueba de media Duncan. | 49 |
| Tabla 5. Variables de respuesta para la germinación de <i>G. sanctum</i> | 52 |
| Tabla 6. Análisis de costo, tratamientos 1-8..... | 54 |
| Tabla 7. Análisis de costo, tratamientos 9-16..... | 55 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Distribución potencial de <i>G. sanctum</i> en Centroamérica..... | 6 |
| Figura 2. Árboles semilleros seleccionados (a, b) comparados con el típico árbol de guayacán de la región (c). | 47 |
| Figura 3. Gráfico de barras para la comparación del porcentaje de germinación y grupo Duncan..... | 50 |
| Figura 4. Gráfico de barras para la comparación de medias del factor sustrato ... | 51 |
| Figura 5. Gráfico de barras para la comparación de medias del factor tratamiento pregerminativo..... | 51 |
| Figura 6. Células epidérmicas de la cubierta seminal. | 56 |
| Figura 7. Zona cristalífera en la cubierta seminal..... | 56 |
| Figura 8. Células del endospermo..... | 57 |
| Figura 9. Células de parénquima. | 57 |
| Figura 10. Meristemo apical caulinar..... | 58 |
| Figura 11. Meristemo apical radical..... | 58 |
| Figura 12. Prueba negativa para la presencia de almidón. | 59 |
| Figura 13. Prueba positiva para la presencia de alcaloides. | 59 |
| Figura 14. Prueba positiva para la presencia de mucílagos..... | 60 |
| Figura 15. Prueba positiva para la presencia de lípidos. | 60 |

1 INTRODUCCIÓN

El bosque seco contiene una riqueza de especies útiles, una de ellas *Guaiacum sanctum* L. es utilizado por su madera, pero también desde hace muchos años como medicinal, y fue por mucho tiempo la fuente del guayacol, de propiedades medicinales muy conocidas. Actualmente se encuentra entre las especies amenazadas, y pertenece al apéndice II de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), lo que significa que se puede aprovechar pero bajo manejo, lo que implica conocer de su biología, propagación y manejo. Los estudios silviculturales de la especie son escasos, de los que hay indican que su madera es considerada de alta calidad, pero su regeneración natural es muy baja, la viabilidad de su semilla es corta y su porcentaje de germinación inferior al 50%.

Esto lleva a la necesidad en aras de conocer mejor la flora maderable y medicinal de Guatemala, de estudiar el guayacán. En la presente investigación se evaluaron tratamientos pregerminativos y sustratos para la propagación de guayacán bajo condiciones de invernadero, con el propósito de contribuir a establecer un método de propagación adecuado que permita alcanzar un mayor porcentaje de germinación. Además se realizó el estudio anatómico de la semilla y se complementó con pruebas histoquímicas para contribuir a generar información científica de interés.

La investigación se llevó a cabo en tres fases; en la primera, se realizaron visitas de campo al municipio de Cabañas, Zacapa, para identificar y seleccionar árboles semilleros; la segunda se llevó a cabo en el Centro Experimental Docente de Agronomía (CEDA) donde las semillas se sembraron en bandejas forestales y se dió el manejo agronómico adecuado. La tercera se llevó a cabo en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, donde se realizaron cortes histológicos para describir, anatómicamente, la semilla

de guayacán; además, se realizaron pruebas histoquímicas para determinar la presencia de alcaloides, almidón, lípidos y taninos.

Los resultados muestran que la combinación de ácido giberélico más Peat moss y ácido giberélico más Abono orgánico F2® fueron los tratamientos que presentaron mayor porcentaje de germinación, obtuvieron un porcentaje de germinación mayor al 90%. Histológicamente la semilla de guayacán está constituida por: cubierta seminal, células del endospermo y meristemas apicales; histoquímicamente, contiene mucílagos, lípidos y alcaloides.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 *Guaiacum sanctum* L.

2.1.1 Descripción

Árbol de tamaño mediano que no alcanza más de 20 m de altura y 60 cm de diámetro. Copa densa, frondosa, redondeada, a veces con ramas caedizas. Corteza externa grisácea, rugosa, fisurada verticalmente que, a veces, se exfolia en placas; corteza interna parda, levemente amarga. Hojas paripinnadas, opuestas, 3-9 cm de largo, con 2-5 pares de folíolos opuestos, elípticos, oblongo a obovados, obtusos o redondeados en el ápice, sésiles, enteros y sin pelos, 2-3.5 cm de largo y 1-1.5 cm de ancho. Inflorescencia fasciculada. Flores en grupos terminales, con 5 pétalos azules o a veces púrpura. Los frutos son cápsulas de aproximadamente 1.5 cm de largo, ovoides, con 2-5 lóbulos prominentes, que se tornan de color amarillo-naranja al madurar; semillas elipsoides, negras o pardo-oscuras, con un arilo rojo, cerca de 1 cm de largo (OFI/CATIE, 2003).

2.1.2 La Madera

La albura es amarilla o crema dorada y el duramen oliva a castaño oliva con bandas más oscuras. Superficie brillante y lisa al tacto. Olor suave y agradable. Textura fina, uniforme. Densidad muy alta (1.2-1.36 gr/cm³). Grano entrecruzado. Difícil de secar debido a su tendencia refractaria. Duramen altamente resistente al deterioro de hongos, insectos y taladradores marinos. Difícil de tratar con preservantes. Difícil de trabajar con maquinaria y herramientas manuales debido a su alta densidad, dureza y grano entrecruzado; sin embargo, se pueden obtener buenos acabados (OFI/CATIE, 2003). En la Tabla 1 se observa las condiciones edafoclimáticas naturales en donde se desarrolla el guayacán.

Tabla 1. *Condiciones edafoclimáticas naturales en las que se desarrolla.*

| Clima y suelo en condiciones naturales | | ¿Dónde crece mejor? | Factores limitantes |
|--|-------------------|--|---|
| Pluviometría | 600-1500 mm | En general crece muy lentamente, independientemente de las condiciones del sitio. Sin embargo, crece mejor bajo la sombra de otras especies de crecimiento más rápido. | Muy susceptible a la calidez del suelo. A plena exposición solar la especie ramifica mucho. |
| Altitud | 0-650 msnm | | |
| Estación seca | 5-7 meses | | |
| Suelos | Rocosos calizos | | |
| Ph | >6.5 | | |
| Pendiente | Moderada a fuerte | | |

Fuente: (OFI/CATIE, 2003).

2.1.3 Valores medicinales y comerciales

Posee una madera muy consistente, durable y extremadamente pesada, difícil de trabajar, con resina de varias propiedades medicinales, que fue utilizada principalmente en Europa y los Estados Unidos. El extracto de su madera se utiliza farmacéuticamente y se sabe que posee propiedades estimulantes y diaforéticas. La resina conocida como “gaiac” o “guaiaci” se obtiene por medio de heridas hechas a la corteza, la cual emana y se transforma en exudaciones; esta resina también se puede extraer del aserrín hirviéndolo en agua. La albura es de color amarillento y el duramen varía en color desde gris-aceitunado a verdoso o casi negro. Además de emplearse en las maquinarias de los vapores, se utiliza para hacer poleas, mangos para herramientas, bloques para relojes, piezas de ajedrez, cajas para guardar instrumentos de precisión y otros artículos torneados. En la zona de Puerto Soley de La Cruz, Costa Rica, los vecinos usan su madera para balsas y, además, el árbol pequeño para tajonas (OFI/CATIE, 2003).

2.1.4 Distribución

2.1.4.1 Ecología

El *G. sanctum* es una especie típica del bosque seco donde crece asociada con especies como ron ron (*Astronium graveolens*), cortez amarillo (*Tabebuia ochracea*) y tempisque (*Sideroxylon capiri*) entre otras. En Nicaragua es un árbol típico de las zonas muy secas y calientes, asociado a *Caesalpinia coriaria* y *Haematoxylon brassiletto*. Crece en elevaciones bajas desde los 5 snm de elevación muy cerca de la costa hasta los 700 snm, con climas secos a semiáridos, y precipitación inferior a los 1500 mm anuales (OFI/CATIE, 2003).

2.1.4.2 Natural

En la Figura 1 se observa la distribución potencial de *G. sanctum*, nativa desde el Sur de Florida, este de México, Indias occidentales, Centro América hasta el norte de Sur América, además en Las Antillas (Puerto Rico, República Dominicana y Cuba). En Guatemala alcanza los 650 msnm en El Progreso. En Costa Rica se encuentra sólo en algunas áreas de la provincia de Guanacaste (Nosara, Puerto Soley, Murciélagos, Parques Nacionales Santa Rosa y Palo Verde), aunque es probable que haya existido en todas las áreas más secas de esta provincia (OFI/CATIE, 2003).

2.1.4.3 Plantada

En pocas ocasiones ha sido casi a nivel experimental o debido a esfuerzos entusiastas aislados. Un ejemplo ha ocurrido en Colorado de Abangares, Guanacaste, Costa Rica (OFI/CATIE, 2003).

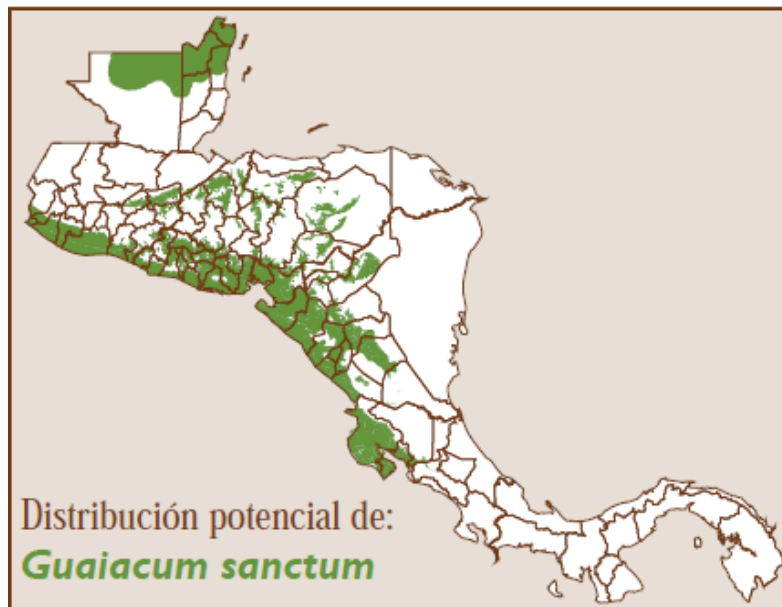


Figura 1. Distribución potencial de *G. sanctum* en Centroamérica.
Fuente: (OFI/CATIE, 2003).

2.1.5 Silvicultura

2.1.5.1 Semilla

Se recolecta en Nicaragua, entre agosto y septiembre. Ello corresponde a la recomendación de que en lugares donde hay dos cosechas anuales, es mejor recoger en la segunda (junio a agosto). Se recolectan del árbol, en el momento en que los primeros frutos se abren. Pueden ser almacenadas hasta por nueve meses, y mantener una viabilidad de hasta 75%. Cada kg contiene unas 4000-5000 semillas aproximadamente (OFI/CATIE, 2003).

2.1.5.2 Propagación

Su regeneración natural no es muy buena pues aunque en algunas áreas el suelo se cubre con miles de brinzales son muy pocos los que logran sobrevivir. Es extraño que al reproducirla por semilla sea con dificultad, lográndose a veces germinaciones de tan solo 30%. Las recomendaciones incluyen la utilización de semilla fresca y un sustrato liviano (tierra, aserrín o mezcla en vez de arena).

El tratamiento pregerminativo más eficaz es la escarificación manual con tijeras podadoras. En cualquier caso, la germinación no suele exceder del 50%. También se puede sumergir la semilla en agua, a temperatura ambiente, por ocho horas antes de sembrar. La siembra se realiza mejor en camas de germinación que en bolsas, pues la germinación no es homogénea. Necesitan de 8 a 12 días para germinar y esta dura hasta los 20 días (OFI/CATIE, 2003). Después del repique a bolsas, parece que su desarrollo es más rápido si se mantienen bajo sombra. Requieren un año en vivero debido a su lento crecimiento. En CATIE se ha logrado reproducir por estacas enraizadas (OFI/CATIE, 2003).

2.1.5.3 Plantación

Se ha plantado en la zona seca de Costa Rica, en Choluteca y Comayagua en Honduras, en sitios de hasta seis meses secos al año (OFI/CATIE, 2003).

2.1.5.4 Manejo

La especie ramifica mucho a plena exposición solar y forma varios ejes principales. Por tanto se recomienda, plantarla bajo cierta sombra lateral para lograr un desarrollo óptimo del fuste, por ejemplo, mezclada con otras dos o tres especies de crecimiento rápido y medio, que le proporcionen la sombra necesaria para su desarrollo adecuado (OFI/CATIE, 2003).

2.1.5.5 Turno y crecimiento

Los crecimientos de esta especie son muy lentos. En Puerto Soley y en el Parque Nacional Santa Rosa, Costa Rica, se han observado algunos arbolitos de hasta 3 m de altura, pero como su crecimiento es tan lento es probable que estos tengan más de 20 o 25 años de edad. En Yoro, Honduras, alcanzó a los dos años un crecimiento promedio total de 0.5 m en altura bajo espaciamientos de 3x3 m. En la Estación Experimental Santa Rosa en Choluteca, Honduras, a 100 msnm, se realizaron ensayos al plantar a 2x2 m. La supervivencia a los 13 meses fue del 56% y el crecimiento promedio de 0.3 m en altura.

Las variables de clima son de 2500 mm de precipitación, con 6 meses de estación seca y temperatura promedio anual de 27°C (OFI/CATIE, 2003). El terreno es plano, con suelo franco arenoso, pH 5.2-5.4, y pobre en nutrientes y materia orgánica. Se ha ensayado en la zona de bosque seco en la Estación Experimental “La Soledad”, en Comayagua, Honduras, con espaciamiento de 2x2 m. Los resultados de crecimiento a los 6 años fueron de tan solo 0.3 m de altura promedio. El sitio se encuentra a 640 msnm, con un suelo bastante pedregoso, aluvial y de textura arcillo arenosa, con pH medio de 7.2; recibe 883 mm anuales de lluvia, con 5-6 meses de estación seca y temperatura de 24.7°C (OFI/CATIE, 2003).

2.2 La semilla

La semilla es el sitio de parcial desarrollo del nuevo esporofito (embrión) y el lazo de unión entre generaciones sucesivas. Además, es la estructura que permite supervivencia y dispersión en diferentes condiciones ambientales, así como subsiguiente germinación exitosa. Hay una inmensa diversidad en la estructura externa e interna de las semillas, que se relaciona, en gran parte, con diferentes estrategias de dispersión y germinación. Estas variaciones incluyen el tamaño y posición del endospermo y el embrión, estructura, textura, y color de la cubierta seminal y forma y dimensiones de la semilla (Flores, 1999).

La semilla típica consta de cubierta seminal, perispermo, endospermo y embrión. El grado en que esos componentes continúan su desarrollo, disminuyen, o, incluso desaparecen, conduce a algunas de las diferencias estructurales fundamentales entre los diversos tipos de semillas (Flores, 1999).

