

**POTENCIAL DE ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS DE *Genipa americana*
L. EN EL DEPARTAMENTO DEL QUINDÍO.**

SANDRA VIVIANA RAMÍREZ MORALES

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y TECNOLOGÍAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
ARMENIA – QUINDÍO
2009**

**POTENCIAL DE ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS DE *Genipa americana*
L. EN EL DEPARTAMENTO DEL QUINDÍO.**

SANDRA VIVIANA RAMÍREZ MORALES

Trabajo de grado para optar el título de Bióloga

Director

ANDRÉS FELIPE OROZCO CARDONA Asp. M.Sc.

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y TECNOLOGÍAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
ARMENIA – QUINDÍO
2009**

NOTA DE ACEPTACIÓN:

ROCÍO STELLA SUÁREZ ROMÁN

Jurado

ANA LUCÍA LÓPEZ GONZÁLEZ

Jurado

RODOLFO LÓPEZ FRANCO

Jurado

Armenia, Octubre de 2009

A Dios por ser la luz que día a día ilumina mi entendimiento, a mis padres y mi hermano por su cariño y apoyo incondicional en todas las etapas de mi formación universitaria.

AGRADECIMIENTOS

La autora del presente trabajo expresa sus agradecimientos a todas aquellas personas o entidades que brindaron su apoyo para la realización del mismo:

- Asp. M. Sc. Andrés Felipe Orozco Cardona. Director
- Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ)
- Programa de Biología
- M. Sc. Ana Lucía López González
- Lic. Rocío Stella Suárez Román
- M. Sc. Germán Darío Gómez Marín
- Asp. M. Sc. Lina María Arbeláez Arias
- M. Sc. Rodolfo López Franco
- Ph. D. María de las Mercedes Girón Vanderhuck
- Jamith Escobar y Leider Suárez. Guardabosques de la Reserva Natural La Montaña del Ocaso
- Habitantes de las veredas, Puerto Alejandría (Quimbaya), La Moravita (Pijao), Verdun (Caicedonia), Puerto Samaria y San Pablo (Montenegro).

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1. OBJETIVOS	19
1.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
1.3 HIPÓTESIS	19
2. ESTADO DEL ARTE	20
3. MARCO TEÓRICO	26
3.1 ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS	26
3.2 SEMILLAS INTERMEDIAS	28
3.3 SUSTRATOS DE ALMACENAMIENTO	28
3.4 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS	34
4.1 ÁREA DE ESTUDIO	34
4.2 METODOLOGÍA	37
4.2.1 Fase de campo	37
4.2.1.1 Cosecha de frutos	37
4.2.1.2 Estado de maduración del fruto	39
4.2.2 Fase de laboratorio	40
4.2.2.1 Presecado y limpieza	40
4.2.2.2 Evaluación inicial de la calidad	41
4.2.2.2.1 Valoración del contenido de humedad	41
4.2.2.2.2 Viabilidad	42
4.2.2.2.3 Germinación	43
4.2.2.3 Secado de las semillas	45
4.2.2.4 Almacenamiento de semillas	46
4.2.2.5 Evaluación periódica de calidad de las semillas	47
4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
4.4 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE SEMILLAS	49
4.5 PROTOCOLO DE ALMACENAMIENTO DE <i>G. americana</i>	51

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
5.1 ESTADO DE MADURACIÓN DEL FRUTO	52
5.2 EVALUACIÓN INICIAL DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS	54
5.2.1 Contenido de humedad	54
5.2.2 Prueba de viabilidad	58
5.2.3 Prueba de germinación	61
5.3 EVALUACIÓN PERIÓDICA DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS	64
5.3.1 Contenido de humedad	64
5.3.2 Viabilidad	69
5.3.2 Germinación	74
5.4 PROTOCOLO DE ALMACENAMIENTO DE <i>G. americana</i>	88
5.5 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO	95
7. CONCLUSIONES	102
8. RECOMENDACIONES	103
BIBLIOGRAFÍA	104
ANEXOS	112

TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Zonas de muestreo de <i>G. americana</i> en del departamento del Quindío.	35
Tabla 2. Categorías de viabilidad de las semillas de <i>G. americana</i> según el patrón de tinción.	43
Tabla 3. Comparación del contenido de humedad de <i>G. americana</i> obtenido por los métodos de secado con sílica Gel y Vermiculita para los seis sitios de procedencia de las semillas.	55
Tabla 4. Prueba de viabilidad inicial de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas.	58
Tabla 5. Prueba de germinación inicial de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas: Porcentaje de germinación, tasa de germinación e Índice de velocidad de germinación.	61
Tabla 6. Comparación del contenido de humedad de <i>G. americana</i> durante el almacenamiento con sílica Gel y Vermiculita para los seis sitios de procedencia de las semillas.	64
Tabla 7. ANOVA para el porcentaje de contenido de humedad de semillas de <i>G. americana</i> .	65
Tabla 8. DMS para la comparación de medias de factores para el contenido de humedad de semillas de <i>G. americana</i> .	67
Tabla 9. Prueba de viabilidad de <i>G. americana</i> durante el almacenamiento con sílica Gel y Vermiculita para los seis sitios de procedencia de las semillas.	69
Tabla 10. ANOVA para el porcentaje de viabilidad de semillas de <i>G. americana</i> .	70
Tabla 11. DMS para la interacción de factores en la viabilidad de semillas de <i>G. americana</i> .	72
Tabla 12. Prueba de germinación de <i>G. americana</i> durante el almacenamiento con vermiculita a 22°C, para los seis sitios de procedencia de las semillas.	75

Tabla 13. ANOVA para el porcentaje de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	75
Tabla 14. DMS para la interacción de factores en el porcentaje de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	77
Tabla 15. ANOVA para la tasa de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	78
Tabla 16. DMS para la interacción de factores en la tasa de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	80
Tabla 17. ANOVA para el índice de velocidad de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	81
Tabla 18. DMS para la interacción de factores en el índice de velocidad de germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	83
Tabla 19. Matriz de valores y vectores del análisis de componentes principales para semillas de <i>G. americana</i> de seis procedencias del departamento del Quindío.	98

FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Características sobresalientes de <i>G. americana</i> . a. Hábito de crecimiento, b. Partes botánicas ilustradas, c. Fruto, d. Rama con flores.	30
Figura 2. Distribución actual de <i>Genipa americana</i> L.	31
Figura 3. Sitios de muestreo de <i>Genipa americana</i> en el departamento del Quindío representados por cuadros de color azul.	36
Figura 4. Colecta material de la Hacienda La Leyenda, Vereda Puerto Alejandría, municipio de Quimbaya.	37
Figura 5. Colecta material de La Reserva La Montaña del Ocaso, Vereda El Laurel, municipio de Quimbaya.	38
Figura 6. Colecta material de la Finca La Tolda, Vereda Puerto Samaria, municipio de Montenegro.	38
Figura 7. Colecta material alrededores de Puente sobre el Río La Vieja, Vereda San Pablo, municipio de Montenegro.	38
Figura 8. Colecta material de la Finca Montegrande, Vereda Verdun, Municipio de La Tebaida.	39
Figura 9. Colecta material de la Hacienda Las Acacias, Vereda La Moravita, municipio de Pijao.	39
Figura 10. Estado de maduración del fruto de <i>Genipa americana</i> para el departamento del Quindío.	40
Figura 11. Balanza digital Professional-Scale LT Series utilizada en la toma de contenido de humedad.	41
Figura 12. Prueba de viabilidad con Tetrazolio al 1% de las semillas de <i>G. americana</i> . a. Hidratación de las semillas para ablandar la testa, b. Disección de las semillas. c. Tinción de una semilla viable.	42
Figura 13. Prueba de germinación de semillas de <i>G. americana</i> en cajas de petri y papel secante.	44
Figura 14. Cámara desecadora utilizada para el secado de las semillas de <i>G. americana</i> .	45
Figura 15. Almacenamiento de semillas de <i>G. americana</i> . a. Temperatura de 22°C, b. Temperatura de -20°C y c. Temperatura de 5°C.	46

Figura 16. Metodología para el manejo y conservación de semillas de <i>G. americana</i> .	47
Figura 17. Toma de pesos de semillas de <i>G. americana</i> . Variables: a. Repetición de semillas para pesaje. b. Balanza analítica.	50
Figura 18. Morfometría de semillas de <i>G. americana</i> . Variables: a. Largo. b. Ancho. c. Grosor.	50
Figura 19. Morfometría de semillas de <i>G. americana</i> . Variación en formas: a y d. Triangular, b. Circular, c. Rectangular.	51
Figura 20. Estado óptimo de maduración de fruto y semillas de <i>G. americana</i> . a - b. Fruto maduro. C. Semillas recubiertas con fibras internas del mesocarpo.	52
Figura 21. Morfometría del fruto de <i>G. americana</i> . Variable Tamaño: Ancho y longitud del fruto de las seis procedencias.	53
Figura 22. Morfometría del fruto de <i>G. americana</i> . Variable Peso para las seis procedencias.	53
Figura 23. Contenido de humedad inicial de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas. a. Método de secado con sílica gel. b. Método de secado con vermiculita.	56
Figura 24. Contenido de humedad inicial de <i>G. americana</i> obtenido por los métodos de secado de sílica gel y vermiculita para los seis sitios de procedencia de las semillas.	57
Figura 25. Viabilidad inicial de semillas de <i>G. americana</i> . a. Moravita. b. San Pablo. c. Puerto Alejandría. d. Verdun. e. Ocaso. f. Puerto Samaria.	59
Figura 26. Porcentaje de viabilidad de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas.	59
Figura 27. Germinación de semillas de <i>G. americana</i> .	61
Figura 28. Prueba de germinación inicial de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas.	62
Figura 29. Medias de los porcentajes de humedad de semillas de <i>G. americana</i> para los factores sustrato de almacenamiento a. Sustratos: 1, Sílica Gel y 2, Vermiculita. b. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.	66
Figura 30. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo,	66

sustrato y temperatura de almacenamiento para el contenido de humedad de semillas de *G. americana*.

Figura 31. Medias del porcentaje de viabilidad de las semillas de *G. americana* para los factores: Temperatura y tiempo de almacenamiento a. Temperaturas: 1, 22°C; 2, 5°C y 3, -20°C. b. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses. 71

Figura 32. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el porcentaje de viabilidad de semillas de *G. americana*. 72

Figura 33. Medias de los porcentajes de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, temperatura y tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica Gel y 2, Vermiculita). b. Temperaturas: 1, 22°C; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses 76

Figura 34. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el porcentaje de germinación de semillas de *G. americana*. 77

Figura 35. Medias de las tasas de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, temperatura y tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica Gel y 2, Vermiculita). b. Temperaturas: 1, 22°C; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses. 79

Figura 36. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para la tasa de germinación de semillas de *G. americana*. 80

Figura 37. Medias del índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, temperatura y Tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica Gel y 2, Vermiculita). b. Temperaturas: 1, 22°C; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses. 82

Figura 38. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana*. 83

Figura 39. Medición de semillas de *G. americana*. Variables morfométricas: a. Largo, b. ancho, c. grosor. d. vista lateral semilla mostrando extremo micropilar. 95

Figura 40. Datos de los cinco caracteres morfométricos de semillas 96

de *G. americana*. a. Datos sin tratamiento estadístico. b. Datos con tratamiento estadístico.

Figura 41. Variación en los valores de coeficiente y factor de variación para los caracteres morfométricos de la semilla evaluados: Forma (FS), Peso (PS), largo (LS), ancho (AS), grosor (GS), relación largo/ancho (L/AS) y Superficie (SS). 97

Figura 42. Gráfico bidimensional de las dos primeras componentes que muestra la variabilidad en observaciones de semillas de *G. americana* de las seis procedencias. 99

Figura 43. Varianza explicada y varianza acumulada para los cinco componentes principales de los caracteres morfométricos de semillas de *G. americana* de las seis procedencias. 99

ANEXOS

	Pág
Anexo A. Formato de registro para colección en campo de semillas de especies forestales- CIBUQ.	115
Anexo B. Formato de registro para entrada de material vegetal al laboratorio de Biotecnología- CIBUQ.	116
Anexo C. Formato de registro para pruebas de germinación de semillas forestales. Laboratorio Biotecnología-CIBUQ.	117
Anexo D. Formato de registro para pruebas de viabilidad y contenido de humedad de semillas forestales. Laboratorio Biotecnología- CIBUQ.	118
Anexo E. Formato de registro para ensayos de almacenamiento de semillas forestales. Laboratorio Biotecnología- CIBUQ.	119
Anexo F. Morfometría de frutos de <i>G. americana</i> : Medidas de ancho y largo de frutos de las seis procedencias.	120
Anexo G. Morfometría de frutos de <i>G. americana</i> : Medidas de peso de frutos de seis procedencias.	121
Anexo H. Número de semillas germinadas en la prueba de calidad inicial de semillas de <i>G. americana</i> de las seis procedencias.	122
Anexo I. Número de semillas germinadas por día de <i>G. americana</i> para las seis procedencias durante el almacenamiento con vermiculita a 22°C.	123
Anexo J. Estadística descriptiva de las variables de <i>G. americana</i> para los seis sitios de procedencia de las semillas.	124

RESUMEN

Se evaluó la eficiencia del método de almacenamiento para la conservación de semillas de *Genipa americana* procedentes de 6 poblaciones de la zona cálida del departamento del Quindío. El estudio se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Estudios e Investigaciones de Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío (CIBUQ). Se siguió la metodología sugerida por Bioversity International para el manejo de semillas en bancos de germoplasma, con el fin de establecer un protocolo de almacenamiento para la conservación a corto plazo de semillas de la especie a través de la determinación de la temperatura y el sustrato de almacenamiento adecuado. Así mismo, se realizó un estudio morfométrico de las semillas de las 6 procedencias, siguiendo la metodología de Mora y Casas (2005), con algunas modificaciones, para analizar las variaciones morfométricas a nivel poblacional. Las pruebas iniciales revelaron 75% de viabilidad, 43% de contenido de humedad, 78% de porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación de 2 semillas por día y 23 días en tasa de germinación. Se encontró que la sílica gel reduce el contenido de humedad hasta 9% durante 72 horas, mientras que la Torlita solo hasta 28% en promedio. Los resultados mostraron que para conservar las semillas es adecuado almacenar con Torlita a 22°C entre 10-13% de humedad. Igualmente, se encontró un alto coeficiente y factor de variación en la forma de las semillas, varianza del 38% en el primer componente principal y alta variabilidad intrapoblacional en volumen, peso y largo de las semillas.

Palabras claves: Conservación, semilla intermedia, viabilidad, germinación, contenido de humedad, morfometría.

ABSTRACT

We evaluated the efficiency of the method of storage for the conservation of seeds of *Genipa americana* proceeding from 6 populations of the hot zone of the department of the Quindío. The study was conducted in the Biotechnology laboratory of the Center for Study and Research on Biodiversity and Biotechnology at the University of Quindio (CIBUQ). It followed the methodology suggested by Bioversity International for handling seeds in genebanks, in order to establish a storage protocol for short-term conservation of seeds of the

species through the determination of temperature and substrate proper storage. Likewise, we performed morphometric study of the 6 seed sources, following the methodology of Mora and Casas (2005) with some modifications, to analyze population-level morphometric changes. Initial tests revealed 75% viability, 43% moisture content, 78% germination percentage, germination speed index of 2 seeds per day and 23 days for germination rate. It was found that the silica gel reduces the moisture content to 9% for 72 hours, while the Torlita only up to 28% on average. The results showed that to preserve the seeds it is better to conserve with torlita to 22°C among 10-13 % of humidity. Equally, we found a high coefficient and factor of variation in the form of the seeds, variance of 38% in the first principal component and high intrapopulation variability in size, weight and length of seeds.