La semilla representa un avance significativo en la evolución de las plantas superiores; la fertilización tiene lugar dentro de los tejidos protectores de la planta madre y durante su desarrollo, el embrión recibe nutrientes de ésta. En forma adicional, el embrión es protegido por la cubierta seminal (Flores, 1999).

Estos factores determinan el éxito y dominancia de las plantas con semilla en el ambiente terrestre (Flores, 1999).

La semilla se forma a partir del rudimento seminal, localizado en el ovario de las flores, tras producirse la fecundación por los granos de polen. El grano de polen es transportado por el viento o por algún insecto al estigma del pistilo. Una vez ahí emite una prolongación denominada tubo polínico, que crece hacia el rudimento seminal del ovario. En el frente de crecimiento van tres núcleos, uno denominado vegetativo seguido por dos núcleos denominados generativos (Molist, Pombal & Megías, 2011).

Se cree que el núcleo vegetativo es el responsable de la formación y alargamiento del tubo polínico, que no es más que una prolongación de la pared interna (intina) del grano de polen que crece a través de algún poro de la pared externa (exina).

El tubo polínico crecerá hasta llegar al saco embrionario del rudimento seminal, en el ovario del pistilo, donde se produce la fecundación. Hay que tener en cuenta que es un largo recorrido a lo largo del estilo.

Si alcanza el rudimento seminal por la chalaza la fecundación se denomina chalazogámica y si entra por el micropilo se denomina porogámica (Molist et al., 2011).

En las plantas angiospermas cada núcleo generativo, ambos haploides, se une a células diferentes: uno con la ovocélula y otro con los núcleos centrales, también llamados polares, del gametofito. Por tanto, se da una doble fecundación (Molist et al., 2011).

Se pueden distinguir diferentes partes en una semilla:

- **Embrión.** Tiene su origen en la fusión de un núcleo generativo del grano de polen con la ovocélula que se encuentra en el saco embrionario. La célula diploide resultante de la fecundación comienza con una primera mitosis que dará dos células. La célula más interna será la responsable de formar el embrión, la más externa y por diversas divisiones mitóticas siempre transversales forma una estructura denominada suspensor que tiene como misión unir el embrión a los otros tejidos del rudimento embrionario. En el caso de las semillas dicotiledóneas la célula que forma inicialmente el embrión se divide en dos, por medio de un tabique longitudinal que separa los futuros cotiledones (Molist et al., 2011).
- **Endospermo secundario.** Procede de la fusión de un núcleo generativo con los dos núcleos centrales del saco embrionario y que forma un tejido triploide. Esto ocurre en las angiospermas. Para el caso de las gimnospermas el tejido nutritivo es haploide y se denomina endospermo primario. El endospermo es un tejido de reserva que proporciona nutrientes al embrión y durante las primeras fases del desarrollo de la planta. En algunas especies, hay un tejido de reserva adicional formado por células de la nucela, parte del rudimento seminal, que forman el denominado perispermo. Por tanto, se tiene tejido nutritivo formado por perispermo y endospermo. En cualquier caso las células nutricias almacenan granos de almidón o proteínas que pueden formar gránulos amorfos llamados glútenes o complejos proteicos cristalizados llamados granos de aleurona (Molist et al., 2011).
- **Cubiertas protectoras.** Estas envolturas de la semilla se originan principalmente a partir de los tegumentos interno y externo del rudimento seminal que se convertirán en el tegmen y la testa de la semilla, respectivamente. Conjuntamente, se denominan epispermo o cubierta seminal. Histológicamente, hay una gran variedad en la organización de la cubierta de la

semilla según las diferentes especies de plantas ya que estas envueltas protectoras pueden proceder de las células de la nucela o incluso del saco embrionario. Son cubiertas protectoras que adquieren una gran consistencia la mayoría de las veces; otras veces, llegan a ser carnosas. En la superficie de las semillas siempre hay una cicatriz denominada el hilio que corresponde al punto de unión del rudimento seminal con el funículo (Molist et al., 2011).

2.2.1 La semilla de las angiospermas

En el desarrollo de la semilla puede identificarse tres fases, desde un punto de vista funcional:

- Divisiones celulares que forman los tejidos vegetativos en la cubierta seminal, el endospermo y el embrión. Esta etapa se caracteriza por un aumento rápido en peso fresco.
- Acumulación de sustancias de reserva, que tiene como objetivo garantizar el éxito de la descendencia como unidad independiente. La semilla registra un aumento en peso seco.
- Drástica reducción de la actividad metabólica, acompañada de la desecación de la semilla, llamada secado de maduración.

Durante la dispersión y antes de la germinación, el metabolismo debe permanecer inactivo; la inactividad es desencadenada por el bajo contenido de agua, la impermeabilidad de la cubierta seminal y la posible presencia de inhibidores. La influencia que ejercen esos factores varía de una especie a otra, pero muchas semillas no germinan si son removidas de la planta antes de esta etapa; sin embargo, la germinación precoz puede ser inducida mediante un periodo

de desecación-rehidratación. El secado de maduración detiene el programa de desarrollo de germinación-plántula. Este programa va acompañado de una dramática reducción en la síntesis de proteínas de almacenamiento y un giro hacia la síntesis de proteínas requeridas por el programa de germinación-plántula (Flores, 1999).

2.2.2 Embriogénesis

El desarrollo del embrión incluye dos procesos fundamentales: el establecimiento de una organización espacial precisa de las células derivadas del cigoto (patrón de formación) y la generación de diversidad celular dentro del embrión en desarrollo (citodiferenciación). Ambos procesos están coordinados para desarrollar una estructura morfológica reconocible, regulada por el patrón de embriogénesis de la especie (Flores, 1999).

2.3 Latencia y germinación de las semillas

El estado de dormición, latencia o letargo es definido como la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la germinación.

En particular, en el sector forestal se utiliza la palabra latencia, la cual proviene del latín "*latensis*" y significa oculto, escondido o aparentemente inactivo para referirse a esta incapacidad de la semilla para germinar, la cual puede constituir un problema, por ejemplo, para los programas de producción de plántulas en vivero (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988).

La latencia se establece durante la formación de la semilla, y posee una importante función que consiste en restringir la germinación en la planta madre antes de su dispersión en el campo. Además, se considera que la latencia es una

adaptación que contribuye a la supervivencia del individuo, ya que restringe la germinación cuando los factores ambientales son desfavorables para el desarrollo de la plántula. Es importante destacar que existe un amplio rango de intensidades de latencia, que va desde la latencia absoluta, en la cual la germinación no se produce, pasa por intensidades intermedias, donde las semillas pueden germinar en un rango de condiciones ambientales estrecho (por ejemplo cuando se incuban a cierta temperatura), hasta el extremo donde no hay latencia y las semillas germinan en un amplio rango de condiciones ambientales. Es necesario tener en cuenta que la latencia es un proceso dinámico (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988).

La intensidad de la latencia se encuentra influenciada por varios factores ambientales como la temperatura, la humedad y el ambiente gaseoso; y a medida que el grado de latencia disminuye se amplía el rango de condiciones ambientales que permiten la germinación (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988).

Por definición, la germinación involucra todos aquellos procesos que comienzan con la absorción de agua por la semilla quiescente, y terminan con la elongación del eje embrionario. La señal visible de la finalización de la germinación es, en general, la emergencia de la radícula embrionaria a través de las cubiertas seminales, aunque en el ámbito de la producción es aceptado que la señal de germinación suele tomarse como la visualización de la plántula viable que emerge del suelo. El nivel de latencia varía con la procedencia de las semillas, el año de cosecha e incluso dentro de un mismo lote de semillas, de manera que, en condiciones naturales, la emergencia de las plántulas ocurre en “pulsos” en un rango del espacio y el tiempo, lo que favorece el desarrollo de los nuevos individuos en ambientes ligeramente distintos, contribuye así a las posibilidades de regeneración y supervivencia de la especie (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988).

A continuación se detallan los distintos tipos de latencia (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988):

2.3.1 Latencia por la cubierta de las semillas o exógena

2.3.1.1 Latencia física

Característica de un gran número de especies de plantas, en las cuales la cubierta seminal o secciones endurecidas de otras cubiertas de la semilla son impermeables. El embrión está encerrado dentro de una cubierta impermeable que puede preservar las semillas con bajo contenido de humedad durante varios años, aún con temperaturas elevadas (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.1.2 Latencia mecánica

En ésta categoría, las cubiertas de las semillas son demasiado duras para permitir que el embrión se expanda durante la germinación. Probablemente éste factor no es la única causa de la latencia, ya en la mayoría de los casos se combina con otros tipos para retardar la germinación (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.1.3 Latencia química

Corresponde a la producción y acumulación de sustancias químicas que inhiben la germinación, ya sea en el fruto o en la cubierta de las semillas (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.2 Latencia morfológica o endógena

Se presenta en aquellas familias de plantas, cuyas semillas, de manera característica en el embrión, no se han desarrollado por completo en la época de maduración. Como regla general, el crecimiento del embrión es favorecido por temperaturas cálidas, pero la respuesta puede ser complicada por la presencia

de otros mecanismos de letargo (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

Dentro de esa categoría hay dos grupos:

2.3.2.1 Embriones rudimentarios

Se presenta en semillas cuyo embrión es apenas algo más que un proembrión embebido en un endosperma, al momento de la maduración del fruto. También en el endosperma existen inhibidores químicos de la germinación, que se vuelven en particular activos con altas temperaturas (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.2.2 Embriones no desarrollados

Algunas semillas, en la madurez del fruto tienen embriones poco desarrollados, con forma de torpedos, que pueden alcanzar el tamaño de la mitad de la cavidad de la semilla. El crecimiento posterior del embrión se efectúa antes de la germinación (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.3 Latencia Interna

En muchas especies la latencia es controlada internamente en el interior de los tejidos. En el control interno de la germinación están implicados dos fenómenos separados. El primero, es el control ejercido por la semipermeabilidad de las cubiertas de las semillas; el segundo, es un letargo presente en el embrión que se supera con exposición a enfriamiento en húmedo (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.3.1 Fisiológica

Corresponde a aquella en que la germinación es impedida por un mecanismo fisiológico inhibitor (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.3.2 Interno intermedio

Esta latencia es inducida principalmente por las cubiertas de las semillas y los tejidos de almacenamiento circundante. Este es característico de las coníferas (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.3.3 Del embrión

Se caracteriza principalmente porque para llegar a la germinación se requiere un período de enfriamiento y por la incapacidad del embrión separado de germinar con normalidad (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

Latencia combinada morfofisiológica consiste en la combinación de subdesarrollo del embrión con mecanismos fisiológicos inhibidores (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

2.3.4 Latencia combinada exógena – endógena

Se denomina así a las diversas combinaciones de latencia de la cubierta o el pericarpio con latencia fisiológica endógena (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

Es importante aclarar que no todas las semillas poseen impedimento para que su germinación se produzca inmediatamente después de la dispersión. Por ejemplo, en muchas especies nativas de bosques tropicales húmedos, el nivel de latencia puede ser muy reducido o hasta nulo y no constituye un problema para la producción (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

Por otra parte, la latencia puede ser un problema para el viverista en especies adaptadas a ambientes donde los individuos deben completar su ciclo de vida en ambientes extremos como zonas desérticas, o regiones demasiado frías, o para aquellas especies que han tenido que adaptarse a la alternancia de estaciones secas y húmedas, frías y cálidas (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

En la naturaleza, como se mencionó anteriormente, diversos factores externos actúan para poner fin a la latencia. Entre esos factores, puede mencionarse la alternancia de calor y frío, la alternancia de condiciones húmedas y secas, el fuego, la ingesta por parte de animales y la acción de organismos del suelo. También está demostrado que en el mantenimiento o la interrupción de la latencia actúan factores internos como las hormonas del crecimiento (por ejemplo, las giberelinas). En climas templados, la combinación de temperaturas bajas y alta humedad durante el invierno, pueden poner en marcha cambios bioquímicos que interrumpen la latencia y hacen que se inicie el metabolismo, comience el crecimiento del embrión y, consiguientemente, se produzca la germinación en primavera (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

Desde el punto de vista del viverista, la latencia impone algunos inconvenientes, como el retraso y la irregularidad en la germinación. Por consiguiente, se ha dedicado mucha investigación relacionada con métodos artificiales para eliminar la latencia (tratamientos pre-germinativos) y asegurar que las semillas germinen con rapidez y uniformidad. Pero, por otra parte, la latencia presenta algunas ventajas que pueden aprovecharse durante el período que transcurre entre la recolección de las semillas y su utilización. Por ejemplo, favorece el almacenamiento de semillas de muchas especies por largos períodos. Algunas especies, en general las que producen semillas grandes y pesadas como los robles (*Quercus spp.*), no presentan latencia natural y germinan durante la primera estación favorable. Si se almacenan, se pierde parte de su viabilidad.

Tanto en las semillas sin latencia, como en las semillas con latencia, la germinación ocurre en un rango de condiciones favorables, las cuales varían de acuerdo a los requerimientos de cada especie. Generalmente, esas condiciones incluyen: (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Varela & Arana, 2011).

- 1) humedad suficiente,
- 2) temperatura favorable,
- 3) intercambio de gases suficiente
- 4) luz adecuada.

2.4 Tratamientos pre-germinativos

Los tratamientos pregerminativos, son aquellos procedimientos necesarios para romper la latencia de las semillas, esto es, el estado en que se encuentran algunas que están vivas y no son capaces de germinar sino hasta que las condiciones del medio sean las adecuadas para ello (Arnold, 1996; Donoso, 1993). Los métodos pregerminativos más comunes son los siguientes:

2.4.1 Estratificación

Este tratamiento se utiliza para romper la latencia fisiológica, y consiste en colocar las semillas entre estratos que conservan la humedad, comúnmente arena o bien turba o vermiculita, en frío o calor (Donoso, 1993; Hartmann & Kester, 1988; Patiño, de la Garza, Villagomez, Talavera, & Camacho, 1983). La estratificación fría es aquella donde se mantienen las semillas a temperaturas bajas (4 a 10 °C) que se asemejan a las condiciones de invierno, por un período que oscila entre 20 y 60 días o hasta 120 días (García, 1991; Ordoñez, 1987). En el caso de la estratificación cálida, esta se basa en la necesidad de las semillas de estar sometidas a altas temperaturas para germinar. En este caso, la temperatura empleada oscila entre los 22 y 30 °C, con un período de estratificación entre los 30 y 60 días (Figuroa & Jaksic, 2004; Hartmann & Kester, 1988; Patiño et al., 1983).

2.4.2 Escarificación

Un gran número de especies forestales no germinan debido a que la testa o cubierta seminal, es dura e impide la entrada de agua (latencia física), y la semilla no germina a menos que sea escarificada. Así, la escarificación es cualquier proceso que rompa, raye, altere mecánicamente o ablande las cubiertas de las semillas para hacerlas permeables al agua y a los gases (Varela & Arana, 2011).

Esta puede subdividirse en:

2.4.2.1 Mecánica

Consiste en raspar la cubierta de las semillas con lijas, limas o quebrarlas con un martillo o pinzas. Si es a gran escala, se utilizan maquinas especiales como tambores giratorios recubiertos en su interior con papel lija, o combinados con arena gruesa o grava. En el caso de grandes cantidades de semillas, se puede utilizar una hormigonera con grava o arena en su interior o bien un tambor forrado en su interior con material abrasivo o dotado de discos abrasivos giratorios (García, 1991; Goor & Barney, 1976; Varela & Arana, 2011).

2.4.2.2 Química

La escarificación química, consiste en remojar las semillas por períodos breves de 15 minutos a 2 horas, en compuestos químicos. Las semillas secas se colocan en recipientes no metálicos y se cubren con ácido sulfúrico concentrado en proporción de una parte de semilla por dos de ácido. Durante el período de tratamiento, las semillas deben agitarse regularmente con el fin de obtener resultados uniformes. El tiempo de tratamiento varía según la especie. Al final del período de tratamiento se escurre el ácido y las semillas se lavan con abundante agua para quitar el restante (Varela & Arana, 2011).

2.4.2.3 Física

- **Inmersión en agua:** Este tratamiento es usado para facilitar la germinación de semillas con cubierta impermeable; consiste en la inmersión de semillas durante

periodos y tiempos variables, en agua próxima a hervir, y dejar que esta se enfríe (Flores, 1994).

- **Con agua caliente:** Se colocan las semillas en un recipiente, en proporción de 4 a 5 veces su volumen de agua caliente, a temperatura entre 77 y 100°C. De inmediato, se retira de la fuente de calor y las semillas se remojan durante 12 a 24 horas en el agua que se ha enfriado gradualmente. Las semillas se deben sembrar inmediatamente después del tratamiento (Flores, 1994).
- **Remojo en agua fría horas antes de la siembra:** Este tratamiento se usa en semillas que han estado almacenadas por algún tiempo (Flores, 1994).

2.4.3 Lixiviación

Las semillas son remojadas en agua corriente con la finalidad de remover los inhibidores químicos presentes en la cubierta. Este tratamiento también es empleado con el objetivo de ablandar la testa. El tiempo de remojo puede ser de 12, 24, 48 y hasta 72 h y, en algunos casos, se cambia el agua con cierta frecuencia (FAO/DANIDA, 1991; Hartmann & Kester, 1988; Patiño et al., 1983).

Habitualmente, el remojo se efectúa en agua a temperatura ambiente; también se ha obtenido resultados positivos con agua caliente. En este último caso, las semillas se colocan en agua hervida, se retira inmediatamente el recipiente de la fuente de calor y se deja enfriar hasta que alcance la temperatura ambiente -el periodo del tiempo de enfriamiento estimado es de 12 horas aproximadamente- (FAO/DANIDA, 1991).

2.4.4 Combinación de tratamientos

Se utiliza en semillas de especies que tienen más de un tipo de letargo (Varela & Arana, 2011).

2.4.5 Hormonas y otros estimulantes químicos

Existen compuestos que estimulan la germinación; entre los más usados están: nitrato de potasio, tiourea, etileno, ácido giberélico (GA3), citoquininas, entre otros. Este tipo de sustancias se emplean a diferentes concentraciones y tiempos de exposición, de acuerdo a la especie (Varela & Arana, 2011).

2.4.6 Flotación

Si bien no constituye un tratamiento pre-germinativo per se, la separación de las semillas vanas de las semillas llenas es aconsejable como primer paso; tal separación resulta ser importante. Para ello, la semilla se coloca en bateas o baldes con agua durante 24 horas, procurar no excederse en el número de semillas a colocar ya que, de lo contrario, las que flotan podrían impedir que caigan las que deberían hundirse. La semilla vana o vacía corresponde a la porción que queda flotando en la superficie (Varela & Arana, 2011).

2.5 Sustrato

Un sustrato es todo material sólido distinto del suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular, y desempeña un papel de soporte para la planta. El sustrato puede intervenir o no en el complejo proceso de la nutrición mineral de la planta (Picón, 2013).

2.5.1 Propiedades de los sustratos

A continuación se mencionan las propiedades a tener en cuenta en los materiales utilizados para fabricar sustratos (García, 2006).

- Granulometría: tamaño medio y distribución del tamaño de partículas. A partículas más grandes, mayor será el contenido de aire y menor el de agua para determinada succión. Relación óptima aire/agua: 3/1.
- Porosidad: mayor a 85 %.
- Capacidad de agua disponible: 24 - 40 %.
- Densidad aparente: menor a 0.4 gr/cm³.
- Relación C/N y grado de estabilidad de la materia orgánica.
- Capacidad de intercambio de cationes: 6-15 meq/100gr, 24-60 meq/litro.
- pH con efecto importante en la disponibilidad de nutrientes.
- Cantidad y disponibilidad de nutrientes.
- Concentración de sales en la solución acuosa. La salinidad dependerá del tipo de sustrato y del agua de riego. A menor volumen del recipiente, mayor riesgo de acumulación de sales a niveles de toxicidad. Conductividad eléctrica menor a 0.65 mmhos/cm.
- Libre de enfermedades, plagas y malezas.
- Ser fácilmente disponible.
- Bajo costo. (García, 2006).

Gallo & Viana, (2005); mencionan que, para lograr el comportamiento adecuado de determinado sustrato, con propiedades físicas y químicas óptimas, es necesario que tenga un correcto reparto y composición de las fases: sólida, líquida y gaseosa. Es necesario que el sustrato combine propiedades físicas y químicas favorables y las mantenga inalteradas.

2.5.2 Propiedades físicas de los sustratos

Según (Nuez, 2001); las propiedades físicas de los medios de cultivo son de primera importancia. Una vez que el medio esté en el contenedor y la planta crezca en él, no es posible modificar las características físicas básicas de dicho medio. Generalmente, se suele dar más importancia a las propiedades físicas de los sustratos, ya que una vez seleccionada una mezcla como medio de cultivo, apenas puede modificarse su estructura física a diferencia de su composición química, que puede ser alterada durante el desarrollo de la planta, mediante el riego y el abono.

Las propiedades físicas más importantes que permiten evaluar la capacidad de un material como sustrato o comparar diferentes materiales, son:

- Distribución del tamaño de partículas o granulometría
- Porosidad y su reparto entre las fases líquida y gaseosa; capacidad para retención del agua y porosidad del aire.

Las características físicas de un sustrato consideradas generalmente en un análisis de rutina son: densidad aparente, porosidad y curva de retención de agua. Según (García, 2006); se sugiere los valores “ideales” para un sustrato como porcentaje del volumen total: el total de espacio poroso 85 %; porosidad del aire: 10-30 %; agua fácilmente disponible: 20-30 %; y capacidad buffer del agua: 4-10 %.

2.5.2.1 Granulometría

El tamaño de los gránulos o fibras condiciona el comportamiento del sustrato; además de su densidad aparente varía su comportamiento hídrico a causa de su porosidad externa, que aumenta el tamaño de los poros conforme mayor es la granulometría. De la naturaleza y tamaño de partículas del sustrato dependerán principalmente sus propiedades físicas, como el reparto de aire y agua y la disponibilidad para las raíces (Gallo & Viana, 2005).

- **Influencia de la granulometría en las propiedades del sustrato**

Según Gallo & Viana (2005), en sustratos que presentan amplia distribución del tamaño de partículas, las partículas pequeñas se alojan en los huecos entre las partículas grandes, reducen su tamaño y, por tanto, la porosidad total y la ocupada por aire. Al mismo tiempo, aumenta la cantidad de agua retenida, al ser mayor el número de microporos. En consecuencia, las propiedades físicas de los sustratos dependen en gran medida de la distribución de los tamaños de partícula, por lo al modificar o seleccionar adecuadamente el tamaño de partícula, se alcanzan propiedades físicas óptimas.

2.5.2.2 Porosidad

Es el volumen total del medio no ocupado por las partículas sólidas, y por tanto, por aire o agua en cierta proporción. Su valor óptimo no debería ser inferior al 80-85 %, aunque sustratos de menor porosidad pueden ser usados ventajosamente en determinadas condiciones.

El grosor de los poros condiciona la aireación y retención de agua del sustrato. Poros gruesos suponen menor relación superficie/volumen, por lo que el equilibrio tensión superficial/fuerzas gravitacionales se restablece cuando el poro queda solo parcialmente lleno de agua, y forma una película de espesor determinado (Picón, 2013).

Según Nuez (2001), el total de poros existentes en un sustrato se divide entre: 1) Poros capilares de pequeño tamaño (< 30 micrómetros), que retienen el agua y 2) Poros no capilares o macroporos, de mayor tamaño (> 30 μm), que se vacían después que el sustrato ha drenado. Sin embargo, los poros no drenan completamente y una fina película de agua es retenida alrededor de las partículas del sustrato.

2.5.2.3 Porosidad del aire

La porosidad del aire (Pa) es la propiedad física más importante de los sustratos. Los valores de Pa necesarios dependen mucho de la especie cultivada, ya que la sensibilidad de las plantas a la aireación es muy variable. Además dependen del método de medida utilizado y de las condiciones ambientales y de manejo (Gallo & Viana, 2005).

El contenido de aire de un sustrato es definido como la proporción del volumen que contiene aire después que ha sido saturado con agua y puesto a drenar.

La porosidad del aire consiste en el porcentaje de volumen de sustrato que lo contiene. El valor que se aconseja como óptimo oscila entre el 10 y el 30 % (Gallo & Viana, 2005).

2.5.2.4 Agua fácilmente disponible

Según Nuez (2001), el agua fácilmente disponible es la diferencia entre el volumen de agua retenido por el sustrato, después de haber sido saturado con agua y dejado drenar a 10 cm de tensión matricial y el volumen de agua presente en dicho sustrato a una succión de 50 cm de capacidad de absorción. El valor óptimo para el agua fácilmente disponible oscila entre el 20 y el 30% del volumen.

2.5.2.5 Densidad

La densidad de un sustrato se puede referir bien a la del material sólido que lo compone (densidad real) o bien a la densidad calculada la que se considera el espacio total ocupado por los componentes sólidos más el espacio poroso, y se denomina porosidad aparente. La densidad aparente indica indirectamente la porosidad del sustrato y su facilidad de transporte y manejo. Los valores de densidad aparente se prefieren bajos (0,7-0,1), y que asimismo garanticen una cierta consistencia de la estructura (Picón, 2013).

2.5.2.6 Estructura

Puede ser granular como la de la mayoría de los sustratos minerales o bien fibrilares. La primera no tiene forma estable, acoplándose fácilmente a la forma del contenedor, mientras que la segunda dependerá de las características de las fibras. Si se fijan con algún tipo de material de cementación, conservan formas rígidas y no se adaptan al recipiente aunque tienen cierta facilidad de cambio de volumen y consistencia cuando pasan de secas a mojadas (Picón, 2013).

2.5.3 Propiedades químicas del sustrato

La reactividad química de un sustrato se define como la transferencia de materia entre el sustrato y la solución nutritiva que alimenta las plantas a través de las raíces. Esta transferencia entre sustrato y solución de nutrientes es recíproca y se puede deber de distinta naturaleza.

(Gallo & Viana, 2005); mencionan que las propiedades químicas más importantes de los materiales que componen un medio de crecimiento son:

2.5.3.1 Capacidad de intercambio catiónico

Según Nuez (2001), se define como la suma de los cationes cambiables que pueden ser adsorbidos por unidad de peso (o de volumen) del sustrato. Dichos cationes quedan así retenidos frente al efecto lixivante del agua y están usualmente disponibles para la planta.

La capacidad de los sustratos orgánicos para adsorber cationes metálicos depende del pH. Cuando más alto es el pH, más elevada es la capacidad de intercambio catiónico. Para una turba rubia, la capacidad de intercambio catiónico se incrementa desde 50 hasta 100 meq/100 g cuando el pH aumenta de 3.5 hasta 5.5.

2.5.3.2 Salinidad

La salinidad de una solución acuosa se mide por su contenido en sales disueltas (mg/l o ppm) o, más comúnmente, por su capacidad para conducir la corriente eléctrica o conductividad (en miliSiemens por cm, mS/cm, o microSiemens por cm, μ S/cm) (Gallo & Viana, 2005).

El efecto más común de la salinidad es un retraso general en el crecimiento de la planta; aunque no todas las partes de la planta son afectadas igualmente, el crecimiento aéreo a menudo se suspende más que el crecimiento de la raíz.

2.5.3.3 pH

Según Nuez (2001), la planta del tomate puede sobrevivir en un amplio intervalo de pH del sustrato sin sufrir desórdenes fisiológicos aparentes, siempre y cuando todos los nutrientes se suministren en forma asimilable. No obstante, el crecimiento y el desarrollo de las plantas se ven reducidos de modo marcado en condiciones de acidez o alcalinidad extremas.

Según Gallo & Viana (2005), en sustratos orgánicos el rango óptimo de pH para el crecimiento de plantas está entre 5,0 y 6,5, lo que no excluye que puedan crecer satisfactoriamente fuera de ese intervalo.

2.5.3.4 Relación Carbono/Nitrógeno

Se usa tradicionalmente como un índice del origen de la materia orgánica, su madurez y su estabilidad. Los daños que aparecen sobre las plantas cultivadas en materiales orgánicos inmaduros son debidos en parte, por inmovilización del nitrógeno a baja disponibilidad de oxígeno en la rizosfera. Esta situación está provocada por la actividad de los microorganismos, que descomponen los materiales orgánicos crudos y utilizan el N para la síntesis de sus proteínas celulares (Picón, 2013).

2.5.4 Propiedades Biológicas

Cualquier actividad biológica en los sustratos es claramente perjudicial. Los microorganismos compiten con la raíz por oxígeno y nutrientes. También pueden degradar el sustrato y empeorar sus características físicas de partida.

Generalmente disminuye su capacidad de aireación, pudiéndose producir asfixia radicular. La actividad biológica está restringida a los sustratos orgánicos y se eliminarán aquellos cuyo proceso degradativo es demasiado rápido (Picón, 2013).

Según Picón (2013), las propiedades biológicas de un sustrato se pueden concretar en:

2.5.4.1 Velocidad de descomposición

La velocidad de descomposición es función de la población microbiana y de las condiciones ambientales en las que se encuentre el sustrato. Esta puede provocar deficiencias de oxígeno y de nitrógeno, liberación de sustancias fitotóxicas y contracción del sustrato. La disponibilidad de compuestos biodegradables (carbohidratos, ácidos grasos y proteínas) determina la velocidad de descomposición (Picón, 2013).

2.5.4.2 Efectos de los productos de descomposición

Muchos de los efectos biológicos de los sustratos orgánicos se atribuyen a los ácidos húmicos y fúlvicos, que son los productos finales de la degradación biológica de la lignina y la hemicelulosa; gran variedad de funciones vegetales son afectadas por su acción (Picón, 2013).

2.5.4.3 Actividad reguladora de crecimiento

Es conocida la actividad auxínica en los extractos de muchos materiales orgánicos utilizados en los medios de cultivo (Picón, 2013).