Key words: Conservation, intermediate seed, viability, germination, moisture content, morfometry.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la flora de los bosques tropicales del mundo está siendo destruida a un ritmo vertiginoso y numerosas especies están al borde de la extinción. Muchas poblaciones de especies de plantas tropicales han sido o están siendo reducidas a números peligrosamente bajos los cuales no aseguran la propia perpetuación de los ecotipos locales o especies enteras (Vázquez-Yanes & Rojas, 1996).

La inmensa diversidad de especies de plantas que representan los bosques lluviosos tropicales del mundo, se refleja en una notable variedad de características de semillas; la duración de la viabilidad de las semillas en la naturaleza varía ampliamente entre especies. La longevidad promedio de la mayoría de semillas es muy corta, porque éstas tienden a germinar más rápido en un ambiente boscoso, continuamente cálido y húmedo, o porque ellas son deterioradas rápidamente por predadores y parásitos. Muchas semillas no están equipadas con las características anatómicas y fisiológicas necesarias para conservar una prolongada viabilidad en condiciones naturales o de almacenamiento (Vázquez-Yanes & Rojas, 1996).

El almacenamiento de semillas constituye uno de los procedimientos de conservación *ex situ* más válidos y extendidos en la actualidad, ya que permite la conservación del germoplasma de plantas valiosas y en peligro de extinción. Además, las semillas presentan una serie de características que hacen que su almacenamiento sea el método más eficaz y económico para la conservación *ex situ* de especies vegetales (Iriondo, 2001).

Con la estimación del potencial de almacenamiento de semillas intermedias de *G. americana*, cuyas poblaciones en el departamento del Quindío se encuentran diezmadas, se estaría aportando al conocimiento en las prácticas de almacenamiento de especies forestales de la región para las cuales se carece de protocolos en bancos de semillas como estrategia de conservación.

Desafortunadamente, la investigación mundial sobre el almacenamiento de este tipo de semillas es escasa (Vázquez-Yanes & Rojas, 1996) y los bancos de germoplasma almacenan en su mayoría muestras de plantas cultivadas (Iriondo, 2001). Adicional a ello, el conocimiento de estas semillas es limitado, pues se han realizado pocos estudios sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos involucrados en la sensibilidad a la desecación.

Por esta razón se requiere mejorar las prácticas de manipulación y almacenamiento de estas semillas, pues no se ha establecido un método

satisfactorio para mantener la viabilidad de las especies intermedias intacta a largo plazo.

La conservación del germoplasma de especies forestales es de gran relevancia para la subsistencia de la biodiversidad en los ecosistemas de bosque tropical del Quindío. Estas especies tienen un valor socio-económico y ecológico intrínseco, por la gran cantidad de productos y servicios ambientales que brindan. Sin embargo, su alto valor comercial las tiene en amenaza por la acción del hombre.

En la actualidad, el Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío (CIBUQ), a través de sus líneas de investigación, ha propiciado el avance del conocimiento y la identificación de soluciones para detener la disminución de las poblaciones naturales de especies forestales arbóreas amenazadas y vulnerables que abundan en la región; a través de la creación del banco de semillas de especies forestales en el laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIBUQ, como una valiosa herramienta para la conservación de estas especies.

En este sentido, las preguntas que ayudan a enmarcar el problema objeto de esta investigación son:

¿Existe un método eficaz que permita mantener la viabilidad de las semillas de *Genipa americana* mediante almacenamiento controlado?

¿Es posible prolongar el tiempo de almacenamiento de semillas de *Genipa americana* más allá de pocos días o meses?

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial de almacenamiento de semillas de *Genipa americana* del departamento del Quindío.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la eficiencia de los tratamientos de almacenamiento (sustratos de almacenamiento, temperaturas y tiempos) para la conservación de semillas de *Genipa americana*.
- Establecer un protocolo de almacenamiento para conservar semillas de *Genipa americana* bajo los tratamientos identificados como óptimos.
- Realizar un análisis morfométrico de semillas de *Genipa americana*.

1.3 HIPÓTESIS

H_0 = Existe un efecto de la temperatura, tiempo y sustrato de almacenamiento sobre la viabilidad, germinación y contenido de humedad de las semillas.

H_1 = No existe un efecto de la temperatura, tiempo y sustrato de almacenamiento sobre la viabilidad, germinación y contenido de humedad de las semillas.

2. ESTADO DEL ARTE

En los últimos años, han sido desarrollados algunos estudios sobre semillas forestales en el Departamento del Quindío, a través de la línea de Biotecnología del Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ) de la Universidad del Quindío, en el cual se tienen registros a la fecha de investigaciones en conservación de semillas a través de almacenamiento tales como:

- Análisis y Ensayos de Almacenamiento para semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* del Quindío, realizado por Acero (2005), quien reportó que los tratamientos físicos y métodos de almacenamiento más adecuados para conservar las semillas de *H. courbaril* por un periodo de 120 días, son el almacenamiento en nevera a 5°C en frascos plásticos; mientras que para *E. cyclocarpum* el almacenamiento a 5°C en empaques de vidrio, bolsas y frascos plásticos fueron los mejores. En el almacenamiento a -20°C se obtuvieron porcentajes de germinación y viabilidad mayores al 85% que son óptimos para conservar las semillas.
- Banco de semillas de *Albizia carbonaria* y *Cedrela odorata* en el departamento del Quindío, realizado por García, et al. (2006), quienes reportaron que para conservar las semillas de *A. Carbonaria* son adecuados los tratamientos de almacenamiento a temperatura ambiental en bolsas de aluminio y para *C. odorata* el almacenamiento a temperatura de 5°C y -20°C en bolsas de aluminio. Las semillas de ambas especies pueden conservarse a -20°C, pues a esta temperatura se obtuvieron porcentajes de germinación superiores al 85%.
- Viabilidad y Ensayos de Almacenamiento para semillas de *Tabebuia chrysantha*, desarrollado por Ospina & Suárez (2008), quienes encontraron que el mayor porcentaje de germinación y viabilidad para las semillas, al cabo de 5 meses de almacenamiento, se obtuvo con una temperatura de -20°C, utilizando recipientes plásticos y de vidrio. Con el empaque de vidrio transparente y cierre hermético a temperaturas de -20 y 5°C no se registraron ataques por hongos.
- Estandarización del método para determinar el potencial de almacenamiento de semillas de *Luehea seemannii*, realizado por Tusarma, et al. (2008), los cuales mencionan que las semillas presentaron porcentajes de germinación de 60.3% y 44.2% de viabilidad a los 5 meses

de almacenamiento, en recipientes de vidrio y bolsas aluminizadas al vacío a temperaturas de 5 y 9°C.

- Potencial de almacenamiento de semillas de *Lafoensia puniceifolia*, desarrollado por Urrea & Suárez (2009), quienes encontraron que las semillas conservaron 55% de germinación y 53% de viabilidad a 5°C, -20°C y temperatura ambiente. Las semillas permanecieron viables a 5°C de temperatura en recipientes de vidrio color ámbar, con un contenido de humedad entre el 5-8% durante 180 días. Así mismo obtuvieron valores morfométricos de longitud polar y ecuatorial de la semilla, inferiores a los reportados para la especie.
- Evaluación del potencial de almacenamiento de semillas de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC., realizado por Parra & Suarez (2009), quienes conservaron semillas a 5°C, -20°C y temperatura ambiente en envase de vidrio color ámbar con tapa rosca y envase de vidrio transparente con cierre hermético durante un periodo de seis meses; registrando que las semillas mantienen un porcentaje de germinación promedio de 67.87 hasta los 180 días, sin diferencias estadísticamente significativas entre uno u otro tipo de empaque.

Con el objetivo de establecer un banco de germoplasma “*In situ*” de especies forestales en el departamento del Quindío, Agudelo *et al.* (2006), efectuaron un estudio en la Reserva Natural la Montaña del Ocaso, identificando especies arbóreas raras y amenazadas, registrando un total de 740 individuos de 91 especies y 30 familias botánicas, de las cuales propagaron 32 especies de 19 familias, dentro de las cuales las más representativas fueron Caesalpinaceae, Arecaceae, Mimosaceae, Sapindaceae, Bombacaceae, Sapotaceae, Meliaceae, Lauraceae y Euphorbiaceae. Algunas de las especies propagadas fueron: *Anacardium excelsum*, *Quararibea foenigracea*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Hymenaea courbaril*, *Pouteria lucuma*, *Genipa americana*, *Pouteria torta* y *Chamaedorea linearis*.

Del orden nacional, instituciones como CONIF desde el año 1995 ha generado estudios en el sector forestal, entre los que se destaca el desarrollo de protocolos de germinación y almacenamiento de semillas para 20 especies forestales nativas; además del establecimiento de más de 100 fuentes semilleras de 40 especies forestales y el establecimiento de huertos semilleros con roble, aliso y teca (CONIF, 2007).

Ceballos & López (2007), a través de CENICAFÉ desarrollaron un estudio sobre conservación de la calidad de semillas forestales nativas en almacenamiento, en el cual reportaron que las semillas de *Alnus acuminata*, *Cordia gerascanthus* y

Guarea guidonia mantuvieron constante el porcentaje de germinación a 12°C por seis meses y el vigor germinativo fue influenciado por el tratamiento pregerminativo (inmersión en agua, siembra directa en germinadores y escarificación mecánica, respectivamente). Así mismo, las semillas de *Juglans neotropica* mantuvieron la germinación a 4°C y aumentó la velocidad de germinación con escarificación previa. Las semillas de *Retrophyllum rospigliosii* se conservaron a 12°C.

Algunos reportes de almacenamiento y tratamientos pregerminativos de semillas forestales, desarrollados por Trujillo (1995), registran los resultados de experiencias que dan una orientación sobre las posibilidades de conservación de la viabilidad de más de 100 especies.

Además, Correa & Echavarría (1997), desarrollaron un estudio sobre las propiedades fisiológicas de las semillas de 6 Especies forestales de clima frío de Colombia y encontraron que la aplicación de tratamientos pregerminativos tales como escarificación física y química para acelerar la germinación dio resultados variados, pero los tratamientos físicos fueron mejores que los químicos.

En el plano internacional, Instituciones como CATIE y Bioversity International, entre otras, han desarrollado guías y manuales sobre la manipulación y almacenamiento de semillas forestales.

Algunas investigaciones de importancia a nivel mundial sobre almacenamiento de semillas forestales son las siguientes:

- Almacenamiento de semillas forestales en Panamá, desarrollado por Aguilar (2000), el cual reporta almacenamiento por un año a 5°C en bolsas de papel de *Acacia mangium* y *Eucalyptus camaldulensis*; igualmente de *Swietenia macrophylla* al 8.7% de humedad; *Cedrela odorata*, al 7.5% de humedad; *Pinus caribaea* al 8.25% de humedad y *Bombacopsis quinatum* al 6.46% de humedad, se conservaron en recipiente plástico por el mismo tiempo y temperatura.
- Viabilidad de semillas de cinco especies forestales almacenadas al medio ambiente, evaluado por Cabezas (1995), quien encontró que a 24°C y 33% de humedad relativa promedio, en bolsas de papel kraft, las semillas de *Cordia alliodora*, deben ser utilizadas durante los primeros 60 días y las semillas de *Tabebuia rosea*, *Roseodendron donnell smithii* y *Andira inermis* durante los primeros 30 días.
- Pruebas de almacenamiento de semillas de especies de árboles tropicales, realizado por González & Fisher (1995), quienes reportan que las semillas de *Virola koschny* y *Vochysia guatemalensis* no toleraron la reducción en el

contenido de humedad con ningún método; las semillas de *Hieronyma alchorneoides* toleraron la reducción de humedad hasta menos del 10%, pero tanto el contenido de humedad como la temperatura de almacenamiento afectaron la viabilidad.

- Müller (1995) en su estudio sobre almacenamiento de semillas de cuatro especies forestales (*Stryphmodendron excelsum*, *Vochysia guatemalensis*, *Vochysia ferruginea* y *Dipteryx panamensis*) nativas de la Región Huetar Norte de Costa Rica, sugiere como mejor opción almacenar las semillas a 15°C con alto contenido de humedad, por ejemplo en aserrín húmedo, para lograr mantener la viabilidad por tres meses, a pesar de los problemas de germinación que se pueden presentar.
- Almacenamiento de semillas de Ramón (*Brosimum alicastrum*), realizado por Puente (1995), quien almacenó las semillas a 65% de humedad relativa, temperaturas de 26 y 15°C en 4 envases (polipropileno sin carbón y con carbón, polietileno calibre 300 con carbón y lámina de aluminio con carbón), encontrando que los mejores tratamientos a los 4 meses de almacenamiento fueron el ambiente natural a 26°C y los envases de polietileno y aluminio con porcentajes de emergencia de 34 y 45%.
- Comportamiento en el almacenamiento de semillas intermedias del Árbol de Neem en Burkina Faso, realizado por Sacandé, *et al.* (1996), quienes mantuvieron semillas de frutos verdes y amarillos, a temperaturas de 20, 32 y 55°C con 75% de humedad relativa en tambores con circulación de aire; encontrando que el mejor resultado se obtuvo con semillas extraídas de frutos amarillos y almacenadas a 55% RH y 20°C. Bajo estas condiciones las semillas permanecieron viables por un año.
- Osmocondicionamiento, secado y almacenamiento de semillas de *Esenbeckia leiocarpa* Engl (guarantã), *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus grandis* W. Hill (ex Maiden), realizado por Torres (1995), quien utilizando un potencial osmótico de 0, -0.2, -0.4 y -0.6 MPa inducidos con agua destilada y polietilenoglicol 6000) secado (con papel toalla y con secador capilar) y almacenamiento (a 5° y 20°C en frascos de vidrio sellados con papel parafilm alrededor de la tapa de hule), obtuvo mejor conservación de las semillas cuando no se secan al aire, después del osmocondicionamiento y son almacenadas a 5°C.
- Influencia de la luz, profundidad de siembra y almacenamiento de *Passiflora edulis*, realizado por Aular, Bautista & Maciel (1996), quienes utilizando temperaturas de 5 y 26°C en envases cerrados observaron que la emergencia total tiende a reducirse al disminuir la temperatura y la duración

del almacenamiento; entre el 10 y el 90% de la emergencia total tiende a disminuir al aumentar la duración del almacenamiento y el período desde siembra hasta el 50% de la emergencia total tiende a disminuir al aumentar la duración y la temperatura de almacenamiento.

- Desecación, almacenamiento y germinación de semillas de *Genipa americana*, desarrollado por Salomão (2004), quien reportó que la temperatura óptima para la germinación de las semillas es 30°C, el contenido de humedad crítico para las semillas estuvo entre 9 a 6%; la capacidad germinativa fue mantenida durante un año a través de un almacenamiento a temperaturas de 5, 10 y 15°C, al 11% de humedad. Así mismo, se dio una drástica reducción de la viabilidad después de la exposición a -20°C, sugiriendo un comportamiento de tipo intermedio para las semillas.
- Germinación de Semillas de *Zizyphus mistol* Grisebach I. Viabilidad durante el almacenaje en frío y a temperatura ambiente, realizado por Aráoz, Del Longo & Karlin (2004), quienes a 7% de humedad, en envases plásticos y temperaturas de 4° y 30°C, encontraron que el porcentaje de germinación se mantuvo durante 21 meses tanto a 4°C como a temperatura ambiente, comenzando a declinar en ésta última condición a los 24 meses; la velocidad de germinación disminuyó a partir de los 9 meses de almacenamiento en ambas condiciones pero en forma más acentuada a temperatura ambiente.
- Rompimiento de la dormancia y temperatura óptima de almacenamiento en semillas de *Cassia fistula*, realizado por Karaboon, *et al.* (2005), los cuales utilizando temperaturas de 15, 28 y 37°C al 60% de humedad relativa en cubos plásticos, encontraron que la escarificación ácida es óptima para romper la dormancia de estas semillas y que el almacenamiento a 28°C es adecuado para un periodo de almacenamiento de 12 semanas.
- Cambios en carbohidratos solubles durante el almacenamiento de semillas de *Caesalpinia echinata*, realizado por García, *et al.* (2006), quienes a 6°C, 85% de humedad y 25°C a 80% de humedad en bolsas de papel y frascos de vidrio, encontraron los niveles más altos de monosacáridos en semillas almacenadas a baja temperatura; los valores de glucosa y fructosa fueron constantes en semillas almacenadas en bolsas de papel por 18 meses a baja temperatura, decreciendo consistentemente en los tratamientos a temperatura ambiente y en frascos de vidrio. Concluyen que pérdida de germinabilidad de las semillas se podría asociar a bajos niveles de glucosa y fructosa en relación con la sacarosa.