2.5.5 Características del sustrato ideal

El mejor medio de cultivo depende de numerosos factores como el tipo de material vegetal con el que se trabaja como semillas, plantas, estacas y otros, especie vegetal, condiciones climáticas, sistemas y programas de riego y fertilización y aspectos económicos (Picón, 2013).

Picón (2013), indica que, para obtener buenos resultados durante la germinación, el enraizamiento y el crecimiento de las plantas, se requieren las siguientes características del medio de cultivo:

2.5.5.1 Propiedades físicas

- Elevada capacidad de retención de agua fácilmente disponible.
- Suficiente suministro de aire.
- Distribución del tamaño de las partículas que mantenga las condiciones anteriores.
- Baja densidad aparente.
- Elevada porosidad.
- Estructura estable, que impida la contracción.

2.5.5.2 Propiedades químicas

- Suficiente nivel de nutrientes asimilables.
- Baja salinidad.
- Elevada capacidad tampón y capacidad para mantener constante el pH.
- Mínima velocidad de descomposición.

2.5.5.3 Otras propiedades

Libre de semillas de malas hierbas, nematodos y otros patógenos y sustancias fitotóxicas.

- Reproductividad y disponibilidad.

- Bajo coste.
- Fácil de mezclar.
- Fácil de desinfectar y estabilidad frente a la desinfección.
- Resistencia a cambios externos físicos, químicos y ambientales.

2.5.6 Materiales utilizados como sustratos

Existen diferentes criterios de clasificación de los sustratos utilizados en la producción de pilones, los cuales se clasifican según el origen de los materiales, su naturaleza, sus propiedades, su capacidad de degradación.

A continuación se detallan los más utilizados, de acuerdo a sus propiedades.

- Sustratos químicamente inertes. Arena granítica o silíceo, grava, roca volcánica, perlita, arcilla expandida, lana de roca, etc.
- Sustratos químicamente activos. Turbas rubias y negras, corteza de pino, vermiculita, materiales ligno-celulósicos y otros.

Las diferencias entre ellos vienen determinadas por la capacidad de intercambio catiónico o la capacidad de almacenamiento de nutrientes por parte del sustrato. Los sustratos químicamente inertes actúan como soporte de la planta y no intervienen en el proceso de adsorción y fijación de los nutrientes, por lo que han de ser suministrados mediante la solución fertilizante.

Los sustratos químicamente activos sirven de soporte a la planta pero actúan a su vez como depósito de reserva de los nutrientes aportados mediante la fertilización, almacenándolos o cediéndolos según las exigencias del vegetal (Picón, 2013).

2.5.6.1 Según el origen de los materiales

- **Materiales orgánicos**

- De origen natural. Se caracterizan por estar sujetos a descomposición biológica (turbas).
- De síntesis. Son polímeros orgánicos no biodegradables, que se obtienen mediante síntesis química (espuma de poliuretano, poliestireno expandido).
- Subproductos y residuos de diferentes actividades agrícolas, industriales y urbanas. La mayoría de los materiales de este grupo deben experimentar un proceso de compostaje, para su adecuación como sustratos (cascarillas de arroz, pajas de cereales, fibra de coco, orujo de uva, cortezas de árboles, aserrín y virutas de la madera, residuos sólidos urbanos, lodos de depuración de aguas residuales y otros (INFOAGRO, s.f.).

- **Materiales inorgánicos o minerales**

- De origen natural. Se obtienen a partir de rocas o minerales de origen diverso, modificándose muchas veces de modo ligero, mediante tratamientos físicos sencillos. No son biodegradables (arena, grava, tierra volcánica y otros (INFOAGRO, s.f.).
- Transformados o tratados. A partir de rocas o minerales, mediante tratamientos físicos, más o menos complejos, que modifican notablemente las características de los materiales de partida (perlita, lana de roca, vermiculita, arcilla expandida y otros. (INFOAGRO, s.f.).
- Residuos y subproductos industriales. Comprende los materiales procedentes de muy distintas actividades industriales (escorias de horno alto, estériles del carbón y otros) (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7 Descripción de los materiales para la elaboración de los sustratos

2.5.7.1 Tierra volcánica

Son materiales de origen volcánico que se utilizan sin someterlos a ningún tipo de tratamiento, proceso o manipulación.

Están compuestos de sílice, alúmina y óxidos de hierro. También contiene calcio, magnesio, fósforo y algunos oligoelementos. Las granulometrías son muy variables al igual que sus propiedades físicas.

El pH de las tierras volcánicas es ligeramente ácido con tendencias a la neutralidad. La C.I.C. es tan baja que debe considerarse como nulo. Destaca su buena aireación, la inercia química y la estabilidad de su estructura. Tiene una baja capacidad de retención de agua, el material es poco homogéneo y de difícil manejo (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.2 Turbas

Las turbas son materiales de origen vegetal, de propiedades físicas y químicas variables en función de su origen. Las turbas rubias tienen un mayor contenido en materia orgánica y están menos descompuestas, las turbas negras están más mineralizadas y tienen un menor contenido en materia orgánica. Las turbias rubias tiene un buen nivel de retención de agua y de aireación, pero muy variable en cuanto a su composición ya que depende de su origen. La inestabilidad de su estructura y su alta capacidad de intercambio catiónico interfiere en la nutrición vegetal, presentan un pH que oscila entre 3,5 y 8,5. Se emplea en la producción ornamental y de plántulas hortícolas en semilleros (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.3 Fibra de coco

Este producto se obtiene de fibras de coco. Tiene una capacidad de retención de agua de hasta 3 o 4 veces su peso, un pH ligeramente ácido (6,3-6,5) y una densidad aparente de 200 kg/m³.

Su porosidad es bastante buena y debe ser lavada antes de su uso debido al alto contenido de sales que posee (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.4 Cascarilla de arroz

Este ingrediente mejora las características físicas del suelo y de los abonos orgánicos, facilita la aireación, la absorción de humedad y filtrado de nutrientes, también beneficia el incremento de la actividad macro y microbiológica de la tierra. El diámetro medio del 83% de las partículas es de 1,70 hasta 2,90 mm (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.5 Carbón

Mejora las características físicas del suelo, facilita la aireación de la absorción de humedad y calor; por su alto grado de porosidad, beneficia la actividad macro y microbiológica de la tierra y, al mismo tiempo, retiene, filtra y libera gradualmente nutrientes a las plantas, disminuye la pérdida y lavado de éstos en el suelo (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.6 Cascabillo de café

La composición química del cascabillo de café es la siguiente: contenido de humedad: 11,45%, lignina: 41,86%, cenizas: 0,95%, grasas: 5,83%, pentosas: 25,5% y furfural: 14,76%. A 26°C la cascarilla del café tiene densidad de 1,323 gr/cm³, densidad bruta de 0,323 gr/cm³ y calor de combustión es de 4500 cal/oC gr (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.7 Cascarilla de maní

Su geometría cóncava permite la incorporación de importante cantidad de aire en su interior. Lo que hace que su aporte en volumen sea significativo.

El peso específico de las cáscara de maní es aproximadamente de 45-50 gr/L (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.8 Coquillo

Este es un material subproducto de la extracción del aceite de la fruta de palma africana, con alto contenido de grasa (46-49%); 8-9% de proteína cruda y 10-12% de fibra; su composición lo convierte en material con alto potencial nutricional. El contenido mineral muestra bajos valores en su composición (Vargas & Zumbado, 2003).

2.5.7.9 Pulimiento de arroz (Semolina)

Favorece la fermentación de los abonos, incrementada por la presencia de vitaminas en la pulidora de arroz. Aporta nitrógeno, fósforo, calcio, potasio y magnesio (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.10 Melaza de caña

Es la principal fuente energética para la fermentación, favorece y multiplica la actividad microbiológica, es rica en potasio, calcio y magnesio, y contiene gran cantidad de boro (INFOAGRO, s.f.).

2.5.7.11 Abono orgánico tipo “bocashi”

La elaboración del abono tipo Bocashi se basa en procesos de descomposición aeróbica de los residuos orgánicos y temperaturas controladas a través de poblaciones de microorganismos existentes en los propios residuos que, en condiciones favorables, producen material parcialmente estable, de lenta descomposición, aunque presenta en su composición mayor contenido de sales, y fósforo (Gallo & Viana, 2005).

2.5.7.12 Microorganismos de montaña activados

La tecnología de los microorganismos de montaña (MM), es una tecnología relativamente nueva que permite acelerar los procesos de compostaje, entre otras cosas. Se trata de reproducir los microorganismos naturalmente presentes en el mantillo del bosque, de preferencia bosque primario, activarlos e inocularlos al compost, bioles y purines (Paniagua, 2005).

Los microorganismos más comúnmente utilizados durante este proceso son hongos, como las Micorrizas y Trichoderma, así como bacterias de los géneros Azotobacter y Bacillus subtilis (Paniagua, 2005).

3 JUSTIFICACIÓN

El estudio de los recursos naturales del bosque es de importancia, porque permite valorar especies endémicas como el guayacán, que ha sido utilizada principalmente por su madera y el uso medicinal de su resina (Monardes, 1580); la pérdida del bosque seco y la explotación excesiva con fines comerciales constituyen las principales amenazas de extinción para *G. sanctum* en América Central (Autoridad Administrativa CITES de El Salvador, C.A. 1999).

Debido al bajo porcentaje de germinación y su lento crecimiento (OFI/CATIE, 2003), y que no se cuenta con información sobre un método adecuado de propagación, que permita superar el 50% de germinación, es importante llevar a cabo estudios de propagación de la especie. Trabajos como el presente sirven para dar pautas en la propagación que permitan establecer plantaciones con fines maderables y medicinales.

Los resultados de este estudio se considera que pueden ser utilizados en programas de propagación y conservación de la especie, por lo que la información generada es de suma importancia para la academia, Instituto Nacional de Bosques (INAB), Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP) y organizaciones comunitarias. Por otra parte el conocimiento de sus componentes químicos permite retomar nuevamente las investigaciones a nivel medicinal y farmacológico, pero esta vez con un manejo sostenible de sus poblaciones.

4 OBJETIVOS

4.1 General

- Estudiar el proceso germinativo en la propagación de *Guaiacum sanctum* L, bajo condiciones de invernadero en el Centro Experimental Docente de Agronomía (CEDA); describir histológica e histoquímica la semilla de guayacán.

4.2 Específicos

- Determinar la presencia de árboles semilleros de Guayacán para obtención de semilla de calidad.
- Determinar el tratamiento que produzca el mayor porcentaje de germinación en semillas de Guayacán.
- Seleccionar el tratamiento que presente la mejor relación costo-beneficio.
- Determinar las características anatómicas de la semilla de Guayacán.
- Determinar histoquímicamente la presencia de almidón, mucílagos, alcaloides, y lípidos en las semillas de Guayacán.

5 HIPÓTESIS

- Al menos uno de los tratamientos incidirá positivamente en el porcentaje de germinación de las semillas de *Guaiacum sanctum* L.

6 MÉTODOS Y TÉCNICAS EMPLEADAS

6.1 Metodología Experimental

6.1.1 Selección de árboles semilleros

Se realizaron giras de campo al Parque Regional “Niño Dormido” para seleccionar y recolectar semilla proveniente de los árboles semilleros seleccionados.

6.1.2 Semilla utilizada

Se utilizó semilla de Guayacán real (*Guaicun sanctum* L.), la cual se colectó en el Parque Regional “Niño Dormido”, Cabañas, Zacapa.

6.1.3 Sustratos utilizados

Los sustratos que se utilizaron en las unidades experimentales fueron:

- Testigo: Tierra negra 50% + arena 50%
- “Peat moss”
- Abono Orgánico F2®
- Tierra negra + arena + broza

6.1.4 Tratamientos pregerminativos

A todas las semillas de los 16 tratamientos se les aplicó escarificación mecánica, por lo que no se tomó en cuenta como variable.

- Testigo: Semillas sin ningún tratamiento pregerminativo
- Inmersión en solución de ácido giberélico (250ml/L)
- Inmersión en agua a punto de ebullición (85°C), durante 2 minutos
- Inmersión en agua a temperatura ambiente durante 24 horas

6.1.5 Análisis y determinaciones previas

Se trabajó en invernadero para mantener condiciones homogéneas en el experimento. Se utilizaron 10 metros cuadrados del mismo; la dimensión de cada unidad experimental fue de bandeja con 24 semillas, se necesitaron 3 repeticiones por tratamiento; por lo tanto, se necesitaron 48 bandejas de semillas distribuidas en 4 tableros para realizar el experimento.

6.2 Manejo del Experimento

6.2.1 Siembra

Las semillas se sembraron en bandejas las cuales tenían el sustrato correspondiente. En los distintos tratamientos, todas las semillas se sembraron el mismo día.

6.2.2 Riego

El riego se realizó a diario, con el propósito de mantener los sustratos homogéneamente húmedos en todo el período de duración del experimento.

6.2.3 Control de plagas y enfermedades

Para tener control de factores externos el experimento se tuvo “bajo invernadero”; lo cual evitó el ingreso de plagas y enfermedades que ocasionaran sesgo en los resultados.

Sin embargo, aun cuando se tomaron medidas preventivas como la desinfección del suelo con agua hervida, hubo ataque de patógenos del complejo “Damping Off”. Para determinar específicamente el patógeno que había atacado se tomaron muestras de los diferentes tratamientos y fueron enviados al Centro Fitopatológico de la Facultad de Agronomía en donde se determinó que el patógeno invasor pertenecía al género *Phytophthora*. Para contrarrestar el ataque de *Phytophthora* se aplicó Carberdazim a 20cc y luxazim ® a 15cc, por bomba de 16 lts.

6.2.4 Diseño Experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con arreglo bifactorial y tres repeticiones. Se seleccionó este diseño experimental ya que las condiciones del lugar fueron homogéneas para las unidades experimentales.

6.2.5 Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2, 3$ Niveles del factor A.

$j = 1, 2, 3$ Niveles del factor B.

Y_{ijk} = Variable respuesta.

μ = Media general.

A_i = Efecto del i -ésimo tratamiento pregerminativo.

B_j = Efecto del j -ésimo sustrato.

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i -ésimo tratamiento pre germinativo con el j -ésimo sustrato.

ϵ_{ijk} = Error experimental asociado a la ijk -ésima unidad experimental.

6.2.6 Factor de estudio

En el experimento se tomaron como factores los tratamientos pregerminativos y los sustratos.

6.2.7 Niveles del factor

6.2.7.1 Factor A (Tratamientos pregerminativos)

A1= Testigo: Semillas sin ningún tratamiento pregerminativo.

A2= Inmersión en solución de ácido giberélico 250ml/L.

A3= Inmersión en agua a punto de ebullición (85°C) durante 2 minutos.

A4= Inmersión en agua a temperatura ambiente durante 24 horas.

6.2.7.2 Factor B (Sustratos)

B1= Tierra negra 50% + arena 50% (Testigo).

B2= "Peat moss".

B3= Tierra negra 50% + arena 25% + broza 25%.

B4= Tierra negra 60% + cascarilla de arroz 40%.

6.2.8 Repeticiones

Cada tratamiento se repitió 3 veces, con un total de 72 semillas, 24 semillas por bandeja.

6.2.9 Descripción de la Unidad experimental

6.2.9.1 Unidad Experimental

La unidad experimental consistió en una bandeja que contenía 24 semillas.

6.2.9.2 Número de unidades experimentales

El número de unidades experimentales fue determinado por la cantidad de tratamientos que en este caso fueron 16, con cuatro tratamientos pregerminativos por cuatro sustratos, por el número de repeticiones que se dió a cada tratamiento = 3, con el total de 48 unidades experimentales.

6.2.9.3 Numero de semillas a utilizar

Se tuvo una unidad experimental de 24 semillas, con 16 tratamientos diferentes, con 3 repeticiones para cada tratamiento y se obtuvo: $24 \text{ semillas} * 16 \text{ tratamientos} * 3 \text{ Repeticiones} = 1152 \text{ semillas}$

6.2.9.4 Arreglo Espacial

Se trabajó en el invernadero ubicado en el Centro Experimental Docente de Agronomía (CEDA), donde se colocaron 48 bandejas completamente al azar.

6.2.10 Variables de respuesta

Para cada tratamiento, las variables a estudiar fueron:

- Potencia germinativa (PG)
- Germinación media (G50)
- Índice de germinación (IG)
- Velocidad de germinación (M)

6.2.11 Análisis estadístico

Para el análisis de datos de la variable “Porcentaje de germinación” se realizó un análisis de varianza ANOVA; los datos presentaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que se procedió a realizar una comparación múltiple de medias con el Test de DUNCAN (García, Castillo, Ramírez, Rendón & Larqué, 2001; Snedecor & Cochran, 1984).

6.2.12 Toma de datos

A partir de la primera semilla germinada se tomaron lecturas diarias hasta que se estabilizó la germinación. Con los datos recolectados para cada tratamiento se calcularon varios parámetros germinativos. Ver Enríquez, Suzán & Barrera (2004) y Piedrahita (1997, 1998).

a. Potencia germinativa (PG).

Calculado, como el porcentaje de germinación total al finalizar el ensayo.

b. Germinación media (G50).

Calculado, como el número de días que transcurren hasta el día en que se alcanza el 50 % de la germinación, para cada unidad experimental.

c. Índice de germinación (IG).

Medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad germinativa.

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N}$$

Donde:

IG= índice de germinación

n_i= número de semillas germinadas en el día

t_i= número de días después de la siembra

N= total de semillas sembradas

d. Velocidad de germinación (M).

Definida como la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación.

$$M = \sum \frac{(n_i)}{t}$$

Donde:

M= velocidad de germinación.

ni= número de semillas germinadas en el día.

t= tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

6.2.13 Proceso para realizar las pruebas histoquímicas.

Se procedió según (Gattuso & Gattuso, 1999)

a. Almidón

- Se realizó un corte histológico a mano alzada con una hoja de afeitar.
- Luego se colocó el corte en un portaobjetos.
- Se agregó 3 gotas de lugol.
- Se dió un período de espera de 5 minutos.
- Se colocó el cubreobjetos.
- Se observó en el microscopio

Resultado: El almidón se colorea de azul o azul-violáceo.

b. Alcaloides

- Se realizó un corte histológico a mano alzada con una hoja de afeitar.
- Luego se colocó el corte en un portaobjetos.
- Se agregó 3 gotas de Dragendorff.
- Se dió un período de espera de 5 minutos.

- Se colocó el cubreobjetos.
- Se observó en el microscopio

Resultado: Los alcaloides dan un precipitado de color rojo, naranja o marrón por 24 h.

c. Mucílagos

- Se realizó un corte histológico a mano alzada con una hoja de afeitar.
- Luego se colocó el corte en un portaobjetos.
- Se agregó 3 gotas de azul de cresil.
- Se dió un período de espera de 5 minutos.
- Se colocó el cubreobjetos.
- Se observó en el microscopio

Resultado: Los mucílagos se tiñen de color azul Francia.

d. Lípidos

- Se realizó un corte histológico a mano alzada con una hoja de afeitar.
- Luego se colocó el corte en un portaobjetos.
- Se agregó 3 gotas de Sudan IV.
- Se dió un período de espera de 5 minutos.
- Se colocó el cubreobjetos.
- Se observó en el microscopio.

Resultado: Las grasas y aceites se tiñen de color rojo como así también la cutina y suberina.

6.2.14 Proceso para realizar el estudio anatómico

- Los caracteres anatómicos se estudiaron bajo un microscopio marca Zeiss, a partir de cortes histológicos obtenidos a mano alzada.
- Los cortes se tiñeron con azul de toluidina (Johansen, 1960).
- Todas las observaciones fueron registradas mediante microfotografías.

7 RESULTADOS

7.1 Selección de árboles semilleros

La selección de árboles semilleros es un aspecto importante en la planificación para conservar una especie, sobre todo cuando se encuentra en peligro de extinción, porque constituyen la fuente de semilla que en el guayacán es limitado.

Tabla 2. Datos de árboles seleccionados

| Árbol | Altura | Diámetro |
|-------|--------|----------|
| 1 | 23m | 50cm |
| 2 | 19m | 38cm |

Fuente: Datos experimentales.

En la Tabla 2, se presentan los datos de los dos árboles semilleros seccionados en el Parque Regional “Niño Dormido”, en Cabañas, Zacapa. El árbol 1 tiene altura de 23 metros y diámetro de 50 centímetros; el árbol 2 tiene altura de 19 metros y diámetro de 38 centímetros. En la Figura 2, a y b corresponden a los árboles semilleros seleccionados, mientras que c corresponde al “árbol tipo” de guayacán observado en el área, el cuál es un árbol pequeño de no más de 10 metros de alto y tallo bifurcado desde la base.

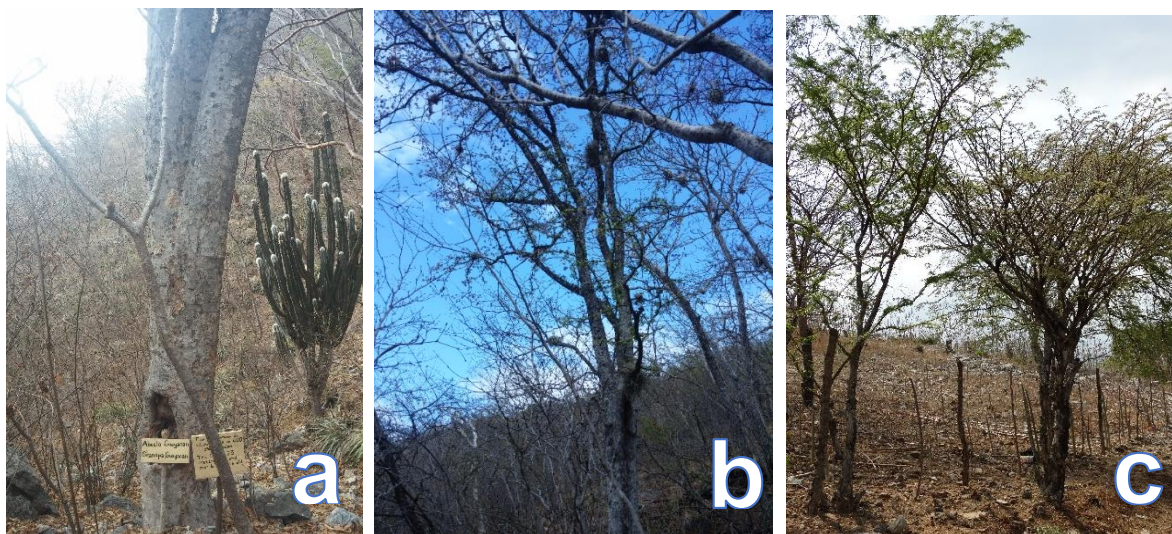


Figura 2. Árboles semilleros seleccionados (a, b) comparados con el típico árbol de guayacán de la región (c).

7.2 Porcentaje de germinación

Tabla 3. Resumen del análisis de varianza para la variable “Porcentaje de germinación”.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--|------|----|------|-------|---------|
| Tratamiento pregerminativo | 4.01 | 3 | 1.34 | 72.22 | <0.0001 |
| Sustrato | 0.10 | 3 | 0.03 | 1.86 | 0.1556 |
| Interacción Tratamiento pregerminativo*Sustrato | 0.07 | 9 | 0.01 | 0.44 | 0.9055 |
| Error | 0.59 | 32 | 0.02 | | |
| Total | 4.78 | 47 | | | |

CV: 21.18

Fuente: Datos experimentales.

Al realizar el análisis de varianza (Tabla 3), se reportó un valor de probabilidad inferior al nivel crítico de 0.05 ($Pr > F = 0.0001$) en la variable tratamiento pre germinativo, por lo que se considera significativa, para las otras fuentes de variación no hubo diferencia significativa. En la Tabla 4 se enlistan los 16 tratamientos evaluados en los semilleros de guayacán; se observa que en la variable porcentaje de germinación, las medias de los tratamientos varia ampliamente desde un 4% (T11), hasta un 93% (T6). En la misma Tabla 4 se observan los datos de la prueba de Duncan para la comparación de medias; existen dos grupos diferentes, en el grupo “A” se encuentran 12 tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T13, T14, T15, T15) los cuales obtuvieron un porcentaje de germinación igual o mayor al 70%. Los cuatro tratamientos restantes conforman el grupo “B” (T9, T10, T11, T12), los cuales presentaron porcentaje menor al 21%. En la Figura 3 por medio de barras se corrobora lo anterior. El coeficiente de variación, CV, fue de 21.18.

Tabla 4. Descripción de los tratamientos evaluados, medias de germinación y prueba de media Duncan.

| N°. | Tratamiento pregerminativo * Sustrato | Medias % | Grupo Duncan | |
|-----|---|----------|--------------|---|
| | | | | |
| 6 | A2B2 Inmersión en ácido giberélico*Peat moss | 93 | A | |
| 8 | A2B4 Inmersión en ácido giberélico*Abono orgánico F2® | 92 | A | |
| 16 | A4B4 Agua temperatura ambiente*Abono orgánico F2® | 86 | A | |
| 1 | A1B1 Testigo*Testigo | 81 | A | |
| 2 | A1B2 Testigo*Peat moss | 81 | A | |
| 3 | A1B3 Testigo*Tierra+arena+broza | 81 | A | |
| 4 | A1B4 Testigo*Abono orgánico F2® | 81 | A | |
| 5 | A2B1 Inmersión en ácido giberélico*Testigo | 81 | A | |
| 14 | A4B2 Agua temperatura ambiente*Peat moss | 78 | A | |
| 15 | A4B3 Agua temperatura ambiente*Tierra+arena+broza | 75 | A | |
| 13 | A4B1 Agua temperatura ambiente*Testigo | 72 | A | |
| 7 | A2B3 Inmersión en ácido giberélico*Tierra+arena+broza | 71 | A | |
| 10 | A3B2 Agua a punto de ebullición*Peat moss | 21 | | B |
| 12 | A3B4 Agua a punto de ebullición*Abono orgánico F2® | 18 | | B |
| 9 | A3B1 Agua a punto de ebullición*Testigo | 14 | | B |
| 11 | A3B3 Agua a punto de ebullición*Tierra+arena+broza | 4 | | B |

Fuente: Datos experimentales.

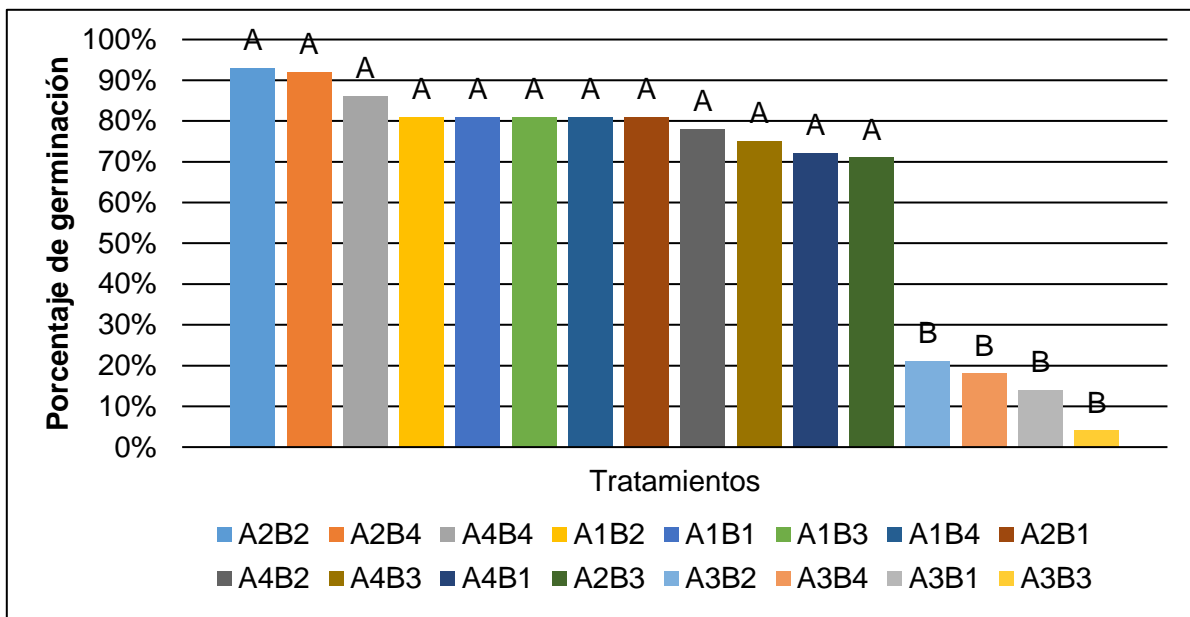


Figura 3. Gráfico de barras para la comparación del porcentaje de germinación y grupo Duncan.

Fuente: Datos experimentales.

Para las variables que no presentaron diferencia significativa, se muestra los resultados por medio de figuras de barras (Figura 4 y 5). En la Figura 4 se aprecia que el sustrato B4 obtuvo una media de 69% y el tratamiento B3 obtuvo una media de 58%, sin diferencia significativa. La Figura 5 muestra la comparación de medias del factor tratamiento pregerminativo por medio de un gráfico de barras, en el cual existen dos grupos determinados por el Test de Duncan, las medias variaron de 84 a 14%.