- Deterioro de la semilla de *Swietenia macrophylla* de dos procedencias bajo distintos métodos de almacenamiento, desarrollado por Gómez, *et al.* (2006), los cuales trabajaron con un contenido de humedad al 14, 12 y 10%, contenedores de metal, bolsa plástica y costales de fibra de agave, almacenadas en cámara fría y a temperatura ambiente; encontrando que la viabilidad está relacionada con el contenido de humedad y es influenciada por el tipo de envase. El envase “lata” fue el mejor, almacenado en cámara fría. Los ácidos grasos insaturados agilizaron el proceso de deterioro de la calidad fisiológica de la semilla.

Los estudios realizados en el Quindío se han desarrollado en semillas forestales de tipo ortodoxo con mayor éxito al almacenar a temperaturas de 5°C y -20°C, utilizando empaques de vidrio, plástico y aluminio durante un lapso entre 120-180 días.

En Colombia, los estudios han incluido tratamientos pregerminativos para las semillas y experiencias para la conservación de más de cien especies forestales principalmente nativas. Sin embargo la heterogeneidad de semillas forestales no permite homologar una misma técnica de almacenamiento, ya que según el tipo de semilla pueden mostrar un buen comportamiento de almacenamiento o deteriorarse rápidamente en condiciones similares.

A nivel mundial se ha trabajado con distintas especies forestales, principalmente ortodoxas, se ha ensayado variedad de recipientes (bolsas de papel, polipropileno, polietileno, aluminio, vidrio, plástico, metal, fibra vegetal), conservación a temperaturas entre 4-26°C, rangos de humedad de 6 a 85% y periodos que van desde 2 hasta 21 meses de almacenamiento. Se han estudiado aspectos como el osmocondicionamiento, influencia de la luz y profundidad de siembra en la germinación, rompimiento de dormancia, cambios en carbohidratos solubles y ácidos grasos en el almacenamiento.

Se tiene el reporte de almacenamiento de semillas intermedias del árbol del Neem (*Azadirachta indica*) por un año a 20°C y 55% de humedad relativa; además de un estudio sobre almacenamiento de semillas de *Genipa americana* en el que se recomienda utilizar temperaturas entre 5-15°C y 11% de humedad.

En síntesis, la investigación sobre semillas forestales, si bien ha recopilado un número importante de estudios sobre almacenamiento, muy recientemente se está empezando a enfatizar sobre especies tropicales con semillas de tipo intermedio.

3. MARCO TEÓRICO

La conservación del germoplasma de especies forestales es necesaria para el mantenimiento de la diversidad de los ecosistemas de bosque tropical de la región. Estas especies brindan gran cantidad de productos y servicios a los humanos y a los ecosistemas; sin embargo, su alto valor comercial las tiene en peligro de extinción por la acción antrópica.

3.1. ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS

Mientras está universalmente aceptado que el mecanismo más efectivo y eficiente para la conservación es la protección de los hábitats, también está reconocido que las técnicas de conservación *ex situ* constituyen componentes críticos en un programa de conservación global (Iriondo, 2001).

Los bancos de semillas representan uno de los métodos más efectivos de conservación *ex situ*, eficiente en términos de tiempo y espacio (Gold *et al.*, 2004); sin embargo, las muestras de semillas de plantas silvestres almacenadas en bancos de germoplasma suponen menos del 2 % del total de germoplasma almacenado, destinado esencialmente a plantas cultivadas (Iriondo, 2001).

La conservación en bancos de semillas consiste en secar las semillas hasta bajos niveles de humedad y almacenarlas a bajas temperaturas. Este método es apto para un gran número de especies con semillas ortodoxas, las cuales toleran la desecación. Sin embargo, las semillas de otras especies menos representadas en la flora como lo son las intermedias, toleran parcialmente la desecación y las recalcitrantes son bastante sensibles a la desecación (Gold *et al.*, 2004).

El objetivo del almacenamiento *ex situ* para conservar especies forestales es mantener la calidad genética y fisiológica inicial del germoplasma hasta que este sea usado o regenerado. La recolección de una buena cantidad de semillas por muestra permite su uso en conservación, investigación y restauración ecológica (Gold *et al.*, 2004). El logro de lo anterior requiere considerar los factores genéticos y ambientales que afectan el germoplasma en el almacenamiento (FAO, FLD, IPGRI, 2004).

La calidad de las semillas está dada fundamentalmente por su capacidad para germinar y producir una planta normal y está determinada por un complejo de condiciones que son el producto de las interacciones más favorables entre las

posibilidades genéticas de la especie y el medio bajo el cual las semillas son producidas, cosechadas, procesadas y almacenadas. Así las semillas almacenadas requieren de ciertas condiciones que de no estar presentes, pueden hacer perder la viabilidad y disminuir la germinación ulterior de la semilla cosechada (Febles *et al.*, 2006).

Los efectos del procesamiento sobre la calidad de la semilla varían de acuerdo con el grado de madurez del fruto en el momento de la recolección, del contenido de humedad de la semilla y del manejo y tratamiento que hayan recibido antes del procesamiento (Allen, 1957, citado por Vargas *et al.*, 2004).

El primer componente de la calidad que muestra señales de deterioro es el vigor de las semillas, seguido por una reducción en la germinación o de la producción de plántulas normales, y finalmente la muerte de las semillas (Salinas *et al.*, 2001).

En el estado de madurez fisiológica las semillas alcanzan normalmente su máxima calidad representada por el peso seco, potencialidad de germinación y vigor. A partir de ese estado comienza una disminución progresiva de su calidad fisiológica. El progreso del deterioro varía entre especies, entre lotes de semillas de la misma especie y entre semillas del mismo lote. Una vez cosechadas las semillas se deben almacenar bajo condiciones que reduzcan al mínimo la velocidad de deterioro (Aráoz *et al.*, 2004).

Es conocido que los factores que en estrecha interrelación pueden conducir al deterioro, la pérdida del vigor y de la viabilidad total o parcial son: la temperatura, la humedad, la presión de oxígeno, las bacterias, los hongos, los insectos y los roedores (Febles *et al.*, 2006).

Desde un punto de vista práctico, hay dos factores críticos para el almacenamiento de semillas: el contenido de humedad de la semilla y la temperatura de almacenamiento.

El contenido de humedad final de las semillas depende de la especie y del ambiente externo (FAO *et al.*, 2004). Esto tiene importantes implicaciones para las propiedades de almacenamiento de las semillas.

Las temperaturas óptimas para el almacenamiento varían de acuerdo con la fisiología de los diferentes grupos de especies; por lo que el mejor método de conservación depende de las características de almacenamiento de las semillas (Vargas *et al.*, 2004).

3.2 SEMILLAS INTERMEDIAS

Una categoría de comportamiento de las semillas en almacenamiento ha sido demostrada recientemente con semillas de café, palma aceitera, papaya y neem. En esta categoría de semillas intermedias también se encuentra *Genipa americana*. La principal característica de este comportamiento es cierta sensibilidad a la desecación hasta un nivel de humedad relativamente bajo de 7 a 10% (en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 30-50%) (Vázquez *et al.*, 1997). Sin embargo, las semillas, una vez desecadas, se dañan al someterlas a bajas temperaturas y su viabilidad desciende rápidamente durante el almacenamiento (Ellis *et al.*, 1990, citado por Iriondo, 2001).

Según Stanislav & Plaza (2007), entre 10% y 12,5% de contenido de humedad se consideran intermedias.

El grupo intermedio no se encuentra aún bien definido, pero probablemente un cierto número de semillas de árboles forestales pertenecen a éste y parece que el grupo intermedio aumentará cuando se hagan investigaciones en más especies forestales. Hasta ahora sólo se han encontrado semillas intermedias en especies leñosas, por lo que hay que determinar el comportamiento de las especie en cuanto al secado y manejar cada especie según el caso (Jara, 1996).

A pesar de esto, es posible almacenar las semillas "intermedias" por periodos de alrededor de 10 años, desecándolas hasta un 7-10% de contenido de humedad, y manteniéndolas a la temperatura de un laboratorio (Vázquez *et al.*, 1997).

Aún se ha investigado poco sobre las especies tropicales, especialmente las forestales y posiblemente podría prolongarse la vida de las semillas si se pudiera determinar, respecto de cada especie, la combinación idónea de madurez de la semilla, velocidad, condiciones y grado del secado y temperatura de almacenamiento más adecuada (FAO, 1991).

3.3 SUSTRATOS DE ALMACENAMIENTO

La sílica gel es anhídrido silícico, aunque amorfo es obtenido a través de un proceso industrial. Tiene una textura granular, es blanco con muchos poros, lo que le confiere sus propiedades absorbentes. Cuando se deshidrata puede absorber más del 20% de su propio peso en agua. Si se ubica en un contenedor cerrado, su balance con la atmósfera confinada alcanza aproximadamente 10-12% de

humedad relativa. El color mostrado por la sílica gel es debido a un indicador añadido; el más usado ha sido el cloruro de cobalto. Esta sustancia le da al gel deshidratado un color azul y un rosa pálido cuando ha absorbido la humedad. Puede alcanzar niveles de humedad de 2-3% más bajos que los obtenidos por la mayoría de desecadores y los mantiene indefinidamente en contenedores herméticos; advierte de posibles anomalías en el contenedor cuando se usa en combinación con un indicador de color. Es posible regenerarla si se usa después de un proceso de deshidratación con calor. Retrasa el envejecimiento por absorción de gases tóxicos producidos durante el proceso (Gómez, 2007).

La Torlita, conocida comúnmente como vermiculita, es un mineral laminar que tiene la apariencia de la Mica y contiene agua interlaminada. Está compuesta básicamente por Silicatos de Aluminio, Magnesio y hierro. Su característica principal es que al calentarla a una temperatura determinada, su capacidad de expansión o exfoliación produce que aumente de ocho a veinte veces su volumen original. La vermiculita es limpia, no tóxica y estéril. No se deteriora ni se pudre. Es neutra (pH = 7,2). Es muy liviana en peso. Su poder absorbente actúa como regulador que previene el moho y la fluctuación de humedad durante el periodo de almacenamiento. Resiste amplias variaciones de temperatura, retiene la humedad pero no se satura de agua, por su estructura porosa. Es utilizada en horticultura para mejorar la germinación y desarrollo de las semillas.

3.4 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Genipa americana L, pertenece a la familia Rubiaceae. Conocido comúnmente como jagua, guaitíl, árbol de tinta o turma de toro. Sinonimias: *G. oblongifolia* R. & P., *G. excelsa* Krause y *G. americana* var. *caruto* Schum y *Genipa caruto* H.B.K. Es un árbol dioico de 10 a 25 m de altura y 30 a 80 cm de diámetro, (Figura 1a) ramifica hasta 50% de su altura; fuste recto, cilíndrico, ramas oblicuamente ascendentes; copa umbelada o redondeada; follaje denso y pesado (Salazar-Figueroa, 1999). Corteza lisa y gruesa, color gris claro con fisuras horizontales (Mendoza *et al.*, 2004). Hojas simples, opuestas, agrupadas al final de las ramas, 10 a 35 cm de largo y 7.8 a 18 cm de ancho, oblongo-ovobadas (Figura 1b), coriáceas (Mendoza *et al.*, 2004), color verde oscuro (Francis, 1993), con dos estípulas interpeciolares que dejan cicatrices al caer (Jøker *et al.*, 2003), peciolo de 0.5 a 1 cm de largo; haz verde oscuro, glabro y envés verde claro, pubescente. Madera dura, pesada, albura color crema y duramen pardusco violáceo (Salazar-

Figuroa, 1999). Inflorescencias en cimas axilares o terminales, 5 a 10 cm de largo; flores blanco-amarillentas, 2.5 a 4 cm de largo; cáliz tubular, verde oscuro; corola con pétalos unidos formando 5 lóbulos anchos, color amarillo pálido; 5 estambres unidos a la corola (Figura 1d), ovario ínfero (Salazar-Figueroa, 1999). Fruto tipo baya sub-globosa (Figura 1c), 9 a 15 cm de largo y 6.5 a 8.5 cm de diámetro, peso 200-400 g, con cáliz persistente (Jøker *et al.*, 2003) y brevemente afilada al final del pedúnculo con un corto tubo hueco en el ápice (Morton, 1987); corteza coriácea, olor agrio y pulpa suave amarillo-marrón con 1-2 cm de espesor (Jøker *et al.*, 2003); pared del fruto delgada y áspera, con capa delgada al interior de 1 a 2 cm, pulpa suave amarillo-marrón; cavidad central con más de 300 semillas, encerradas en membranas dispuestas en hileras alrededor de un núcleo central (Jøker *et al.*, 2003). Semillas duras, marrón-oscuro (UNCTAD y BTFP, 2005), forma plana a irregular, a veces rectangular (Salomão, 2004), 10 a 12 mm de largo, cubiertas con fibras internas del mesocarpo (Jøker *et al.*, 2003); cubierta delgada y marrón-amarillenta y endospermo amarillo-blanquecino (Salomão, 2004) Se cuentan 10.000 en un kg (Jøker *et al.*, 2003; UNCTAD, 2005). Germinación alta, pero con lento desarrollo inicial (UNCTAD, 2005).

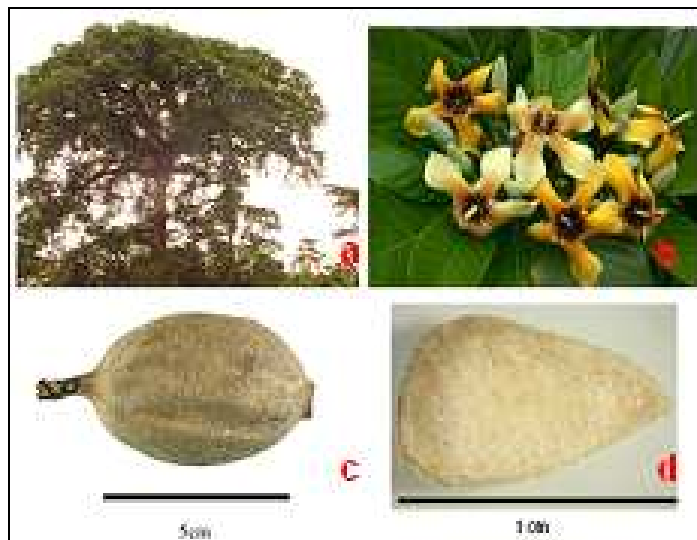


Figura 1. Características sobresalientes de *G. americana*. a. Hábito de crecimiento, b. Rama con flores. c. Fruto, d. Semilla.

Probablemente es originario de la Cuenca Amazónica y se esparció a través de los Trópicos Americanos por los humanos en la prehistoria. Crece naturalmente a lo largo de ambas costas en México al norte del Istmo de Tehuantepec, a través

de América Central y norte de América del Sur hasta Paraguay y norte de Argentina. También se puede encontrar en las Antillas Mayores (a excepción de Jamaica) y en varias de las Antillas Menores (Francis, 1993) (Figura 2). Es una especie heliófita de bosques semidecíduos; su distribución altitudinal varía de 0 a 1200m, con precipitaciones de 850- 3000 mm anuales y temperatura promedio anual entre 20-27°C (Salazar-Figueroa 1999). Prefiere áreas con suelo ligeramente ácido (UNCTAD, 2005), moderadamente profundo, de fertilidad media a elevada, bien drenado y textura franca a arcillosa (Salazar-Figueroa 1999).



Figura 2. Distribución actual de *Genipa americana* L. Fuente: Francis (1993).

G. americana florece asincrónicamente de manera periódica cada 3-4 meses, por lo que un individuo puede presentar flores durante gran parte del año (Arias *et al.*, 2006, Orozco & Gómez, 2006). No se tiene certeza en la estrategia de polinización de las flores, ya que Joker *et al.* (2003) mencionan que las abejas son quienes las polinizan; mientras que Orozco & Gómez (2006) proponen que la autopolinización puede ser el mecanismo de reproducción de la especie, debido al desarrollo similar y simultáneo de los estambres y el gineceo.

Fructifica durante todo el año y un mismo individuo puede poseer frutos en todos los estados de crecimiento debido a la periodicidad en la floración y a la larga durabilidad de los frutos (Arias *et al.*, 2006, Orozco & Gómez, 2006). La especie produce frutos en abundancia: 400 a 600 frutas por año a los 15 o 20 años de edad (Francis, 1993).

Orozco *et al.* (2002), mencionan que los frutos tardan hasta un año para madurar, incluso duran en el árbol hasta 26 meses; su crecimiento y desarrollo es difícil de precisar, ya que depende del tamaño y condiciones climáticas, pues crece por cortos periodos y entra en latencia varias veces al año. Los frutos caídos en estado verde son difíciles de descomponer por su dureza, y la degradación dura hasta 6 meses.

Los frutos son dispersados por el agua o por animales que se alimentan de la pulpa que rodea las semillas (Jøker *et al.*, 2003). Dentro de la fauna asociada Arias *et al.* (2006) y Orozco & Gómez (2006), observaron la presencia de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*) que consume el follaje y frutos de esta especie.

Se han reportado semillas en las heces de monos (especies no especificadas) y coyotes (*Canis latrans*) en Costa Rica. Probablemente un gran número de mamíferos salvajes y domésticos, aves y murciélagos ayudan en la dispersión de las semillas (Francis, 1993).

La producción de semillas es masiva y su dispersión es extensa, sin embargo, en estado silvestre se encuentran pocas plántulas en estado avanzado probablemente debido a un requerimiento de reducción de la cobertura vegetal para su establecimiento, ya que la especie no tolera la sombra densa. La especie es en su mayoría un componente menor en bosques primarios, creciendo por lo usual como árboles solitarios. En contraste, la especie es común en tierras previamente usadas para la agricultura, en particular en la cercanía de viviendas ya sea en uso o en desuso (Francis, 1993).

La especie presenta diversos usos desde medicinal y alimenticio hasta producción de materia prima, los cuales se mencionan a continuación:

La decocción de la raíz es un fuerte purgante (Morton, 1987).

La corteza, rica en tanino (Francis, 1993), es usada para curtiembres (Francis, 1993 y Jøker *et al.*, 2003).

La madera es de buena calidad y fácil de trabajar, moderadamente difícil de preservar y secar y es susceptible al ataque de termitas de madera seca (Francis, 1993 & Jøker *et al.*, 2003). Es utilizada para múltiples propósitos como: Postes, lanzas, provisiones de fusil, aros de barriles, cajas, embalaje, arados, (Morton, 1987), mangos de herramienta, artículos torneados, materiales para ebanistería, pisos, paneles (Francis, 1993), armarios, construcciones livianas, leña y usos menores (Jøker *et al.*, 2003).

En 1970 una patente estadounidense fue archivada mostrando que la savia de *G. americana* evidenció acciones antileucémicas en estudios animales (Morton, 1987).

Una preparación hecha del árbol tiene la reputación de ser la única sustancia natural capaz de remover el pez parasítico de la América del Sur de tamaño extremadamente pequeño (*Vandellia* sp.) que penetra los orificios del cuerpo humano (Francis, 1993).

Las hojas se utilizan en casos de disentería, gonorrea y como astringentes (Mendoza *et al.*, 2004); además sirven como forraje para ganado (Morton, 1987).

Las flores cocidas sirven como tónico y febrífugo (Mendoza *et al.*, 2004); son usadas para producción de aceites aromáticos (Jøker *et al.*, 2003) y producen néctar para abejas mieleras (Francis, 1993).

El fruto es empleado en Brasil para elaborar una bebida popularizada (Genipapo) (Mendoza *et al.*, 2004); además es utilizado para preparación de bebidas frías, jalea, sorbete, conservas dulces, almíbar, vino y helados (Morton, 1987); igualmente como alimento de animales domésticos y silvestres (Francis, 1993), repelente de insectos (Morton, 1987), para teñir telas (Francis, 1993); para extracción de dientes (Mendoza *et al.*, 2004). Uso medicinal como vermífugo, diurético, febrífugo (Morton, 1987), sanación de heridas y pequeñas úlceras (Francis, 1993). Científicos de Puerto Rico investigaron la presencia de principios antibióticos y probaron la existencia de actividad antibiótica en todas las partes del fruto (Morton, 1987).

En tiempos pre-colombinos las tribus indígenas de la amazonía extraían de los frutos verdes un tinte morado o azul que utilizaban como pintura corporal (Mendoza *et al.*, 2004 & Jøker *et al.*, 2003); este era un uso muy común y probablemente la razón para la amplia distribución de la especie (Jøker *et al.*, 2003).

Las semillas pulverizadas son vomitivas y cáusticas (Morton, 1987).

La jagua ha sido utilizada como especie promisoría en modelos de recuperación de áreas degradadas en ambientes del Estado de São Paulo (Silva *et al.*, 1989, citado por Andrade, *et al.*, 2000).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

El Departamento del Quindío se localiza en la región centro occidental del país, entre el costado izquierdo de la cordillera central y el Valle del Río Cauca, sus coordenadas geográficas son 4° 4' y 41" y 4° 43' y 18" de Latitud Norte y entre los 75° 23' 41" y 75° 53' 56" de Longitud Oeste. Sus límites son: Al norte con el departamento de Risaralda en una longitud de 32 kms, al Este con el departamento del Tolima en una longitud de 90 kms, al Oeste con el departamento de Valle del Cauca en una longitud de 105 kms y al sur con Valle del Cauca y Tolima. Comprende una superficie de 1.961, 8 km², la cual representa el 0.2% de la superficie nacional; de ésta, 38.1 km² corresponde a áreas urbanas en las cuales se concentra aproximadamente el 83% de la población del departamento. El Quindío se divide político administrativamente en 12 municipios, siendo estos Armenia (capital del departamento), Buenavista, Calarcá, Córdoba, Circasia, Filandia, Génova, La Tebaida, Montenegro, Pijao, Quimbaya y Salento (PGAR Quindío 2003-2012).

La posición de la nación en la zona tórrida del globo ha determinado la riqueza y variedad de climas y su ubicación en la cordillera de los Andes, con alturas que se encuentran entre los 900 y 3000 metros de altura, donde convive una amplia diversidad de especies animales y vegetales pertenecientes a regiones cálidas, templadas y frías, que determinan su producción e identidad ambiental. La temperatura media de las poblaciones del departamento oscila entre los 18 y 23°C siendo los municipios más cálidos La Tebaida y Quimbaya (PGAR Quindío 2003-2012).

Para el presente trabajo el muestreo se llevó a cabo en la zona cálida del departamento del Quindío, entre los 900 y los 1100 msnm (Tabla 1, Figuras 3-9).

Tabla 1. Zonas de muestreo de *G. americana* en del departamento del Quindío.

Zonas de muestreo			
Municipio	Vereda	Finca, Hda o Reserva	Ubicación
Quimbaya	Puerto Alejandría	Hda La Leyenda.	4° 38' 565" N y 75° 50' 895" O 1004 msnm
Quimbaya	El Laurel	Reserva La Montaña del Ocaso.	4° 34' 08" N y 75° 51' 03" O 1000 msnm
Montenegro	Puerto Samaria	Finca La Tolda	4° 33' 367" N y 75° 52' 612" O 1066 msnm
Montenegro	San Pablo	Hda. San Pablo Puente sobre el Río La Vieja.	4° 28' 658" N y 75° 52' 758" O 1068 msnm
Pijao	La Moravita	Hda Las Acacias. Bosque en margen izquierda carretera Barcelona antes de Barragán.	4° 38' 565" N y 75° 50' 895" O 1074 msnm
Caicedonia	*El Verdun	Finca Montegrande	

*Nota: Debido a la escasez de individuos con frutos maduros necesarios para el muestreo, se tomó material hacia el municipio de Caicedonia, por no encontrarse árboles de la especie propiamente en el municipio de Tebaida, el cual se encuentra dentro de la zona cálida del departamento.

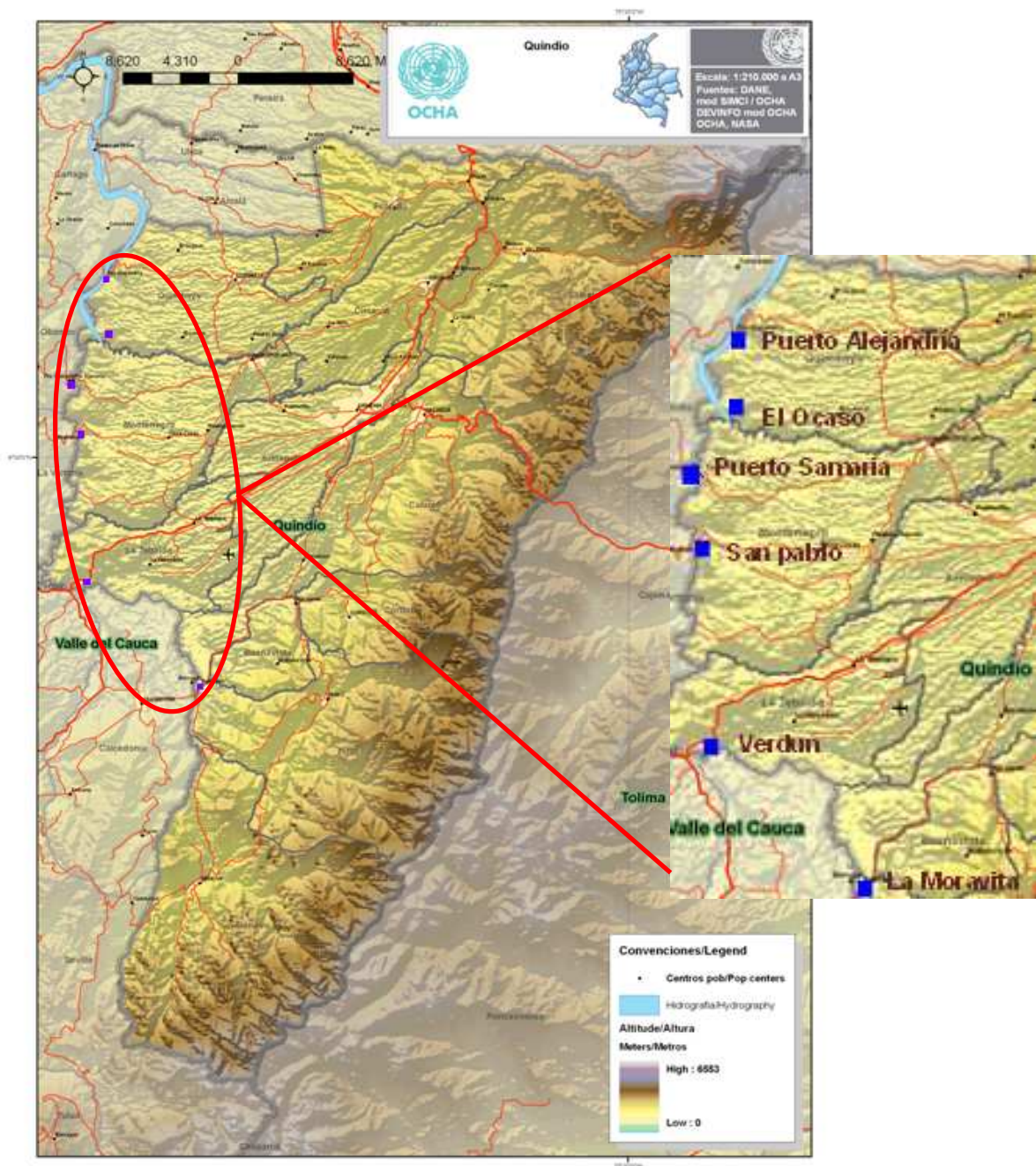


Figura 3. Sitios de muestreo de *Genipa americana* en el departamento del Quindío representados por cuadros de color azul. Fuente: OCHA, 2006.

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Fase de campo

Previo a la colecta de los frutos se revisó el material del Herbario Universidad del Quindío (HUQ), con el fin de ubicar los sitios de muestreo para la especie en el Departamento, posteriormente se hizo un premuestreo para la identificación de fuentes semilleras y realizar un seguimiento del estado de madurez de los frutos para la colecta.

4.2.1.1 Cosecha de frutos

Se colectaron frutos maduros de individuos de la especie, que estuviesen en periodo de fructificación durante un periodo de 3 meses, entre febrero y abril de 2009. De cada procedencia se colectaron aproximadamente 20 frutos maduros o cercanos a la maduración que no presentaran señales de deterioro, para un total de 120 frutos. En los sitios de muestreo los frutos fueron colectados directamente del árbol con un cortarramas; se muestrearon uno o dos individuos, ya que se encontraron pocos árboles semilleros, los cuales aunque estaban en fructificación, presentaban en su mayoría frutos inmaduros. Para individuo se registraron medidas de diámetro y altura. Igualmente se tomaron las coordenadas geográficas del sitio de muestreo con un GPS para tener ubicados los árboles semilleros.



Figura 4. Colecta material de la Hacienda La Leyenda, Vereda Puerto Alejandría, municipio de Quimbaya.



Figura 5. Colecta material de La Reserva La Montaña del Ocaso, Vereda El Laurel, municipio de Quimbaya.



Figura 6. Colecta material de La Finca La Tolda, Vereda Puerto Samaria, municipio de Montenegro.



Figura 7. Colecta material alrededores de Puente sobre el Río La Vieja, Vereda San Pablo, municipio de Montenegro.



Figura 8. Colecta material Finca Montegrande, Vereda Verdun, Municipio de Caicedonia.



Figura 9. Colecta material Hacienda Las Acacias, Vereda La Moravita, municipio de Pijao.

Para el transporte del material colectado al sitio de procesamiento se utilizaron bolsas plásticas con aberturas laterales, con el fin de permitir una buena ventilación de los frutos; las cuales estaban debidamente etiquetadas.

4.2.1.2. Estado de maduración del fruto

Con el fin de identificar el estado de maduración óptimo del fruto y trabajar con semillas bien desarrolladas se hicieron mediciones de 60 frutos, 10 de cada sitio de muestreo, para la determinación del tamaño y peso adecuados (Figura 10).



Figura 10. Estados de maduración del fruto de *Genipa americana* para el departamento del Quindío.

Los demás frutos colectados fueron descartados por tener tamaños muy pequeños o porque no llegaron a la madurez. Se tuvo en cuenta el ancho y largo, peso y número de semillas por fruto. Se utilizó un calibrador pie de Rey y una balanza digital Navigator Ohaus con 0.1g de precisión. También se registraron características organolépticas como color, olor y consistencia de los frutos.

4.2.2 Fase de laboratorio

4.2.2.1 Presecado y limpieza

En material colectado se ingresó al laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad del Quindío (Anexo B). Una vez allí, se extrajeron las semillas a partir de los frutos, abriéndolos con un cuchillo.