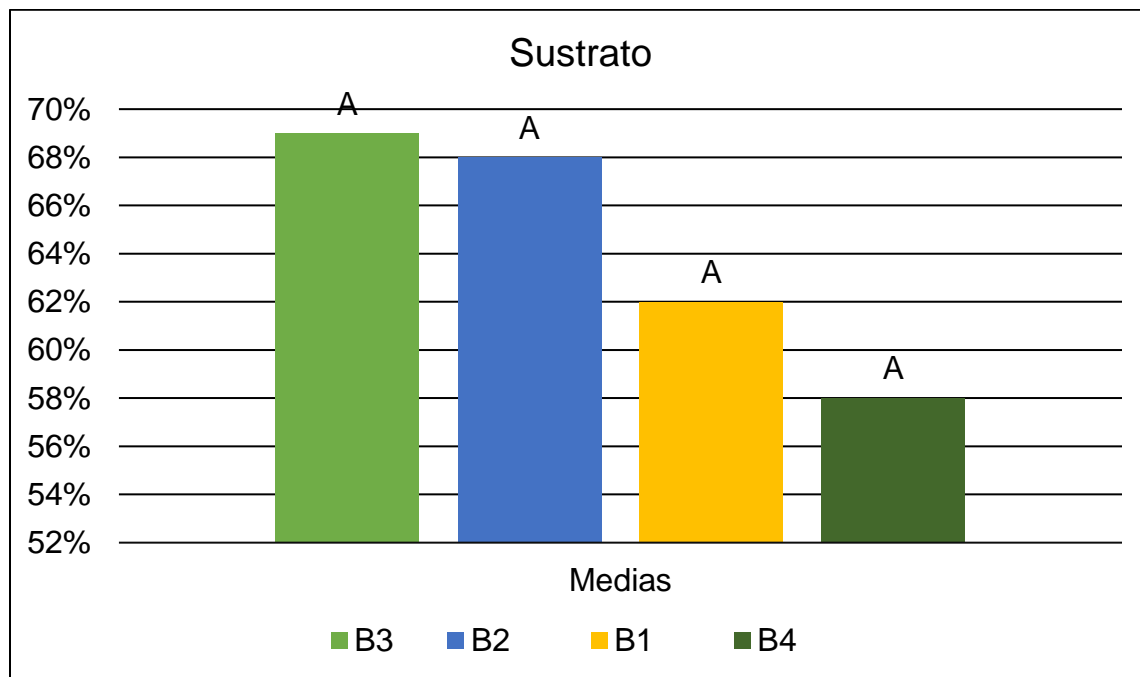


Figura 4. Gráfico de barras para la comparación de medias del factor sustrato
Fuente: Datos experimentales.

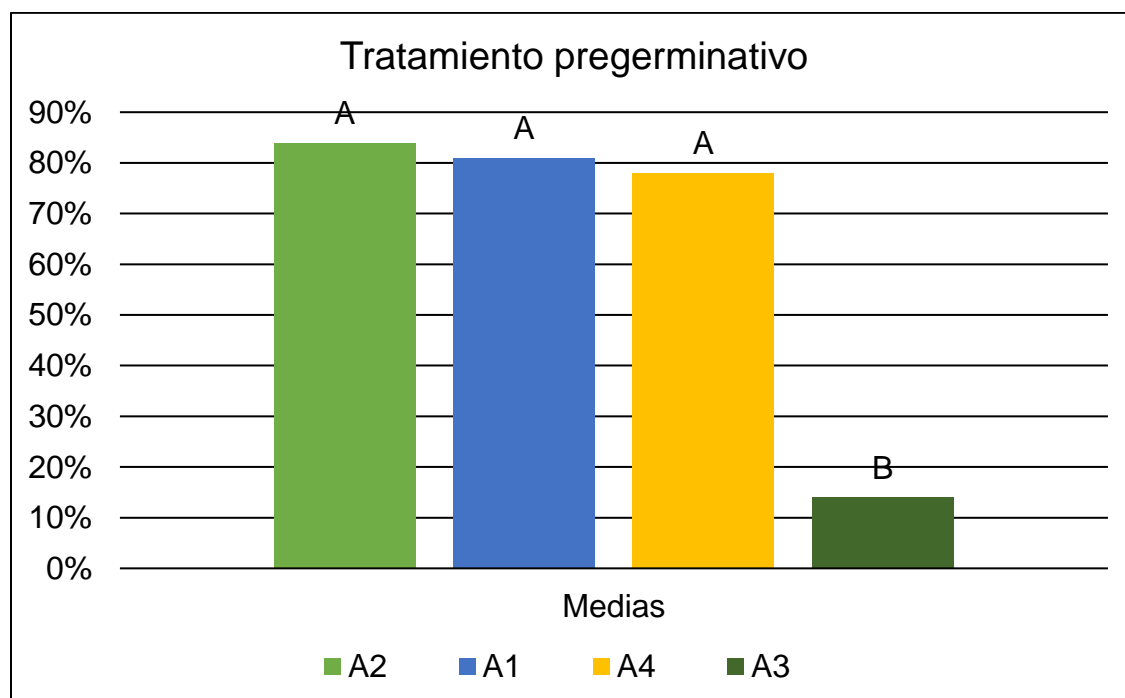


Figura 5. Gráfico de barras para la comparación de medias del factor tratamiento pregerminativo

Fuente: Datos experimentales.

Tabla 5. Variables de respuesta para la germinación de *G. sanctum*

| Tratamiento | Germinación media (G50) (Días) | Índice de germinación (IG) | Velocidad de germinación (M) |
|-------------|--------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| A1B1 | 11.33 | 0.28 | 1.30 |
| A1B2 | 20.33 | 0.49 | 0.74 |
| A1B3 | 11.33 | 0.27 | 1.42 |
| A1B4 | 17 | 0.37 | 0.91 |
| A2B1 | 10.33 | 0.32 | 1.26 |
| A2B2 | 13 | 0.45 | 0.88 |
| A2B3 | 10.66 | 0.23 | 1.28 |
| A2B4 | 14 | 0.38 | 1.36 |
| A3B1 | ----- | 0.06 | 0.20 |
| A3B2 | ----- | 0.18 | 0.21 |
| A3B3 | ----- | 0.03 | 0.09 |
| A3B4 | ----- | 0.11 | 0.22 |
| A4B1 | 11 | 0.27 | 0.93 |
| A4B2 | 18.66 | 0.43 | 0.71 |
| A4B3 | 11.33 | 0.32 | 1.65 |
| A4B4 | 12 | 0.35 | 1.29 |

Fuente: Datos experimentales.

En la Tabla 5 se listan las variables de respuesta para la germinación de guayacán; la germinación media (G50) se entiende como el número de días que transcurren hasta alcanzar el 50% de germinación, el tratamiento T5 fue el que alcanzó esta variable en menor tiempo, 10.33 días. El tratamiento T2 fue el que requirió más días, 20.33, ambos alcanzaron una porcentaje de germinación de 81%. El Índice de germinación relaciona el tiempo de germinación con la capacidad germinativa de la semilla, el tratamiento T2 fue el tratamiento que presentó el valor más alto, y los tratamientos en donde la semilla fue sumergida en agua a punto de ebullición como tratamiento pregerminativo, se tuvo el menor Índice de germinación. La variable Velocidad de germinación (M), indica que la germinación de las semillas ocurre a mayor velocidad, el tratamiento T14 fue el que presentó mayor velocidad de germinación con 1.65, y el tratamiento T11 fue el que presentó menor velocidad con 0.09.

7.3 Análisis costo beneficio

En la Tabla 6 y 7 se enlistan los costos de los tratamientos evaluados. Los costos están dados para cada tratamiento como si fuese el único que se evaluara, trabajándose únicamente 3 bandejas (72 semillas), al trabajarse más semillas los costos disminuyen.

El tratamiento más costoso (Q3, 160.00) corresponde al T6 (Inmersión en ácido giberélico + Peat moss), el tratamiento más económico lo presentaron los tratamientos (T1, T3, T9, T11, T13 y T15) con una inversión de (Q3, 010.00). La diferencia entre los costos de los tratamientos fue de Q150.00

Tabla 6. *Análisis de costo, tratamientos 1-8.*

| Rubro | Tratamiento | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
| Semilla | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 |
| 3 Bandejas | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 |
| Sustrato | Q125.00 | Q250.00 | Q125.00 | Q152.00 | Q125.00 | Q250.00 | Q125.00 | Q152.00 |
| Plaguicidas | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 |
| Bomba de mochila | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 |
| Combustible | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 |
| Ácido giberélico | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q25.00 | Q25.00 | Q25.00 | Q25.00 |
| Desinfección | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 |
| Invernadero | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 |
| Análisis Fitopatológico | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 |
| TOTAL | Q3,010.00 | Q3,135.00 | Q3,010.00 | Q3,037.00 | Q3,035.00 | Q3,160.00 | Q3,035.00 | Q3,062.00 |

Tabla 7. Análisis de costo, tratamientos 9-16.

| Rubro | Tratamiento | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 | T15 | T16 |
| Semilla | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 | Q300.00 |
| 3 Bandejas | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 | Q75.00 |
| Sustrato | Q125.00 | Q250.00 | Q125.00 | Q152.00 | Q125.00 | Q250.00 | Q125.00 | Q152.00 |
| Plaguicidas | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 | Q60.00 |
| Bomba de mochila | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 |
| Combustible | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 |
| Ácido giberélico | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 | Q0.00 |
| Desinfección | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 | Q250.00 |
| Invernadero | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 | Q500.00 |
| Análisis Fitopatológico | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 | Q600.00 |
| TOTAL | Q3,010.00 | Q3,135.00 | Q3,010.00 | Q3,037.00 | Q3,010.00 | Q3,135.00 | Q3,010.00 | Q3,037.00 |

7.4 Análisis anatómico de la semilla de *G. sanctum*

• Cubierta seminal

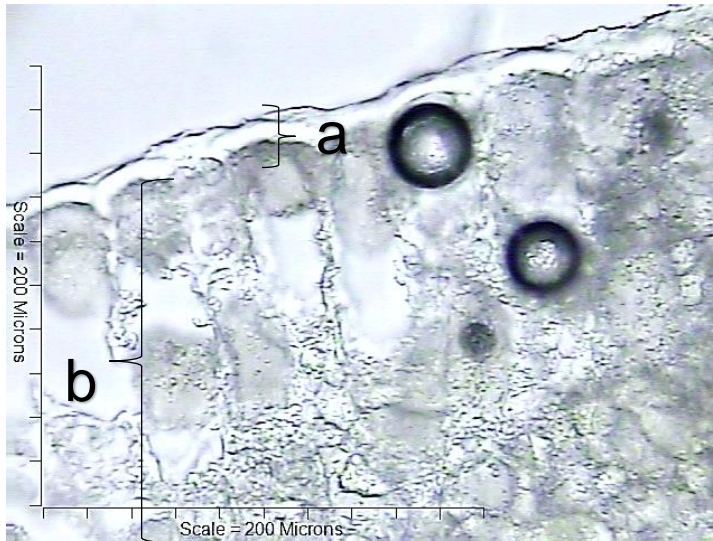


Figura 6. Células epidérmicas de la cubierta seminal.

En la Figura 6 se observa la cubierta seminal de consistencia carnosa, esta a su vez está conformada por: a) células epidérmicas con cutícula gruesa, b) debajo de la epidermis se encuentra una región de 4 o 5 capas de células grandes, alargadas radialmente.

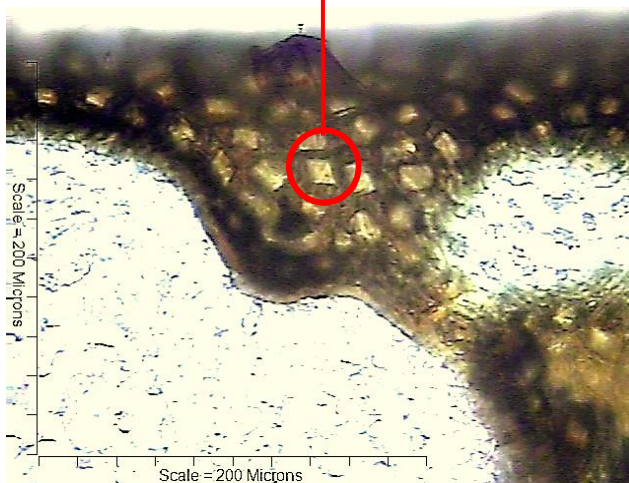
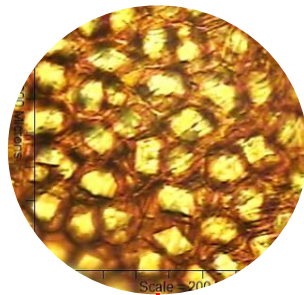


Figura 7. Zona cristalífera en la cubierta seminal.

La siguiente región de la cubierta seminal está formada por una capa unistrata de células que contienen un cristal rectangular en su interior (Figura 7).

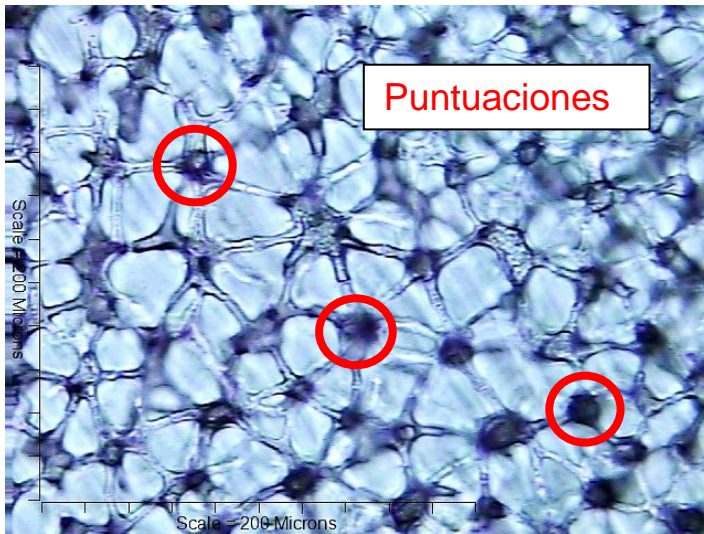
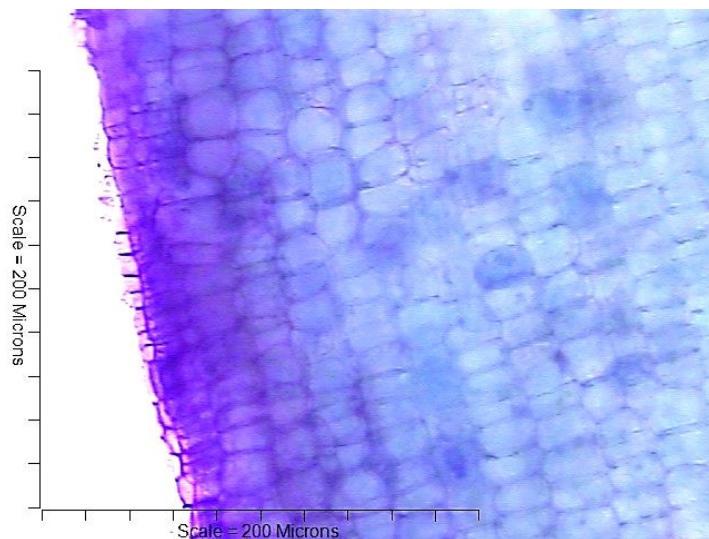


Figura 8. Células del endospermo.

Las células del endosperma son de consistencia córnea y ruminado, sus células son ricas en grasa (Figura 16). En la Figura 8 se observan células del endospermo con paredes celulares levemente lignificadas, y puntuaciones que le dan al contenido celular una apariencia estrellada (Lindorf, 1978).

Figura 9. Células de parénquima.

En la Figura 9 se observan células del parénquima que tienen la función de almacenamiento.