La limpieza de las semillas se realizó retirando todo tipo de material de desecho que no hiciera parte de la semilla como tal, inspeccionando las semillas para detectar presencia de manchas oscuras en la semilla que indicaran daño interno, daño por hongos o insectos, y excluyendo las semillas infestadas o deterioradas del resto del material.

Después de limpiar las semillas con un cepillo de cerdas suaves, se secaron a la sombra donde circulara el aire y evitando el calor, dispuestas en capas delgadas sobre hojas de papel absorbente (Rao *et al.*, 2007) durante 3 horas.

4.2.2.2. Evaluación inicial de la calidad

Las pruebas de calidad se realizaron de acuerdo a los protocolos establecidos por *Rao et al.* (2007) que se mencionan a continuación y a su vez se diligenciaron los formatos de registro correspondientes (Anexos C y D).

4.2.2.2.1 Valoración del contenido de humedad

Para esta prueba se tomaron 40 semillas de cada procedencia para un total de 240 semillas. Cada grupo de 40 semillas se dividió en dos partes iguales, las cuales fueron secadas por dos métodos diferentes: 20 semillas con sílica gel y 20 con torlita. En los dos casos las semillas se introdujeron en frascos de vidrio con selle hermético que contenían en el fondo sílica gel autoindicador azul o torlita, según el caso. Para que las semillas no estuvieran en contacto directo con el agente de secado se colocó un trozo de papel filtro entre ambos. El peso del gel de sílice utilizado fue igual al de las semillas (*Rao et al.*, 2007) y la cantidad de torlita correspondió al volumen que ocuparon 20 semillas. Cuando el gel presentó cambio de coloración de azul intenso a rosado o azul pálido se reemplazó.

El contenido de humedad (CH) se determinó pesando las semillas en una balanza digital Professional-Scale LT Series (Figura 11) con una precisión de 0.1 g y capacidad de 500g. Se tomaron datos de peso por 3 días consecutivos a las siguientes horas de secado: 0, 3, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 36, 48 y 72 horas.



Figura 11. Balanza digital Professional-Scale LT Series utilizada en la toma de contenido de humedad.

Esto con el fin de determinar en qué tiempo las semillas alcanzaban un peso estable, que indicara un contenido de humedad crítico entre 10-13%; es decir el nivel por debajo del cual la reducción adicional en el contenido de humedad no aumentaría la longevidad de las semillas en almacenamiento hermético (Rao *et al.*, 2007).

El Contenido de humedad (CH) se expresó en términos del peso del agua contenida en una semilla como porcentaje del peso total de la semilla antes del secado, conocido como peso húmedo o como base de peso fresco (pf) (International Seed Testing Association [ISTA], 2005).

$$\text{CHS (\% pf)} = \frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{peso fresco}} \times 100$$

4.2.2.2 Viabilidad

La estimación del porcentaje de viabilidad de las semillas de *G. americana* se realizó con muestras de 30 semillas de cada sitio de procedencia, para un total de 180 semillas.




Se hizo un corte longitudinal de las semillas con una cuchilla separando los cotiledones (previa hidratación por 2 días en agua destilada, Figura 12a). Se desechó la mitad de cada semilla y la otra mitad se cubrió con solución de tinción de tetrazolio al 1% en cajas petri (Figura 12b); éstas a su vez se sellaron con papel aluminio simulando oscuridad y se mantuvieron a temperatura. Posteriormente las semillas se lavaron con abundante agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se evaluó el patrón de tinción de las semillas a simple vista (Figura 12c).



Figura 12. Prueba de viabilidad con tetrazolio al 1% de las semillas de *G. americana*. a. Hidratación de las semillas para ablandar la testa, b. Disección de las semillas. c. Tinción de la semilla.

Para facilitar la interpretación de la tinción, las semillas se clasificaron en tres categorías como se muestra a continuación en la tabla 2.

Tabla 2. Categorías de viabilidad de las semillas de *G. americana* según el patrón de tinción.

Categoría	Color	Porcentaje de Viabilidad
I. Semillas totalmente teñidas que son viables.		≥75%
II. Semillas parcialmente teñidas que pueden germinar o no según la intensidad y patrón de tinción.		50-74%
III. Semillas libres de coloración que no son viables.		>50%

4.2.2.2.3 Germinación

Se tomó al azar una muestra de 60 semillas de *G. americana* de cada procedencia, para un total de 360 semillas.

Previo a la germinación las semillas se mantuvieron durante 10 minutos en un recipiente con 2 ml de Tween 20, luego se enjuagaron con abundante agua; seguidamente se dejaron en alcohol comercial por 10 minutos y se enjuagaron. Por último se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial durante 15 min, y finalmente se enjuagaron con abundante agua cuidando que no quedaran restos de agentes de lavado en las semillas a utilizar.

Posteriormente, las semillas se ubicaron en cajas petri, previamente esterilizadas con alcohol al 70%; se colocó el papel sustrato en la parte inferior, cortado según el tamaño y la forma del recipiente. Se agregó un volumen de agua destilada

según el grosor del papel sustrato. Las semillas se dispersaron uniformemente de modo que no quedaran en contacto unas con otras; a una distancia de 3 a 5 veces el diámetro de la semilla. Se utilizó cinta de enmascarar para sujetar las tapas de cada recipiente y evitar que las semillas se contaminaran por esporas de hongos dispersas en el aire. Cada caja petri portó un rótulo sobre la cinta de sellado con los datos del nombre de la especie, tipo de tratamiento y la fecha de inicio de la prueba (Figura 13). Las semillas se dejaron en luz a temperatura ambiente. Cada 3 o 4 días el sustrato se roció con 12 gotas de agua destilada y se hicieron los respectivos conteos número de semillas germinadas por día, basado en una longitud de la radícula superior a 0.5cm.



Figura 13. Prueba de germinación de semillas de *G. americana* en cajas petri y papel secante.

Se calculó el porcentaje de germinación (PG), la tasa de germinación (TG) y el índice de velocidad de germinación (IVG) conforme a lo indicado por Maguire (1962), citado por Otegui *et al.* (2007).

Para determinar el porcentaje de germinación se realizaron observaciones diarias a partir del día 15 después de la siembra, momento en la cual fue observada la emergencia de las plántulas mediante conteos realizados durante 32 días. Su cálculo se realizó de la manera siguiente:

$$PG = (N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}) / (N^{\circ} \text{ de semillas sembradas}) \times 100$$

Para el cálculo de la tasa de germinación se utilizó la siguiente ecuación

$$TG = (N_1 \times T_1 + N_2 \times T_2 \dots + N_n \times T_n) / (N^{\circ} \text{ de semillas germinadas totales})$$

Donde: N_n = N° de semillas germinadas en el día n .

T_n = tiempo expresado en días.

El IVG se calculó mediante la ecuación:

$$IVG = P_1 / T_1 + P_2 / T_2 + P_3 / T_3 + \dots + P_n / T_n$$

Donde, $P_1, P_2, P_3, \dots, P_n$ = número de semillas germinadas en el primer, segundo, tercer y último conteo de la evaluación.

$T_1, T_2, T_3, \dots, T_n$ = tiempo para cada germinación.

4.2.2.3. Secado de las semillas

Se realizó con la metodología descrita por Rao *et al*, 2007. Previo al almacenamiento, las semillas fueron dispuestas sobre papel secante al interior de una cabina desecadora con sílica gel como agente absorbente (Figura 14) durante un periodo de 48 horas, lapso de tiempo en el cual las semillas alcanzan un rango de CH de humedad entre 10-13% determinado previamente en la prueba de calidad inicial para la humedad de las semillas.



Figura 14. Cabina desecadora utilizada para el secado de las semillas de *G. americana*

4.2.2.4. Almacenamiento de semillas

Las semillas secadas en la cabina fueron pesadas en grupos de 150 semillas y se introdujeron en bolsas ziploc de 14 x 10 cm, a las cuales previamente se les añadió cantidades de sílica gel o torlita equivalentes al peso o volumen respectivo de las semillas de la bolsa y se separaron de las mismas a través de papel filtro; esto con el fin de que los dos sustratos de almacenamiento ayudaran a mantener la humedad de las semillas cercana al 11%.

Las bolsas fueron etiquetadas interna y externamente con el fin de identificar los grupos de semillas a conservar. Posteriormente las bolsas se ubicaron al interior de recipientes de vidrio con selle hermético.

Para el almacenamiento se utilizaron frascos de vidrio transparente con selle hermético, según lo recomendando por Gómez (2006) y Gómez (2007), quien sugiere el uso del contenedor escocés con selle de goma en la tapa y sílica gel en el fondo. La transparencia de los contenedores es una cualidad clave cuando se desea tener ventaja en el beneficio del método de sílica gel para un monitoreo fácil y directo desde el exterior (Gómez, 2007).

Se requirieron 12 frascos de selle hermético, 4 para cada temperatura de almacenamiento.

Así mismo, se diligenció el formato de registro correspondiente (Anexo E).



Figura 15. Almacenamiento de semillas de *G. americana*. a. Temperatura ambiente, b. Temperatura de -20°C y c. Temperatura de 5°C.

Posteriormente se almacenaron los recipientes bajo tres diferentes temperaturas: Ambiente, 5°C y -20°C en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad del Quindío (Figura 15).

4.2.2.5. Evaluación periódica de calidad de las semillas

Cada 30 días se realizaron pruebas para verificar la calidad de las semillas mediante ensayos de contenido de humedad, viabilidad y germinación de las muestras conservadas, siguiendo la metodología descrita con anterioridad. Este procedimiento se repitió en 3 oportunidades, es decir hasta los 90 días de almacenamiento (Figura 16).

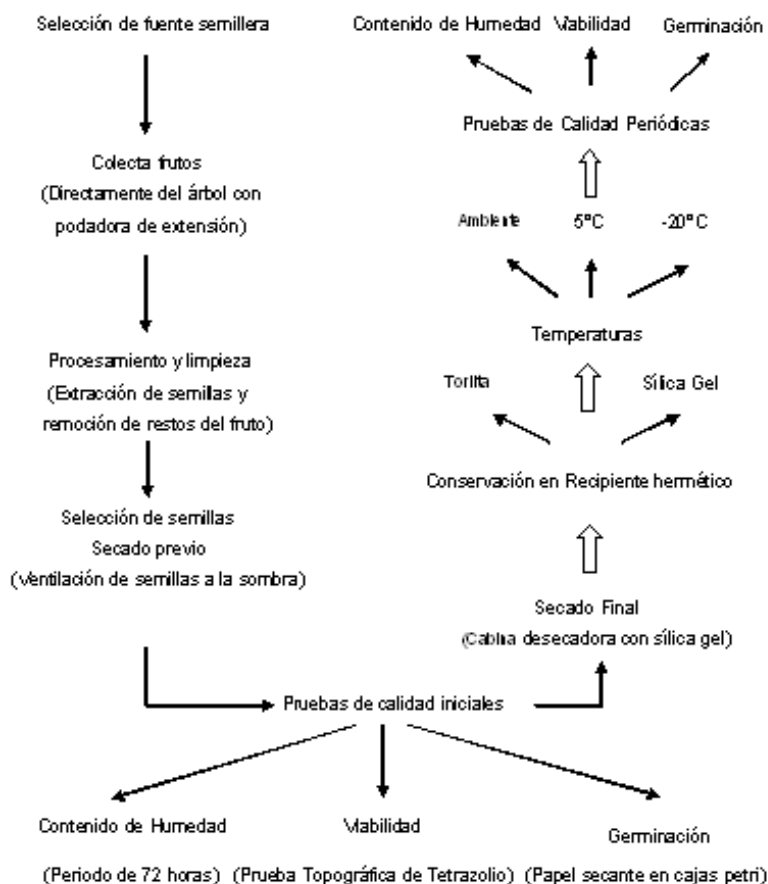


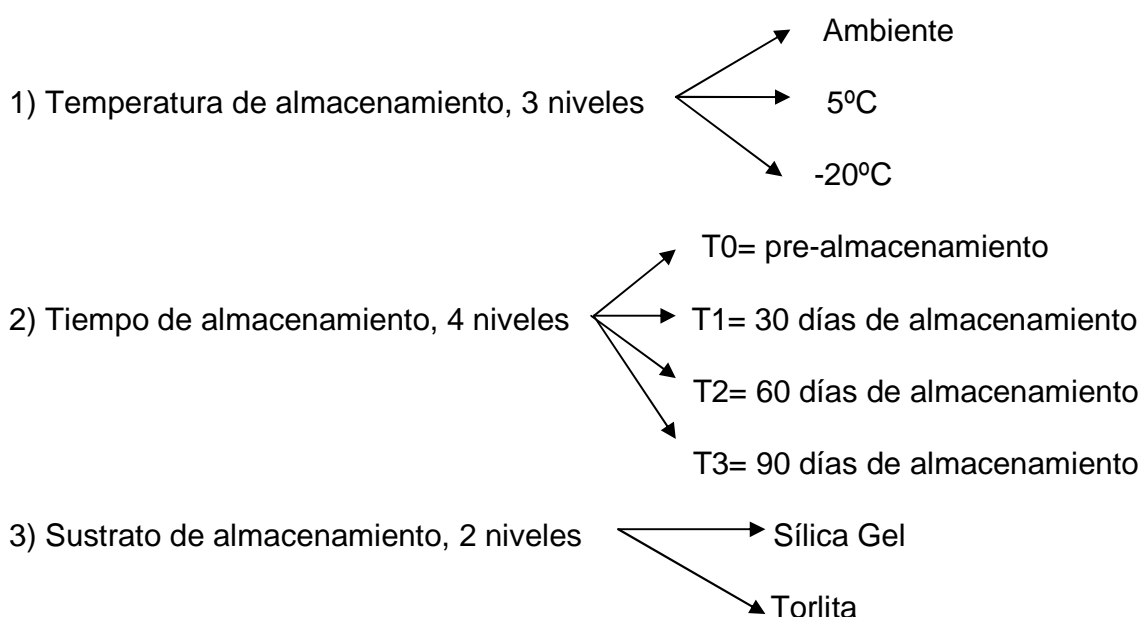
Figura 16. Metodología para el manejo y conservación de semillas de *G. americana*.

Para el caso de los ensayos de germinación, se aplicaron 3-5 g del fungicida Vitavax 300 disuelto en agua destilada debido a la alta incidencia de contaminación fúngica. Así mismo semanalmente se verificó de manera visual que

la sílica gel al interior de los recipientes herméticos presentara color azul; en caso contrario, la sílica rosada se reemplazó.

4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El ensayo de almacenamiento siguió un diseño de bloques al azar en arreglo factorial $3 \times 4 \times 2$ con 24 tratamientos, 6 procedencias y 3 factores controlados:



Las variables de respuesta fueron las pruebas de Viabilidad, porcentaje de germinación y contenido de humedad.

La unidad muestral fue 22 semillas por tratamiento (10 en germinación, 5 en viabilidad y 7 en contenido de humedad), distribuidas de la siguiente manera durante el almacenamiento:

Contenido de humedad: 7 semillas x 3 temperaturas x 2 sustratos de almacenamiento x 3 tiempos de almacenamiento x 6 procedencias, igual a 756 semillas.

Viabilidad: 5 semillas x 3 temperaturas x 2 sustratos de almacenamiento x 3 tiempos de almacenamiento x 6 procedencias, igual a 540 semillas.

Germinación: 10 semillas x 3 temperaturas x 2 sustratos de almacenamiento x 3 tiempos de almacenamiento x 6 procedencias, igual a 1080 semillas.

Se utilizaron 2376 semillas en las pruebas de calidad durante el almacenamiento y 780 en las pruebas de calidad iniciales, para un total de 3156 semillas.