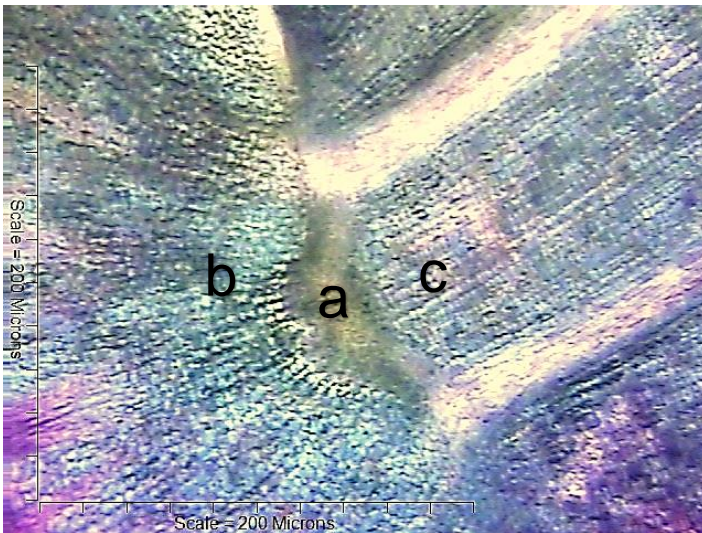
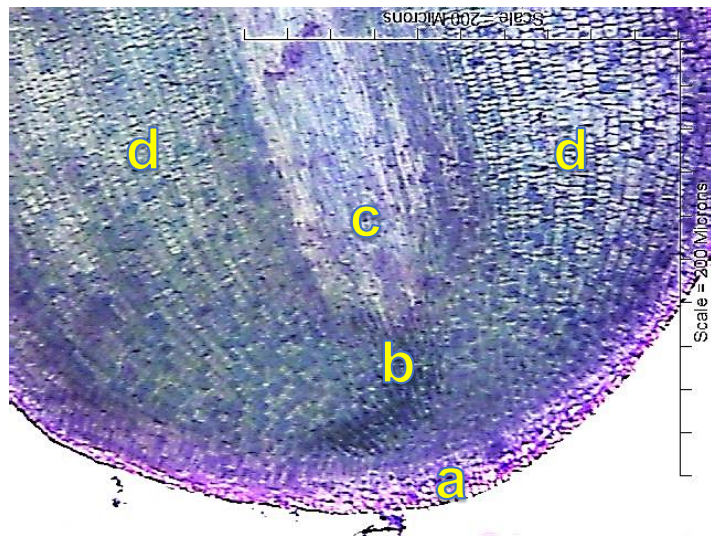


Figura 10. Meristemo apical caulinar.

En la Figura 10 se observa un corte longitudinal de la parte meristemática, en donde se observa: a) zona central meristemo apical caulinar, b) y c) corresponden a zonas de elongación celular.

Figura 11. Meristemo apical radical

En la Figura 11 se observan los siguientes tejidos a) Caliptra, b) meristemo apical radical, c) cilindro central, d) cortex.



7.5 Pruebas histoquímicas de la semilla de *G. sanctum*

- Prueba para detectar presencia de almidón con lugol

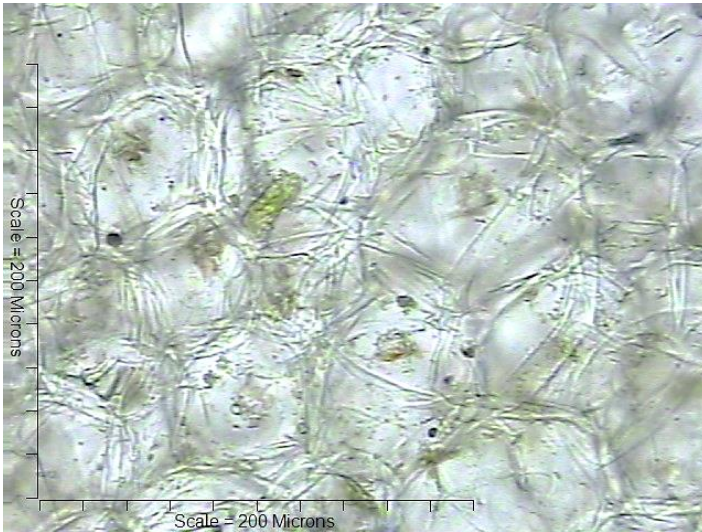


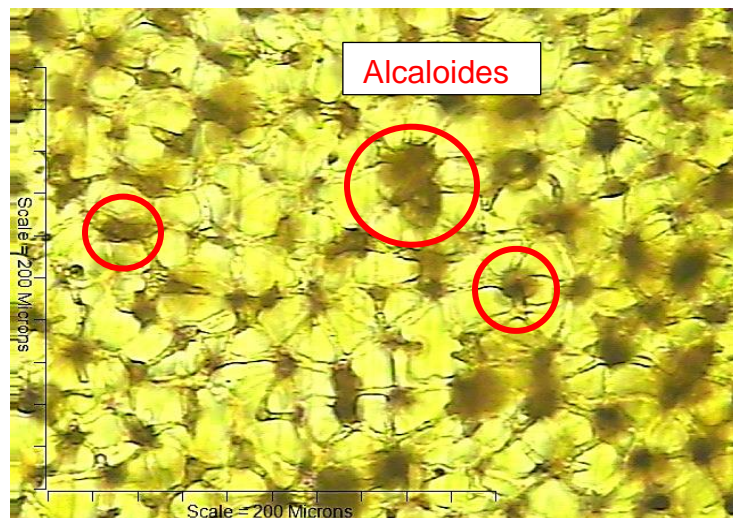
Figura 12. Prueba negativa para la presencia de almidón.

No se muestra tinción, la prueba es negativa para la presencia de almidón en la semilla de *G. sanctum* (Figura 12).

- Prueba para detectar presencia de alcaloides con Dragendorff

Figura 13. Prueba positiva para la presencia de alcaloides.

La prueba es positiva para la presencia de alcaloides, los alcaloides están presentes en la células del endospermo (Figura 13) y se observa un precipitado de color marrón.



- Prueba para detectar presencia de mucílagos con azul de cresil al 1%

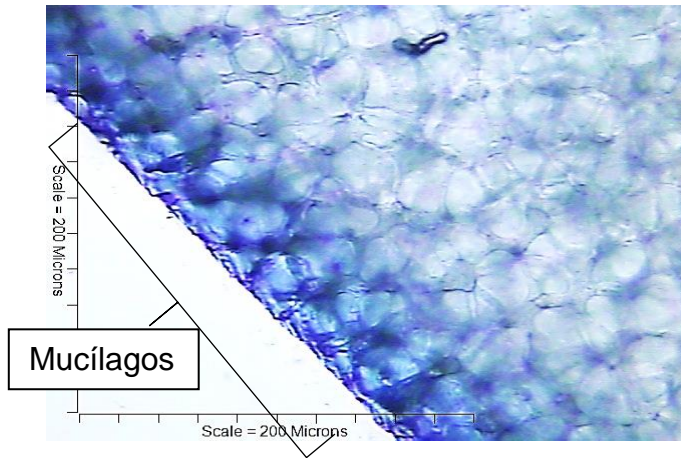


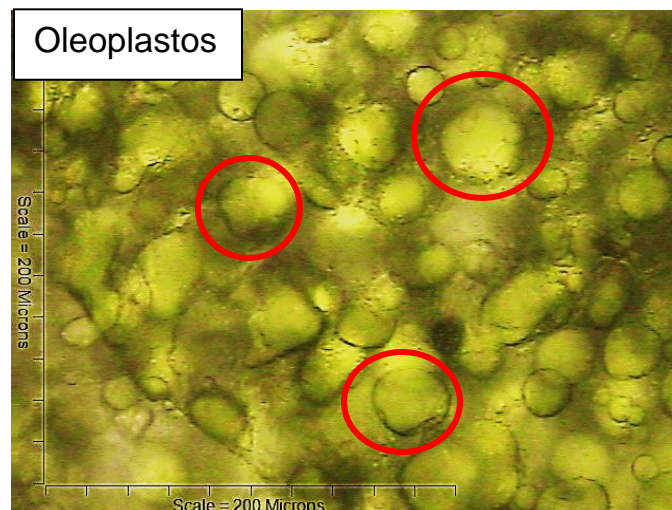
Figura 14. Prueba positiva para la presencia de mucílagos

En la Figura 14, se observa que la prueba es positiva para la presencia de mucílagos, los mucílagos están presentes en las células del endospermo más cercanas a la epidermis y se

- Prueba para detectar presencia de aceites con sudan IV

Figura 15. Prueba positiva para la presencia de lípidos.

La prueba es positiva para la presencia de lípidos, los oleoplastos que contienen los aceites están presentes en las células del endospermo (Figura 15).



8 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El guayacán es una especie fuertemente mermada por la sobreexplotación de sus poblaciones naturales, actualmente las poblaciones remanentes que se encuentran en el bosque seco presentan un árbol “tipo”, de tamaño y diámetro pequeño; esto dificultó localizar árboles padres. Sin embargo al realizar caminamientos en el área, se localizaron dos árboles cuyos tamaños y diámetros difieren positivamente con respecto al árbol “tipo”, estos cumplieron las indicaciones de Smith (1986) y Hawley (1972), son árboles altos, de copas grandes y densas, libres de patógenos. Los árboles seleccionados tienen el potencial de ser utilizados para la oportuna recolección de semilla y el establecimiento de viveros y plantaciones.

Para la especie se reporta bajo porcentaje de germinación (García, 2007; Gutiérrez, 2002; OFI/CATIE, 2003), sin embargo en Honduras se realizó un estudio (Mendoza, 2011), en donde se logró porcentaje de germinación mayor al 70% al utilizar semilla recién colectada. Debido a esto se tomó la decisión de trabajar con semilla recolectada en la segunda producción en los meses de julio-agosto, esto pudo ser de los factores más importantes para obtener porcentajes de germinación elevados (>50%) en el presente estudio. Al parecer la viabilidad de la semilla de guayacán es baja, según OFI/CATIE (2003), que indica que la viabilidad baja un 25% a los 9 meses. Otro factor a tomar en cuenta es trabajar bajo condiciones controladas (invernadero), para un manejo agronómico correcto y evitar el ataque de insectos y patógenos.

Los dos tratamientos que presentaron mayor porcentaje de germinación tuvieron por tratamiento pregerminativo la Inmersión en ácido giberélico (T6 Inmersión en ácido giberélico*Peat moss 93% y T8 Inmersión en ácido giberélico*Abono orgánico F2® 92%) estos altos porcentajes pueden deberse a

que el ácido giberélico rompe la latencia y acelera la germinación (Araya, Gómez, Hidalgo & Valverde, 2000; Rodríguez, 1995).

Esto asociado con las propiedades físicas del abono orgánico F2® (mayor retención de agua y de aire debido a sus partículas más pequeñas, buen drenaje por sus restos de cascarilla de arroz y de paja) favorecieron de mejor forma el proceso de germinación. Los tratamientos que presentaron menor porcentaje de germinación, T9, T10, T11 y T12, fue donde se evaluó como tratamiento pregerminativo la inmersión en agua a punto de ebullición (85° C) durante 2 minutos, este tiempo pudo haber sido demasiado prolongado lo que ocasionó la muerte del embrión (Gutiérrez, 2002; Navarro, Febles, Torres & Noda, 2010; Toral & Machado, 2002).

En un taller-seminario llevado a cabo en Costa Rica, los resultados que presentaron con respecto a *G. sanctum* correspondían a diferentes tratamientos de semillas, inmersión en agua hervida hasta que se enfriaba, inmersión en agua hervida durante 1,5 y 3 minutos, y escarificación de la testa con tijera podadora, además evaluaron como sustrato tierra 100% y arena 100%; en los tratamientos en donde evaluaron agua hervida, el porcentaje de germinación osciló entre 0 y 28%, el tratamiento que mayor porcentaje de germinación presentó fue la interacción de tierra 100% y escarificación de la testa con tijera podadora con 42% de germinación (Gutiérrez, 2002).

El tratamiento T5, inmersión en ácido giberélico + testigo, fue el que requirió menos tiempo para alcanzar la germinación media, esto podría deber al uso de giberelinas para romper la latencia de las semillas de guayacán, lo que promovió una rápida germinación. El tratamiento T2, Testigo + Peat moss, fue el que tardó más tiempo en alcanzar la germinación media, pero presentó el valor más alto en el índice de germinación, lo que significa que a más días transcurridos mantuvo una mejor viabilidad de la semilla; Barraza, Benavides & Torres (2016), definen el índice

de germinación como la característica intrínseca y de calidad fisiológica de las semillas. El tratamiento T14, agua a temperatura ambiente + Peat moss, fue el que presentó mayor velocidad de germinación, esto debe de entenderse según el ISTA (1976), como la capacidad de la semilla para producir, en forma rápida y uniforme, plántulas normales en condiciones específicas.

Los costos económicos varían para cada tratamiento al depender del sustrato y del tratamiento pregerminativo utilizado, el sustrato con costo más elevado lo presentó Peat moss y el tratamiento pregerminativo más elevado lo presentó la inmersión en ácido giberélico. El Peat moss representa un mayor costo con respecto a los demás sustratos lo que se traduce en un aumento aproximado de Q100. El ácido giberélico fue el tratamiento que ocupó el primer lugar en germinación y presenta una diferencia aproximada de Q25 en los costos con respecto a los demás tratamientos pregerminativos. El tratamiento más elevado, Tratamiento 6, presentó el mayor porcentaje de germinación 93%, el tratamiento más económico, Tratamiento 1 presentó un porcentaje de germinación de 81%, la diferencia de costos entre ambos tratamientos es de Q150. El Peat moss y el abono orgánico F2® son los sustratos de más difícil acceso, el primero por su costo y el segundo por su disponibilidad únicamente en la casa comercial, en el caso de que no haya acceso a estos sustratos, se recomienda utilizar tierra 50% y arena al 50% o bien tierra, arena y broza, que fueron tratamientos que presentaron alto porcentaje de germinación y son fáciles de conseguir. En el caso de los tratamientos pregerminativos, el ácido giberélico es el de más difícil acceso por la disponibilidad y el costo, se recomienda utilizar en su lugar, agua a temperatura ambiente durante 24 horas antes de la siembra, o bien sembrar las semillas sin ningún tratamiento pregerminativo, ambos tratamientos presentaron un elevado porcentaje de germinación. El tratamiento más recomendable por la accesibilidad y el buen porcentaje de germinación es, la interacción entre tierra 50% + arena 50% y las semillas sin ningún tipo de tratamiento pregerminativo.

Las características estructurales de las semillas de *G. sanctum* son de importancia adaptativa para la supervivencia en el bosque seco. Estas son: la presencia de una cutícula gruesa que reduce la pérdida de humedad, gran cantidad de parénquima como tejido de almacenamiento que suministre los nutrientes necesarios al embrión para el proceso germinativo, gran cantidad de aceites que suministran energía para el desarrollo de la planta (Gacía, 2008; Perissé, 2002).