Se construyeron matrices de datos para las variables de respuesta. Para cada matriz de datos se hizo un Análisis de Varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico Statistix versión 9.0 con el fin de determinar si existía diferencia significativa para los factores (temperatura, sustrato y Tiempo de almacenamiento) y si existían interacciones entre ellos con un nivel de significancia del 95%. Los resultados de los porcentajes de germinación fueron transformados en arco seno previo al tratamiento estadístico, por Análisis de Varianza. El análisis de la tasa de germinación se basó en los datos transformados al logaritmo natural y el índice de velocidad de germinación a la raíz cuadrada, con la finalidad de establecer homogeneidad de varianzas.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos era el más adecuado se aplicó la prueba de comparaciones LSD hallando la Diferencia Mínima Significativa (DMS). Esta prueba consistió en determinar las medias generales de cada uno de los tratamientos y determinar qué grupos eran significativamente diferentes.

Finalmente, se hicieron gráficas mediante el programa Matlab (Versión 7.0) para mostrar las interacciones de segundo orden entre los factores, para los resultados de la germinación, viabilidad y contenido de humedad.

4.4. PROTOCOLO DE ALMACENAMIENTO DE *Genipa americana*

Se elaboró un protocolo donde se describe paso a paso la manipulación y método adecuado para el almacenamiento de las semillas de la especie según los resultados obtenidos en este estudio. Se tomó como base el manual de Bioversity International para el manejo de semillas en Bancos de Germoplasma.

El contenido del protocolo toca aspectos básicos que van desde la colecta de la semilla, transporte, manipulación, procesamiento de material, pruebas de calidad inicial de la semilla y tipo de almacenamiento sugerido.

Igualmente para la construcción del mismo se tuvo en cuenta información de otros manuales y protocolos de especies forestales.

4.5. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE SEMILLAS

Se determinó el peso de las semillas (PS) de manera individual con una balanza analítica Adventurer Ohaus con una precisión de 0.0001g y se efectuó por grupos de 100 semillas por cada procedencia (Figura 17), luego se trabajó con pesos promedios de semillas por fruto, con una muestra de 60 frutos.

Finalmente se evaluó con un calibrador pie de Rey con una precisión de 0.1 mm, en una muestra de 600 semillas los siguientes caracteres morfométricos: largo (LS), ancho (AS), grosor (GS), relación largo / Ancho (L / A) y volumen de la semilla (VS) (Figura 18).



Figura 17. Toma de pesos de semillas de *G. americana*. Variables: a. Repetición de semillas para pesaje. b. Balanza Analítica.



Figura 18. Morfometría de semillas de *G. americana*. Variables: a. Ancho. b. Largo. c. Grosor.

Para la determinación de la forma más común de las semillas, éstas se clasificaron en 5 categorías a saber: Triangular (1), circular (2), irregular (3), rectangular (4) y elipsoide (5) (Figura 19).

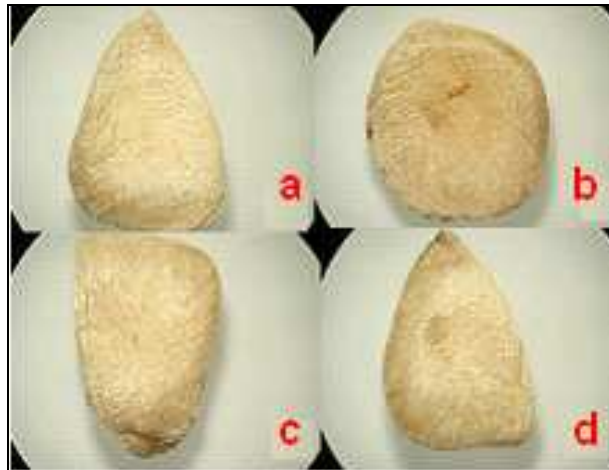


Figura 19. Morfología de semillas de *G. americana*. Variación en formas: a y d. Triangular, b. Circular, c. Rectangular.

Con el fin de describir las poblaciones se realizaron los análisis para cada característica de la variable evaluada. Primero se utilizaron cuadros de estadística descriptiva: tamaño de la muestra (N), media (Prom.), desviación estándar (Desv.), valor máximo (Máx.) y mínimo (Mín.). Luego para cada carácter morfométrico se calcularon los valores de Coeficiente de Variación (CV) y de Factor de Variación (FV), en éste último caso se tomó como base el carácter que mostró una menor variación (Iglesias & Tivo, 2006; Iglesias *et al.*, 2006). Finalmente se realizó un análisis de componentes principales mediante el programa MATLAB (Versión 7.0).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ESTADO DE MADURACIÓN DEL FRUTO

A continuación se mencionan las características consideradas como indicadores del estado de madurez óptimo del fruto para la obtención de semillas utilizadas en el almacenamiento.

Los frutos maduros de *G. americana* presentan un color café-parduzco en la totalidad del fruto y líquenes de color blanquecino en el exocarpo. Tienen una consistencia blanda al tacto, pero no se abren con facilidad. El olor es agrio y fuerte.

Cuando el fruto está maduro carece de sustancias colorantes; ya que en estado inmaduro posee un derivado de la genipina que al reaccionar con proteínas en presencia de oxígeno produce un pigmento azul (Renhe, 2008) (Figura 20 a-b).

El número de semillas por fruto varió desde 50 hasta 350; con un promedio de 170 semillas. Éstas se encuentran envueltas por fibras internas del mesocarpo, las cuales presentan color amarillo-blanquecino (Figura 20b).*

Según Villela & Peres (2004), citados por Silva *et al.*, 2006, el almacenamiento de las semillas debe ser iniciado en la madurez fisiológica, y el mayor desafío es conseguir que las semillas, después de un correcto periodo, aún presenten elevada calidad fisiológica.



Figura 20. Estado óptimo de maduración de fruto y semillas de *G. americana*. a -b. Fruto maduro. c. Semillas recubiertas con fibras internas del mesocarpo.

El tamaño óptimo de los frutos maduros para la colecta en el departamento del Quindío, para la especie *G. americana* es: Ancho 6.57-8.19 cm y largo 9.9-13.23 cm (Figura 21, Anexo F).

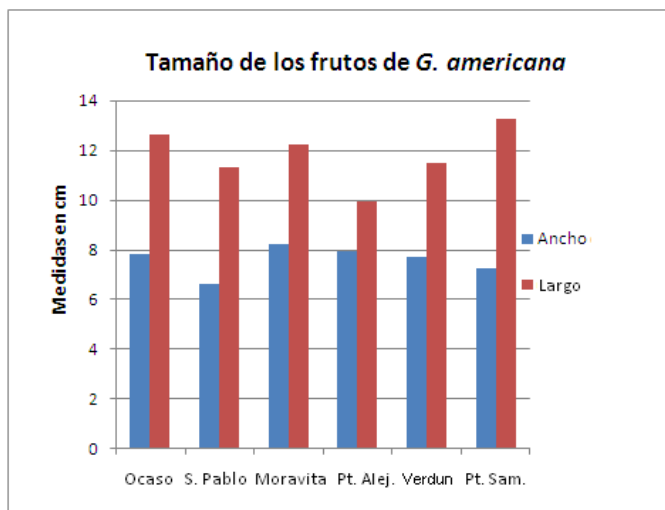


Figura 21. Morfometría del fruto de *G. americana*. Variable Tamaño: Ancho y largo del fruto de las seis procedencias.

El peso de los frutos de las seis procedencias varía entre 240-378 g (Figura 22, Anexo G).

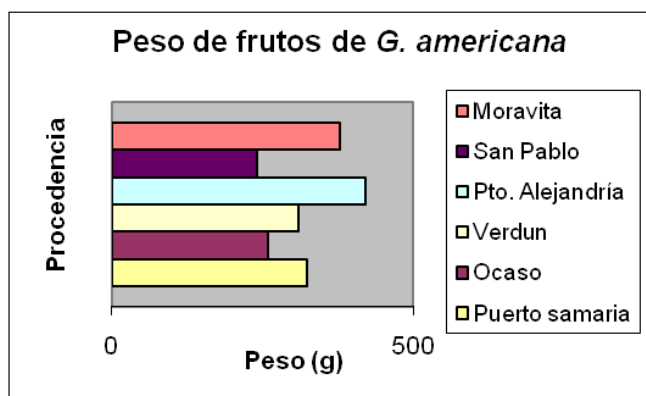


Figura 22. Morfometría del fruto de *G. americana*. Variable Peso para las seis procedencias

Las características morfológicas correspondientes al estado de maduración del fruto concuerdan con lo reportado por Salomão & Silva (2006), quienes mencionan que los frutos maduros de la especie se caracterizan por presentar un pericarpio color marrón arrugado que contiene semillas poco adheridas a la pulpa marrón-amarillenta.

El tamaño, peso y número de semillas por fruto, presenta rangos de variación mayores a lo reportado en la literatura para la especie. Según Silva *et al.* (2006), los frutos producidos por individuos de la especie miden de 6 a 10 cm de largo y de 4 a 7 cm de ancho, con un peso de 90 a 180 g y un promedio de 120 a 160 semillas por fruto. Así mismo, Salomão (2004) reporta un peso promedio de los frutos de 175.5 g

Silva *et al.* (2006), también indican que los frutos maduros deben ser colectados cuando tienen el máximo de tamaño y se desprenden de la planta naturalmente.

Autores como Kageyama *et al.* (1989) citado por Crestana *et al.* (1992), mencionan que *G. americana* tiene frutos dehiscentes, flotantes, cuya abscisión se produce en las temporadas de mayor índice de lluvias. Por lo tanto, el período de maduración coincide con el período de mayor precipitación, en el que la flotabilidad es reducida y ocurre un aumento de la densidad, peso y volumen de la fruta (Crestana *et al.*, 1992).

Adicionalmente, Salomão & Padilha (2006) mencionan que independientemente del grado de maduración del fruto de *G. americana*, existe incidencia fúngica en sus semillas. Probablemente, el grado de maduración morfológica de los frutos de *G. americana* no coincide con la maduración fisiológica de las semillas, conforme fue observado para semillas de otras especies.

5.2 EVALUACIÓN INICIAL DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS

5.2.1 Contenido de Humedad

El secado de las semillas con sílica gel para el material procedente de la vereda La Moravita del municipio de Pijao, presenta una reducción del CH hasta un valor crítico de aproximadamente 10% en un lapso de 48 horas (Figura 23a), alcanzando una reducción hasta un 3.57% al cabo de 72 horas (Tabla 3). Por otra parte, el secado con Torlita disminuye el CH solo hasta un 20% después de 72 horas (Figura 23b).

Tabla 3. Comparación del contenido de humedad de *G. americana*, obtenido por los métodos de secado de sílica gel y torlita para los seis sitios de procedencia de las semillas.

H o r a	Moravita		San Pablo		Puerto Alejandría		Verdun		Ocaso		Puerto Samaria	
	Contenido de Humedad (%)		Contenido de Humedad (%)		Contenido de Humedad (%)		Contenido de Humedad (%)		Contenido de Humedad (%)		Contenido de Humedad (%)	
	Sílica gel	Torlita	Sílica gel	Torlita	Sílica gel	Torlita	Sílica gel	Torlita	Sílica gel	Torlita	Sílica gel	Torlita
0	42.55	42.86	42.59	42.59	44.44	43.59	44.26	42.86	41.67	37.29	47.92	48
3	37.20	39.13	40.38	42.38	42.86	33.33	41.38	42.4	39.13	36.21	40.48	45.83
5	35.71	38.73	35.71	42.06	41.18	30.16	39.28	41.93	36.82	35.31	39.02	44.68
8	32.5	38.32	36.73	41.51	39.94	29.03	38.18	40.98	34.82	34.33	37.5	44.09
12	30.77	37.77	34.04	40.95	38.46	28.57	35.85	40	33.33	33.93	35.06	43.48
16	28.95	36.36	32.61	39.22	36.51	27.87	33.33	38.98	31.37	33.33	32.43	42.22
20	27.03	34.88	31.87	38.98	33.99	26.67	30.61	36.84	28.57	32.11	30.55	40.91
24	23.94	33.33	30.34	38.00	31.51	25.93	26.09	33.33	27.68	31.23	28.57	40.23
36	15.62	31.70	27.91	36.73	24.53	25.42	16.05	30.77	22.22	30.71	26.47	39.53
48	10	26.32	22.5	36.08	16.67	24.14	11.69	28	14.22	30.19	21.87	38.1
72	3.57	20	8.82	34.04	9.1	18.52	8.11	25	8.62	29.12	16.67	36.58

Para el material procedente de la vereda San Pablo del municipio de Montenegro, el secado de las semillas con sílica gel requirió un periodo mayor a 48 horas pero menor de 72 para alcanzar un CH crítico (aprox. 66 horas) (Figura 23a), pues al final del lapso de secado la humedad disminuyó hasta 8.82% (Tabla 3). El secado con torlita disminuye el CH solo hasta un 34.04% después de 72 horas de secado (Figura 23b).

Las semillas colectadas en la vereda Puerto Alejandría del municipio de Quimbaya, alcanzan un CH de 10% en aprox. 70 horas de secado con el método de sílica gel (Figura 23a), al cabo de 72 horas la humedad se redujo hasta el 9.1% (Tabla 3). El secado con torlita logra reducir hasta un 18.52% el CH en el lapso de 72 horas de secado continuo (Figura 23b).

El CH de 10% para las semillas de la vereda Verdun, Municipio de Caicedonia, se obtuvo en aprox. 60 horas de secado con sílica gel (Figura 23a); pues al final del lapso de secado la humedad se redujo hasta 8.11% (Tabla 3). El método de torlita retiene la humedad hasta aproximadamente 30% durante un lapso de 72 horas de secado (Figura 23b).

El CH crítico de 10% para las semillas de la Reserva La Montaña del Ocaso, Vereda el Laurel del Municipio de Quimbaya, se obtuvo en aprox. 66 horas de secado con sílica Gel (Figura 23a); al cabo de 72 horas de secado el CH fue de

8.69% (Tabla 3). El método de torlita retiene la humedad hasta casi 29% al final del secado (Figura 23b).

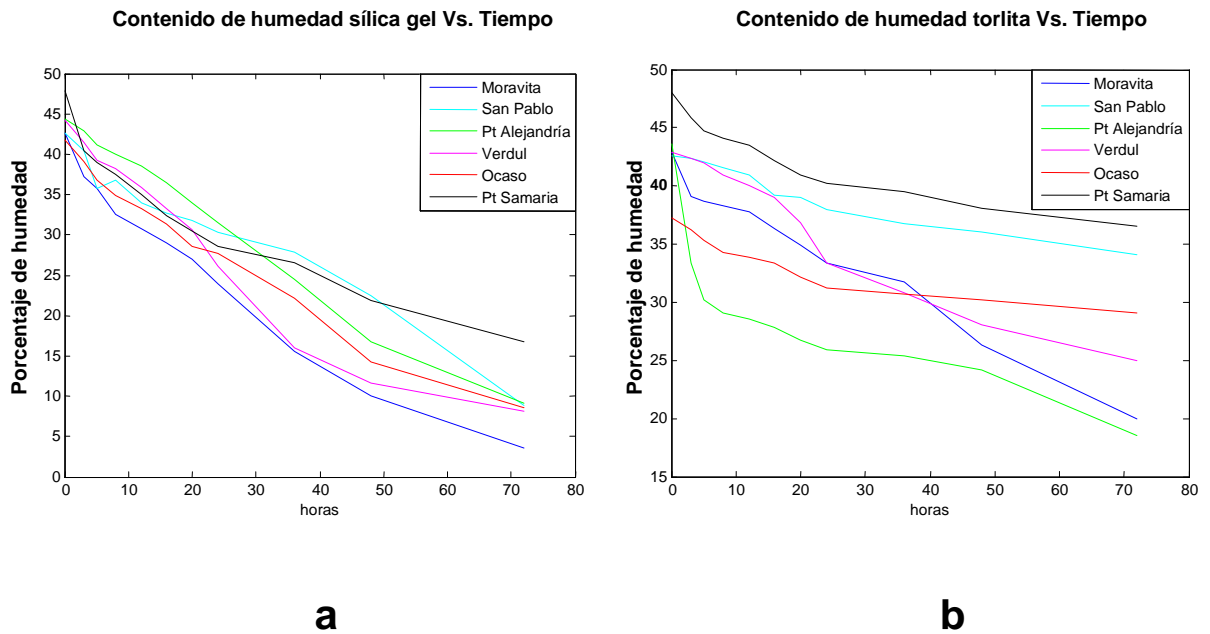


Figura 23. Contenido de humedad inicial de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas. a. Método de secado con sílica gel. b. Método de secado con Torlita.

El CH para las semillas de Puerto Samaria, Municipio de Montenegro, disminuyó hasta un 16.67% con el método de sílica gel por un periodo de 72 horas (Figura 23a) y con torlita no bajó de los 36.58% durante el mismo lapso de tiempo (Figura 23b). En ninguno de los dos métodos se logró obtener un valor de CH crítico, por lo que el secado debió hacerse por un periodo mayor a 72 horas en este caso (Tabla 3).

En promedio, las semillas de *Genipa americana* colectadas en los 6 sitios de muestreo en el Quindío presentaron un CH inicial de aproximadamente 43%. El método de sílica gel puede reducir el CH hasta aproximadamente un 9% durante un periodo de 72 horas, mientras que con el método de torlita solo se logró reducir hasta un 28% en promedio (Figura 24).

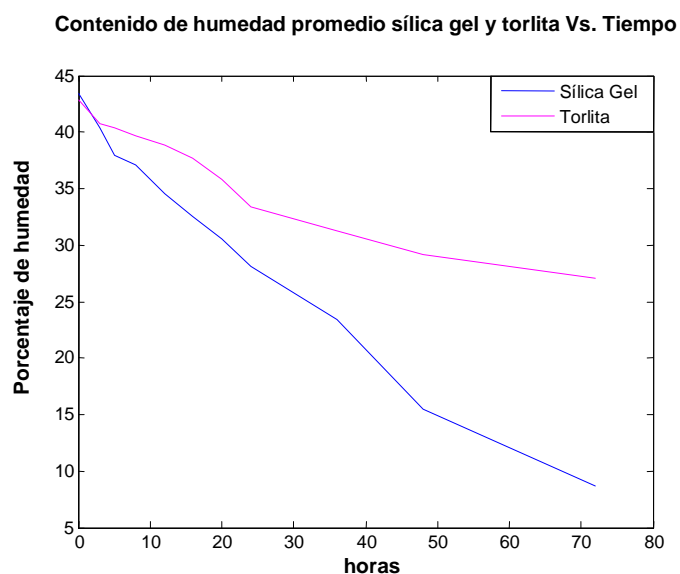


Figura 24. Contenido de humedad inicial promedio de *G. americana* obtenido por los métodos de secado de sílica gel y torlita para los seis sitios de procedencia de las semillas

La reducción en el contenido de humedad obtenida por los métodos de secado con torlita y sílica gel difiere de lo reportado por Salomão (2004), quien encontró que después de 72 horas de secado con torlita el CH descendió hasta un 48.31%, mientras que con sílica gel el CH fue de 6.72%. Sin embargo, se corrobora que la sílica gel logra reducir la humedad a valores muy inferiores a los iniciales en contraste con la torlita, que retiene menos la humedad.

Según Salazar (1999), el contenido de humedad inicial para *G. americana* varía de 18 a 22%. Sin embargo, Salomão (2004), encontró un contenido de humedad inicial para las semillas de *G. americana* entre 44-46% en peso fresco; rango cercano al valor promedio de contenido de humedad obtenido en este estudio.

De igual forma Salomão & Padilha (2006) reportan que la humedad inicial de las semillas de *Genipa americana* estuvo directamente relacionada al grado de maduración de los frutos.

No obstante, como lo mencionan Salomão & Padilha (2006), el elevado grado de humedad y la intensa actividad metabólica con los cuales semillas no ortodoxas son dispersas favorecen la supervivencia y la proliferación fúngica.

El efecto del contenido de humedad en las semillas es probablemente el más importante de los factores que determinan la longevidad de las mismas (Holmes *et al.*, 1958; citado por Parra & Suárez, 2009), esto acompañado de una disminución en la temperatura permite establecer una relación cuantitativa para predecir la viabilidad al cabo de determinado período de almacenamiento, siempre que durante el mismo la temperatura y el contenido de humedad se mantengan constantes (Ellis *et al.*, 1980; citado por Parra & Suárez 2009).

Según el contenido de humedad inicial obtenido para las semillas de *G.americana*, son de tipo intermedio.

5.2.2 Prueba de Viabilidad

El porcentaje de viabilidad inicial promedio obtenido por el método de Tinción con Tetrazolio para las semillas de *G. americana* fue de 75% (Tabla 4).

Como se observa en la tabla 4 y en las figuras 25 y 26, las semillas procedentes del Ocaso fueron las que presentaron un mayor porcentaje de viabilidad inicial, seguidas por las semillas de las veredas San Pablo y La Moravita, por lo tanto se clasificaron en la Categoría I de semillas viables. Las semillas de Puerto Alejandría presentaron la menor viabilidad inicial y se clasificaron en la categoría II junto a las procedentes de Puerto Samaria y Verdun.

Tabla 4. Prueba de viabilidad inicial de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Procedencia	Viabilidad inicial (%)		
	Categoría I	Categoría II	Categoría III
Moravita	75		
San Pablo	76		
Puerto Alejandría		70	
Verdun		74	
Ocaso	80		
Puerto Samaria		73	
Promedio		75	

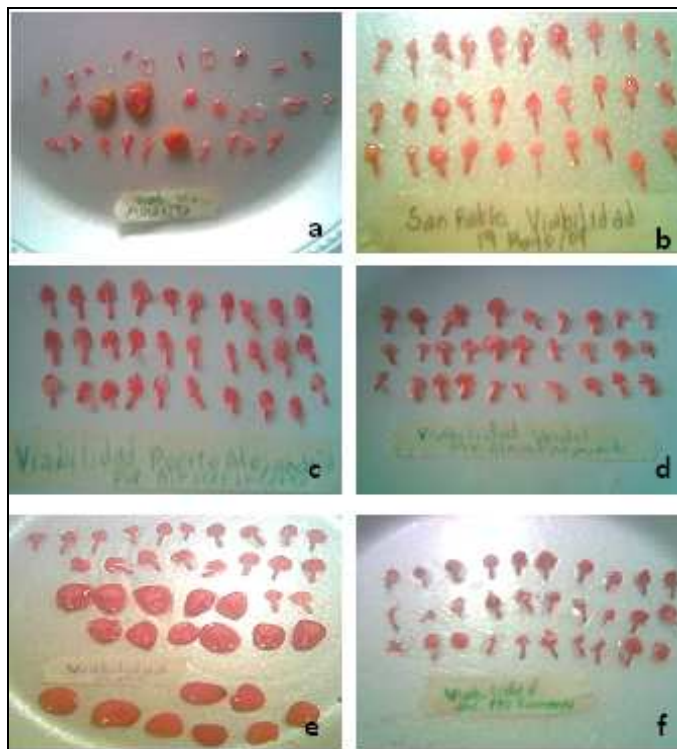


Figura 25. Viabilidad Inicial de semillas de *G. americana*. a. Moravita. b. San Pablo. c. Puerto Alejandria. d. Verdun. e. Ocaso. f. Puerto Samaria.

Porcentaje de Viabilidad Inicial de semillas de *G. americana*

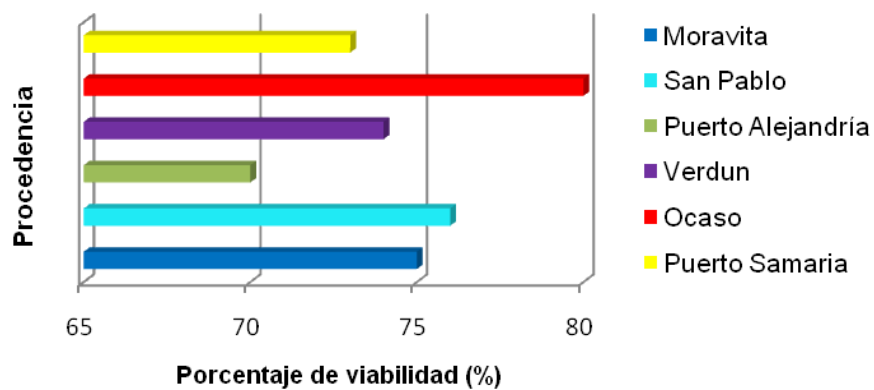


Figura 26. Porcentaje de viabilidad de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Fisiológicamente es posible conservar los tejidos y estructuras de las semillas, así como las capacidades funcionales de las mismas bajo condiciones artificiales controladas incrementando los intervalos de tiempo durante los cuales éstas permanecen viables (Urrea & Suarez, 2009).

La prueba inicial de tinción con sales de tetrazolio mostró concordancia con los porcentajes de germinación iniciales registrados en este estudio (75% de viabilidad y 78% de germinación); ya que como lo indican Fogaça *et al.*, (2006), ésta prueba, es rápida y confiable en el análisis de semillas y suministra informaciones más rápidamente que la prueba de germinación. Además es recomendada para evaluación de varias especies forestales.

Como lo menciona Cherobini (2006), con el uso de la prueba de tetrazolio, se puede separar las semillas en viables, poco viables, no viables y semillas muertas, siendo ésta una prueba rápida para evaluar el vigor de los lotes de semillas.

Nascimento y Carvalho (1998), reportan que las concentraciones de la sal de tetrazolio proporcionan las variaciones de tonalidades en embriones de *G. americana*. Para la concentración de 0,25% observaron un color rosa intenso, difícil de interpretar en algunos casos, especialmente cuando se utiliza el período de inmersión en agua durante 12 horas. En la concentración de 0,50% se obtuvo una tonalidad rojo intenso y brillante que favorece la evaluación visual. La concentración de 0,75% en el período de exposición de cuatro horas, parece haber sido excesiva, resultando en un rojo oscuro, por lo que es difícil de interpretar. Los resultados indican como mejores las combinaciones de preacondicionamiento en agua durante 24 horas, seguido de exposición de los embriones durante dos horas en una solución de tetrazolio de 0,25% a 40 °C. Otras combinaciones, sin embargo, dependiendo de factores circunstanciales, se pueden utilizar con buenos resultados.

Entre los muchos problemas con esta especie, se puede destacar la rápida pérdida de viabilidad de sus semillas, lo que ha obligado a la siembra después de la remoción de sus frutos, a fin de obtener los mejores resultados de germinación. Pruebas de germinación se han completado sólo después de unas semanas, por lo que, dependiendo principalmente de las condiciones en que se almacenan las semillas cuya germinación se está evaluando, el resultado al final de la prueba ya no puede representar la germinación real semillas (Nascimento y Carvalho, 1998).

5.2.3 Prueba de Germinación

El PG inicial obtenido para las semillas de *G. americana* fue de 78.33% durante un periodo de 33 días; la TG promedio fue de 23 días y el índice de velocidad de germinación fue de 2 semillas por día (Tabla 5, figuras 27 y 28). Las semillas que presentaron los mayores valores de PG fueron las procedentes del Ocaso: 91.67 y 90% respectivamente; así mismo tuvieron el mayor IVG de aproximadamente 3 semillas por día. Las mayores TG se presentaron en las semillas de La Moravita (26 días) y Puerto Alejandría (25 días). La germinación se dio de manera uniforme para los tres controles de temperatura (Anexo H). De igual forma no se presentó contaminación fúngica. Las semillas de *G. americana* provenientes de la Moravita, Pijao presentaron un PG de 80% en un periodo de 33 días, iniciando a los 20 días; con una TG promedio de 26 días y un IVG de 2 semillas/día (Tabla 5, Figura 28, Anexo H).

Tabla 5. Prueba de Germinación Inicial de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas: Porcentaje de germinación, tasa de germinación e Índice de velocidad de germinación

Procedencia	Porcentaje de germinación (%)	Tasa de Germinación (días)	Índice de velocidad de Germinación (semillas/día)
Moravita	80	26.20	1.85
San Pablo	90	20.96	2.72
Puerto Alejandría	65	25.41	1.52
Verdun	80	24.90	2.05
Ocaso	91.67	18.54	3.07
Puerto Samaria	63.33	23.24	1.53
Promedio	78.33	23.21	2.12



Figura 27. Germinación de Semillas de *G. americana*.

La prueba de germinación de las semillas de San Pablo, Montenegro presentó un PG de 90%, iniciando a los 14 días y finalizando a los 33 días. La TG fue de aproximadamente 21 días, con un IVG de 3 semillas/día en promedio (Tabla 5, Figura 28); presentándose dos picos de germinación entre 15-17días y 22-24 días (Anexo H). Ninguno de los controles de temperatura presentó contaminación por hongos.

El PG para las semillas provenientes de Puerto Alejandría, Quimbaya fue de 65% durante un periodo de 31 días. La TG correspondió a 25 días aproximadamente, el IVG fue de 1.5 semillas/día (Tabla 5, Figura 28). La germinación inició a los 20 días en el control de 5°C de temperatura (Anexo H).

El PG para las semillas provenientes de Verdun, Caicedonia fue de 80% durante un periodo de 33 días. La TG correspondió a 25 días aproximadamente, el IVG fue de 2 semillas/día (Tabla 5, Figura 28). La germinación inició a los 16 días en el control de 5°C de temperatura (Anexo H).

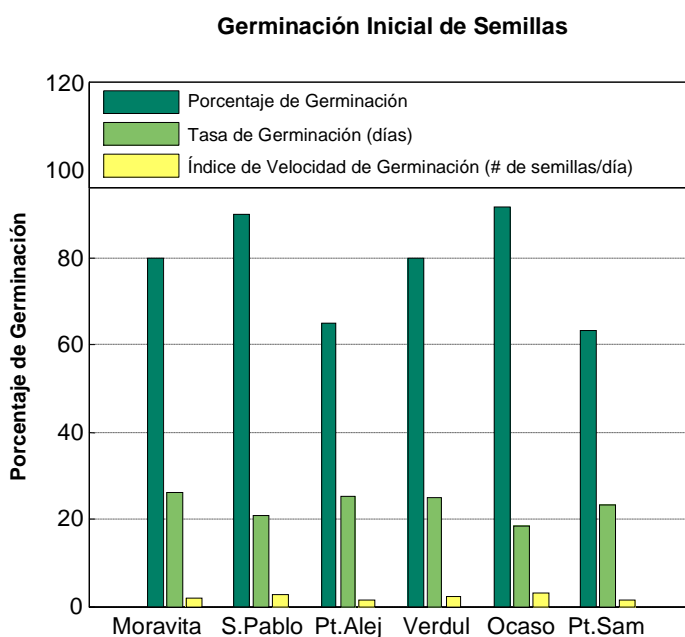


Figura 28. Prueba de Germinación Inicial de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas.

El PG de las semillas provenientes de El Ocaso, Quimbaya fue de aproximadamente 92% durante un periodo de 31 días. La TG correspondió a 19 días aproximadamente y el IVG fue de 3 semillas/día (Tabla 5, Figura 28). La germinación inició a los 12 días en los controles de temperatura ambiente y -20°C,

presentándose mayor número de semillas germinadas entre los 13-20 días (Anexo H).

El PG para las semillas provenientes de Puerto Samaria, Montenegro fue de 63% durante un periodo de 31 días; la TG correspondió a 23 días aproximadamente, con un IVG de 1.5 semillas/día (Tabla 5, Figura 28). La germinación inició a los 19 días, presentándose dos intervalos de germinación de 20-21 días y 24-27 días (Anexo H).