Las pruebas histoquímicas para la detección de alcaloides, mucílagos y lípidos, fueron positivas. Los alcaloides se encuentran aproximadamente en el 20% de las plantas vasculares, en humanos, generan respuestas fisiológicas y psicológicas, a dosis altas la mayoría de alcaloides son tóxicos, sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico (Ávalos & Pérez, 2009). Hasta el momento se han aislado alrededor de 15000 alcaloides de plantas (Taiz & Zeiger, 2010). No se hallaron estudios sobre alcaloides en el género *Guaiacum*, sin embargo se localizó un estudio (Suau, y otros, 1988) en el cual dos géneros de la familia Zygophyllaceae (*Peganum* y *Zygophyllum*) resultaron positivos en las pruebas cualitativas.

La prueba para la detección de mucílagos fue positiva, el mucílago es un polisacárido heterogéneo (Samayoa, Borrayo, Pérez, Morataya & Montenegro, 2014), está constituido por distintos azúcares y ácido urónico; es translúcido y se caracteriza por formar disoluciones coloidales viscosas o geles en agua (Farela, 2017). El mucílago es importante desde el punto de vista comercial debido a las múltiples aplicaciones alimenticias y medicinales que posee.

Cualitativamente, las semillas de guayacán poseen lípidos, aproximadamente cerca de 300 ácidos grasos diferentes se han identificado en plantas (García, 2008). La extracción, identificación y el aprovechamiento de sus propiedades es de interés para posteriores investigaciones.

Según Fuchs & Hamrick (2010), la corteza de *Guaiacum sanctum* produce una resina llamada guaiacin, la cual posee propiedades antibióticas para tratar enfermedades como la gonorrea y la sífilis. Cuadra (1973), menciona que la resina se obtiene por medio de heridas hechas a la corteza, la cual emana y se transforma en exudaciones, esta resina también se puede extraer del aserrín hirviéndolo en agua. El extracto de su madera se utiliza farmacéuticamente y se sabe que posee propiedades estimulantes y diaforéticas (Standley, 1946). No se encontraron estudios acerca de la corteza o de la madera.

No se encontraron estudios acerca de compuestos en las hojas de *G. sanctum*, sin embargo, si se encontraron estudios de saponinas en las hojas de *Guaiacum officinale* L. Según Fontan (1957), las saponinas son glucósidos de esteroides que tienen importancia a nivel biológica e industrial. En un estudio realizado en Pakistán, aislaron la guaiacina A y B, las cuales son nuevas saponinas aisladas de las hojas de *G. officinale* (Viqar Uddin, Shaista, & Shaheen, 1989). Los mismos autores, Viqar Uddin, Shaista, & Shaheen (1990), aislaron nuevamente cuatro nuevas saponinas, guaiacina C, D, E y F de las hojas de *G. officinale*.

9 CONCLUSIONES

- Se seleccionaron dos árboles padres que cumplen con los parámetros silviculturales del caso, el árbol 1 tiene una altura de 23m y el árbol 2 de 19m se debe hacer notar que en poblaciones naturales ya son escasos ya que la mayoría son de no más de 10 m.
- El tratamiento que presentó el porcentaje más alto de germinación (93%) fue el tratamiento de inmersión en ácido giberélico * Peat moss, seguido de, inmersión en ácido giberélico * abono orgánico F2® con (92%). El tratamiento pregerminativo de agua a punto de ebullición, afecta negativamente la germinación debido a que ocasiona la muerte prematura del embrión.
- El tratamiento con costos más elevados fue el de inmersión en ácido giberélico y sustrato de Peat moss, sin embargo es el que presentó mayor porcentaje de germinación, 93%. En el caso de que no se tenga acceso al primero, se recomienda el testigo absoluto con tierra 50% + arena 50% y semillas sin ningún tratamiento pregerminativo con un 81% germinación, con una diferencia entre tratamientos de Q150.00.
- Las semillas de guayacán están compuestas anatómicamente por: cubierta seminal, esta a su vez constituida por epidermis externa, luego una región de células tangenciales, una región de células cristalíferas las células del endospermo son de consistencia córnea y ruminado, células de parénquima como tejido de almacenamiento y meristemas apicales.
- Las pruebas histoquímicas fueron positivas para la presencia de alcaloides, mucílagos y lípidos, no así para la presencia de almidón.

10 RECOMENDACIONES

- Utilizar semilla de la segunda fructificación anual (julio-septiembre).
- Utilizar semilla recién colectada.
- Remover el arilo, este puede generar la aparición de hongos.
- Desinfectar la semilla y el sustrato.
- En caso de que no se cuente con acceso al sustrato "Peat moss" o abono orgánico F2®, se recomienda utilizar tierra 50% + arena 50%.
- En caso de que no se cuente con acceso al ácido giberélico, se recomienda utilizar la semilla sin ningún tipo de tratamiento pregerminativo o inmersión en agua a temperatura ambiente 24 horas antes de la siembra.
- Realizar estudios fitoquímicos y farmacológicos sobre los compuestos de la semilla, corteza, madera y hojas.
- Realizar estudios sobre las poblaciones de Guayacán presentes en Suchitepéquez.

11 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araya, E., Gómez, L., Hidalgo, N., & Valverde, R. (2000). Efecto de la luz y del ácido giberélico sobre la germinación in vitro de Jaul (*Alnus acuminata*). *Agronomía Costarricense*, 16(2), 75-80.
- Arnold, F. (1996). *Manual de vivero forestal: Elaborado para algunas especies forestales nativas de la zona templada del Sur de Chile*. Chile: CONAF-DED.
- Autoridad Administrativa CITES de El Salvador, C.A. (1999). *Comunicación personal a Julie Lyke, Oficina de la Autoridad Científica, U.S. Servicio de Pesca y Vida Silvestre: El Salvador*.
- Ávalos García, A., & Pérez Urria, E. (2009). *Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología)*, 2(3), 119-145.
- Barraza, F., Benavides, O., & Torres, F. (2016). Calidad fisiológica y energía de germinación de semillas de balsamina (*Momordica charantia* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas*, 33(1), 43-52.
- Cuadra, O. (1973). *Antología del árbol nicaragüense*. Nicaragua: Publicaciones Nicaragüenses, S.A. .
- Donoso, C. (1993). *Bosques Templados de Chile y Argentina. Variación, Estructura y Dinámica*. Chile: Editorial Universitaria.
- Enríquez, E., Suzán, H., & Barrera, G. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Taxodium mucronatum* (Ten.) en el estado de Querétaro, México. *Agrociencia*, 38(3), 357-381.
- Farela Lara, L. E. (2017). *Extracción y caracterización del mucílago de la semilla de chan (Salvia hispánica L.) para la determinación de los parámetros de aplicación como aditivo espesante en función a la concentración en mermelada de fresa*. (Tesis de ingeniera en industria de alimentos). Universidad Rafael Landívar. Guatemala.
- Fontan Candela, J. L. (1957). *Las saponinas y la botánica*. España: Instituto Español de Fisiología y Bioquímica. C.U.

- Fuchs, E., & Hamrick, J. (2010). Genetic Diversity in the Endangered Tropical Tree, *Guaicum sanctum* (Zygophyllaceae). *The American Genetic Association*, 101, 3-284-291.
- Figuerola, J. & Jaksic, F. (2004). *Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central*. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77(1), 201-215.
- Flores, G. (1994). *Manual de Extensión Forestal Andino*. Ecuador: Desarrollo Forestal Participativo de los ANDES.
- Flores-Vindas, E. M. (1999). *La planta: estructura y función*. Cartago: Libro Universitario Regional.
- Gallo, R., y Viana, O. (2005). *Evaluación agronómica de sustratos orgánicos en la producción de plantines de tomate *Lycopersicum esculentum**. Recuperado el 16 de Marzo de 2015, de <http://164.73.52.13/iah/textostesis/2005/3363gal1>
- García, E. G. (2007). *Estudio de la germinación y desarrollo de plántulas de especies forestales del bosque seco de Costa Rica*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- García Villalpando, Jesús., Castillo Morales, Alberto., Ramírez Guzmán, Martha., Rendón Sánchez, Gilberto., & Larqué Saavedra, Mario. (2001). Comparación de los procedimientos de Tukey, Duncan, Dunnett, Hsu y Bechhofer para selección de medias. *Agrociencia*, 35(1), 79-86.
- García Salmerón, J. (1991). *Manual de Repoblaciones Forestales*. España: Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes.
- García Mateos, M. (2008). *Bioquímica Vegetal en la Universidad Autónoma de Chapingo*. Recuperado el 27 de Marzo de 2018, de <https://www.google.com.gt/search?q=garcia+mateos+lipidos+doc&oq=garcia+mateos+lipidos+doc&aqs=chrome..69i57.7672j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8#>
- García, M. (2006). *Sustratos para la producción de plantines hortícolas*. Recuperado el 15 de Marzo de 2015, de <http://tesisdeSustratos%20organicos%20horticultura>
- Gattuso, M., & Gattuso, S. (1999). *Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo y otros*. Argentina: U. N. Rosario, Ed.
- Goor, A., & Barney, C. W. (1976). *Forest tree planting in arid zones*. New York: The Ronald Press.

- Gutiérrez Leitón, Milena. (2002). *Pruebas de germinación para guayacán real (Guaiacum sanctum)*, en la Estación Experimental Forestal Horizontes (EEFH). Costa Rica: Programa de Restauración y Silvicultura.
- Hartmann, H., & Kester, D. (1988). *Propagación de Plantas*. México: Compañía Editorial Continental.
- Hawley, R. (1972). *Silvicultura Práctica*. Barcelona, España: Ediciones Omega.
- Información Técnica Agrícola. (s.f.). *Infoagro*. Recuperado el 17 de Marzo de 2015, de http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos.htm
- Información Técnica Agrícola. (s.f.). *Infoagro*. Recuperado el 17 de Marzo de 2015, de http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos2.htm
- Johansen, D. (1960). *Plant microtechnique*. New York, US: McGraw-Hill.
- Lindorf, H. (1978). Estudios morfológicos y anatómicos en las semillas de Zygothylaceae de Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 38(110), 169-193.
- Mendoza Dixon, A. (2011). *Manejo de las semillas de Guaiacum sanctum L. y distribución geográfica de los árboles en tres Municipios del Valle de Comayagua, Honduras*. Honduras: Revista técnico científica 22(1), 3-10.
- Monardes, N. (1580). *Primera y segunda y tercera partes de la Historia Medicinal de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales que sirven en medicina*. España: Fernando Díaz.
- Molist, P., Pombal, M., & Megías, M. (2011). *Atlas de histología vegetal y animal*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2015, de http://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-v/guiada_o_v_semilla.php
- Navarro, M., Febles, G., Torres, V., & Noda, A. (2010). Efecto de la escarificación húmeda y seca en la capacidad germinativa de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. *Pastos y Forrajes*, 33(2), 11.
- Nuez, F. (2001). *El cultivo de tomate*. México: Ediciones Mundi Prensa.
- Instituto Forestal de Oxford/Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (OFI/CATIE). (2003). *Árboles de Centroamérica un Manual para Extensionistas* Costa Rica, OFI/CATIE.

- International rules for seed testing (ISTA). (1976). *Seed Science and Technology*, 4, 3-177.
- Ordoñez, A. (1987). *Germinación de las tres especies de Nothofagus siempreverdes (Coigües), y variabilidad en la germinación de procedencias de Coigüe común (Nothofagus dombeyi (Mirb) Oerst)*. (Tesis Ingeniero. Forestal.). Chile: Universidad Austral de Chile.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura., & Agencia Danesa de Desarrollo Internacional (FAO/DANIDA). (1991). *Guía de Manipulación de Semillas Forestales con especial referencia a los Trópicos*. Roma, Italia: FAO/DANIDA.
- Paniagua Guerrero, J. J. (2005). *Manual de instrucciones para las prácticas de campo*. Costa Rica: CATIE.
- Patiño, F., de la Garza, P., Villagomez, Y., Talavera, I. & Camacho, F. (1983). *Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales*. México D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Subsecretaría Forestal. Boletín Divulgativo N° 63. 181 pp.
- Perissé, P. (2002). *Ciencia y Técnica Administrativa*. Recuperado el 26 de Marzo de 2018, de <http://www.cyta.com.ar/semilla/caracterisitcas/caracteristicas.htm>
- Picón C, R. C. (2013). *Evaluación de sustratos alternativos para la producción de pilones del cultivo de tomate Lycopersicon esculentum Mill. En los municipios de Esquipulas y Chiquimula, departamento de Chiquimula, Guatemala*. (Tesis Ingeniero Agrónomo.). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Piedrahita, C. E. (1997). Germinación de semillas de *Jacaranda copaia* bajo condiciones contrastantes de luz. *Crónica Forestal y del Medio Ambiente*, 12, 1-4.
- Piedrahita, C. E. (1998). Aumento del vigor en semillas de *Pinus patula* (Schlecht. & Cham.) por el efecto de osmocondicionamiento. *Crónica Forestal y del Medio Ambiente*, 13, 1-21.
- Rodriguez Sanchez, L. (1995). Simposio Latinoamericano sobre Semillas Forestales (Managua 1995, octubre). *Tratamientos pregerminativos para algunas especies forestales nativas de la Región Huetar Norte de Costa Rica*. Managua: CATIE.

- Samayoa Toledo, A. L., Borrayo Herrera, B. L., Pérez Solares, A. G., Morataya Sazo, M. d., & Montenegro Álvarez, L. F. (2014). *Extracción de mucílago, azúcares, y taninos de la pulpa del café y producción de ácido acético comercial a partir de las mieles del café*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Smith, D. (1986). *The Theory and Practice of Silviculture*. New York, NY.: John Wiley and Sons.
- Snedecor, G., & Cochran, W. (1984). *Métodos estadísticos*. Mexico: Editorial Continental.
- Standley, P., & Steyermark, J. (1946). *Flora of Guatemala*. Chicago, US, Chicago Natural History Museum, Fieldiana Bonaty v. 24, part. 5, 394-396.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5^a ed.). Massachusetts, U.S.A: Sinauer Associates.
- Toral, O., & Machado, R. (2002). Introducción, evaluación y selección de recursos fitogenéticos arbóreos. *Pastos y Forrajes*, 25(1), 13.
- Varela, S. & Arana, V. (2011). *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*. Recuperado el 15 de Marzo de 2015 de <https://inta.gov.ar/documentos/latencia-y-germinacion-de-semillas-tratamientos-pregerminativos-cuadernillo-no3>
- Vargas, E. & Zumbado, M. (2003). *Composición de los subproductos de la industrialización de la Palma Africana utilizados en la alimentación animal en Costa Rica*. Recuperado el 17 de Marzo de 2015, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43627101>
- Viqar Uddin, A., Shaista, P., & Shaheen, B. (1989). Guaiacin A and B from the Leaves of *Guaiacum officinale*. *Planta Medica*, 55(3), 307-308.
- Viqar Uddin, A., Shaista, P., & Shaheen, B. (1990). Saponins from the leaves of *Guaiacum officinale*. *Phytochemistry*, 29(10), 3287-3290.



Wagner Guillermo Alonzo De León

AUTOR



Dr. José Vicente Martínez Arévalo

ASESOR



MSc. María Ernestina Ardón Quezada

DIRECTORA



Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

DECANO