El porcentaje de germinación inicial (78%) y la tasa de germinación obtenida (23 días) concuerdan con lo reportado por autores como Salazar (1999), quien menciona que el porcentaje de germinación en semillas frescas varía de 65 a 90% y que la germinación se inicia de ocho a 15 días después de la siembra y finaliza de 25 a 30 días después.

Salomão (2004) reporta un máximo de germinación inicial logrado a temperaturas entre 15 y 30°C sobre papel secante con 12 horas luz por día. La temperatura ambiental empleada en esta investigación, en la cual se observó germinación, coincide con lo anterior, pues se encuentra dentro de este rango de temperatura e igualmente se empleó germinación en papel secante y exposición a la luz durante el día.

Fogaça *et al.* (2006), reportan que las semillas de *G. americana* sembradas entre papel de filtro a 30°C, germinaron más rápidamente; igualmente observaron que el grado de maduración de los frutos no afectó el poder germinativo de las semillas, siendo posible, así, el aprovechamiento de semillas encontradas en frutos inmaduros.

Por otra parte, Agudelo *et al.* (2006) obtuvieron un porcentaje de germinación inicial para la especie de 85% con un tiempo de germinación entre 20-35 días a través de propagación *in situ*. Dentro de este lapso de tiempo germinaron la mayoría de semillas de *G. americana*.

Salomão (2004) obtuvo altos porcentajes de germinación prealmacenamiento para *G. americana* en semillas secadas a contenidos de humedad entre 47 y 19%, manteniéndose porcentajes altos en el secado con torlita y decreciendo por debajo del 50% en el secado con sílica gel a un contenido de humedad menor de 9%. Lo anterior indica que las semillas de *G. americana* requieren de un contenido de humedad superior al 10% para su germinación.

5.3. EVALUACIÓN PERIÓDICA DE LA CALIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO

5.3.1 Contenido de humedad

Para esta prueba se obtuvieron valores entre 6.03 y 46.63 % (Tabla 6). Se registró variación en el CH tanto para las semillas almacenadas con sílica gel como con torlita y para los tres tratamientos de temperatura.

Tabla 6. Comparación del contenido de humedad de *G. americana* durante el almacenamiento con sílica gel y torlita para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Periodo de Almacenamiento	Procedencia	Temperatura de almacenamiento	Contenido de Humedad (%)	
			Torlita	Sílica gel
30 días	Moravita	Ambiente	25.35	8.57
		5°C	25.49	8.57
		-20°C	25.76	12.37
	San Pablo	Ambiente	21.28	11.25
		5°C	23.36	12.82
		-20°C	23.36	16.09
	Puerto Alejandría	Ambiente	28.55	19.86
		5°C	35.63	25.31
		-20°C	38.04	27.78
	Verdun	Ambiente	17.36	8.96
		5°C	19.38	10.32
		-20°C	18.34	9.67
	Ocaso	Ambiente	19.65	7.47
		5°C	24.74	9.63
		-20°C	24.27	9.31
	Pto Samaria	Ambiente	32.14	16.54
		5°C	34.38	21.80
		-20°C	33.47	28.31
60 días	Moravita	Ambiente	26.64	9.53
		5°C	26.64	8.57
		-20°C	21.75	9.53
	San Pablo	Ambiente	16.96	11.25
		5°C	22.96	12.82
		-20°C	21.28	14.46
	Puerto Alejandría	Ambiente	28.55	23.82
		5°C	28.90	19.86
		-20°C	37.46	19.86
	Verdun	Ambiente	20.78	9.53
		5°C	22.4	9.53
		-20°C	31.98	11.26
	Ocaso	Ambiente	*	7.72
		5°C	25.49	7.07
		-20°C	27.11	8.53
	Pto Samaria	Ambiente	46.63	34.23
		5°C	*	15.58
		-20°C	20.68	14.56
Moravita	Ambiente	29.30	8.97	
	5°C	26.73	9.63	
	-20°C	23.11	10.12	
San Pablo	Ambiente	20.16	11.53	
	5°C	24.33	12.71	
	-20°C	20.08	12.37	
Puerto Alejandría	Ambiente	33.25	20.70	
	5°C	40.45	21.46	

90 días	Verdun	-20°C	30.18	19.24	
		Ambiente	24.81	9.20	
		5°C	*	9.83	
	Ocaso	-20°C	30.19	9.61	
		Ambiente	*	6.33	
		5°C	*	6.03	
	Pto Samaria	-20°C	24.60	7.12	
		Ambiente	43.81	16.49	
		5°C	*	16.76	
			-20°C	29.71	18.25

*Contenidos de humedad que no se tomaron debido a contaminación fúngica de las semillas.

El ANOVA del contenido de humedad muestra que existen diferencias significativas para los factores: Sustrato y tiempo de almacenamiento. (Tabla 7, figuras 29 y 30).

Tabla 7. ANOVA para el porcentaje de Contenido de humedad de semillas de *G. americana*.

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Procedenc	5	2633.8	526.76		
Sustrato	1	4629.4	4629.44	96.80	0.0000*
Temperatu	2	151.7	75.83	1.59	0.2093
Tiempo	3	700.4	233.46	4.88	0.0031*
Sustrato*Temperatu	2	68.8	34.39	0.72	0.4893
Sustrato*Tiempo	3	122.7	40.89	0.85	0.4667
Temperatu*Tiempo	6	249.3	41.55	0.87	0.5202
Sustrato*Temperatu*Tiempo	6	240.7	40.12	0.84	0.5424
Residual	115	5499.8	47.82		
Total	143	14296.6			

* Significativo al 0.95%

En la figura 29a, se puede observar que el tratamiento con el sustrato de torlita presenta un contenido de humedad mayor (25.5%) comparado con la sílica gel (14.5%); para la figura 29b se observa que al transcurrir el tiempo el contenido de humedad va disminuyendo gradualmente (23.5%, 20.5%, 19% y 17.4% respectivamente).

En la figura 30 se puede observar que los porcentajes más altos de contenido de humedad para *G. americana* se presentaron almacenándolas en torlita con temperaturas de -20°C. Hay gran variación en el contenido de humedad en el periodo de almacenamiento con valores que van desde el 16% hasta 31%.

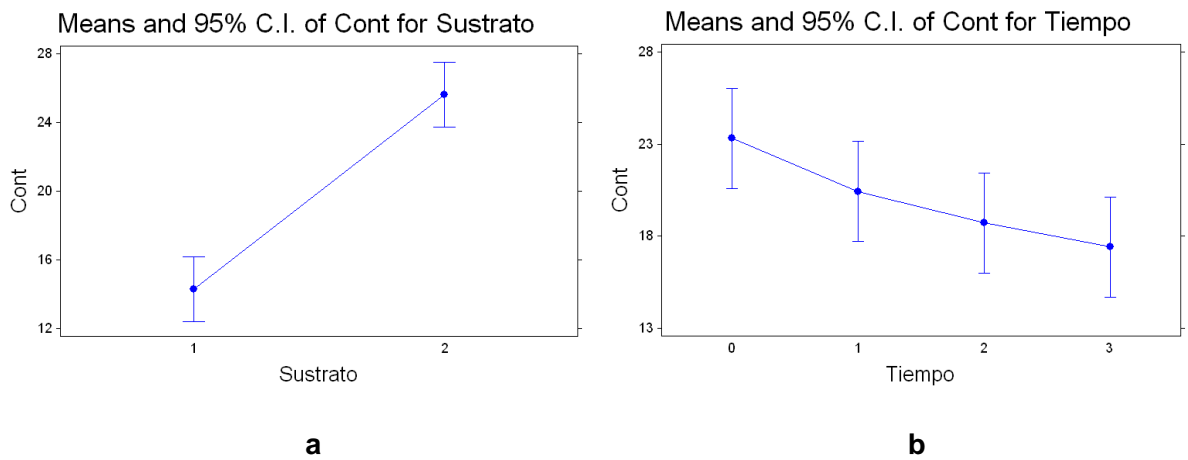


Figura 29. Medias de los porcentajes de humedad de semillas de *G. americana* para los factores Sustrato de Almacenamiento a. Sustratos: 1. Sílica gel y 2. Torlita. b. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.

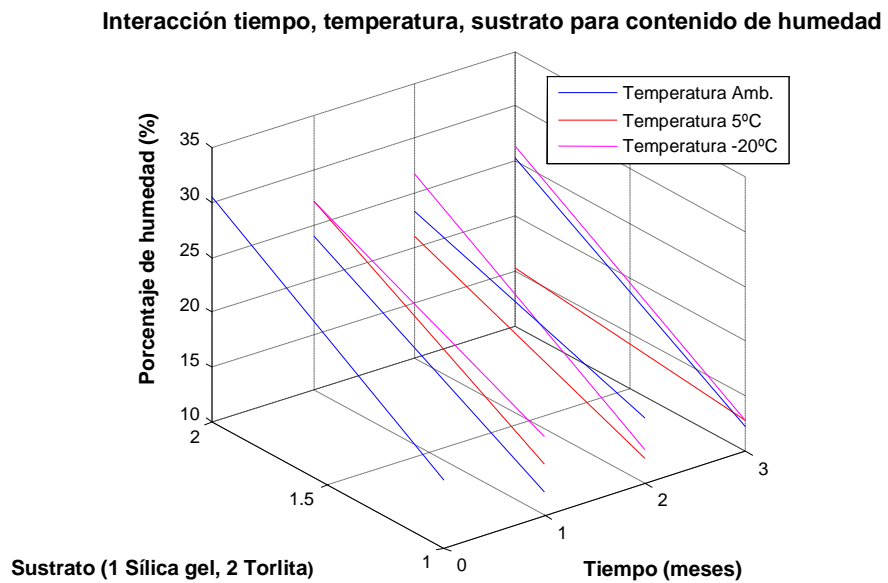


Figura 30. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el contenido de humedad de semillas de *G. americana*.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos es el más adecuado y dada la interacción entre los sustratos se aplicó una prueba de DMS para el contenido de humedad de las semillas (Tabla 8); la cual muestra que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el grupo correspondiente a un contenido de humedad promedio de 26% obtenido con torlita y B el grupo con 14% de humedad obtenido por secado con sílica gel.

Tabla 8. DMS para la comparación de medias de factores para el contenido de humedad de semillas de *G. americana*.

Factores	Media	Grupos homogéneos
Temperatura		
Ambiente	19.936	A
5°C	18.728	A
-20°C	21.241	A
Sustrato		
Sílica gel	14.298	B*
Torlita	25.638	A*
Tiempo		
0	23.313	A
1	20.422	AB
2	18.720	B
3	17.418	B

* **Diferencias significativas al 0.95%.**

Para *G. americana*, se obtuvo variación en el contenido de humedad entre 6-47% aproximadamente para las semillas almacenadas. Según los datos del anova, se encontró que existen diferencias significativas para el tiempo y sustrato de almacenamiento. Las medias para los sustratos presentaron diferencias significativas, observándose los valores más altos en CH con la torlita cuando se almacenaron a -20°C de temperatura. La disminución del CH durante el tiempo de almacenamiento fue gradual.

Salomão (2004) menciona que el secado de semillas de la especie a un contenido de humedad crítico entre 9-6% resultó en decrecimiento en porcentaje de germinación, al igual que en contenidos de humedad entre 38-42%. Sin embargo, la germinabilidad (>80%) se mantuvo por 12 meses de almacenamiento a 5, 10 y 15°C de temperatura a 11% de contenido de humedad.

De acuerdo a lo anterior, el bajo porcentaje de germinación registrado en semillas almacenadas a 5°C pudo deberse a contenidos de humedad, menores o muy superiores al 11%, considerado como óptimo para su conservación.

Además, el contenido de humedad excesivo puede intervenir en la pérdida de viabilidad de la semilla, pues estimula la germinación, aún en condiciones inadecuadas; por lo anterior la determinación de la humedad en el procesamiento de la semilla permite establecer si requiere acondicionamiento previo a su almacenamiento; además indica el estado de conservación de la semilla (Acero, 2005).

Según Fonseca & Freire (2003), en el secado de las semillas que toleran desecación parcial deben ser considerados, además del grado más pequeño de humedad segura (correspondiente al nivel de humedad que puede ser alcanzado sin perjuicios a la viabilidad de las semillas), el grado de humedad crítico (abajo del cual la semilla no soporta el secado) y el grado de humedad letal para cada especie; ya que la variación en la sensibilidad a la desecación puede ocurrir, ocasionalmente, entre diferentes lotes de la misma especie.

Como lo menciona Acero (2005), el ajuste en el contenido de agua es uno de los factores importantes en el mantenimiento de la viabilidad durante el tiempo de almacenamiento, ya que la reducción de este factor retarda considerablemente los procesos fisiológicos, como la respiración de la semilla y el consumo de sustancias nutritivas almacenadas en sus cotiledones y disminuye así mismo, la proliferación de hongos y bacterias, facilitando que las semillas se conserven en buen estado y permanezcan viables por más tiempo.

El contenido promedio de humedad de *G. americana* luego del secado, alcanzó aproximadamente el 10% lo cual concuerda con la afirmación de Trujillo (1991), citado por Acero (2005), quien menciona que aunque el contenido de humedad ideal de muchas de las especies tropicales permanece desconocido, se puede afirmar, que un rango de contenido de humedad del 8-15% es adecuado para que las semillas se conserven viables por largos períodos.

Los resultados muestran que existe sensibilidad a bajos contenidos de humedad y que las semillas no toleran la desecación, pues pierden la viabilidad: igualmente la combinación de alto contenido de humedad y baja temperatura hace a las semillas vulnerables al deterioro por el ataque de hongos xerotolerantes. Lo anterior se atribuye a características que presentan las semillas de tipo intermedias.

Finalmente, al determinar que el tratamiento y el método de almacenamiento más adecuado para conservar las semillas de *G. americana* es a temperatura ambiental (aproximadamente 22°C), controlando la humedad con torlita y empleando recipientes con selle hermético; se brinda un aporte que sirve como base para el diseño de estrategias de conservación para la especie e investigaciones posteriores en otras poblaciones de la misma con miras a resolver

los problemas de corta viabilidad, alta tasa respiratoria y alto contenido de humedad; los cuales dificultan su manutención.

5.3.2. Viabilidad

En esta prueba se obtuvieron valores entre el 10% y el 80% de viabilidad, con un promedio de 42% y varios datos faltantes por contaminación del material o pérdida de viabilidad (Tabla 9).

Para las semillas almacenadas a 5 y -20°C hubo dificultad en la evaluación de las estructuras del embrión por la coloración poco intensa de los tejidos a una concentración de tetrazolio al 0.1%.

Tabla 9. Prueba de viabilidad de *G. americana* durante el almacenamiento con sílica gel y Torlita para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Periodo de Almacenamiento	Procedencia	Temperatura de almacenamiento	Viabilidad		
			Torlita	Sílica gel	
30 días	Moravita	Ambiente	80	80	
		5°C	60	60	
		-20°C	60	*	
	San Pablo	Ambiente	80	60	
		5°C	60	60	
		-20°C	80	*	
	Puerto Alejandría	Ambiente	60	80	
		5°C	30	70	
		-20°C	60	80	
	Verdun	Ambiente	75	80	
		5°C	*	60	
		-20°C	55	*	
	Ocaso	Ambiente	60	40	
		5°C	20	50	
		-20°C	10	*	
	Pto Samaria	Ambiente	70	60	
		5°C	50	50	
		-20°C	65	65	
60 días	Moravita	Ambiente	80	40	
		5°C	50	50	
		-20°C	70	30	
	San Pablo	Ambiente	60	60	
		5°C	60	55	
		-20°C	80	60	
	Puerto Alejandría	Ambiente	60	80	
		5°C	20	20	
		-20°C	40	50	
			Ambiente	75	60

90 días	Verdun	5°C	30	40
		-20°C	40	30
		Ambiente	*	20
	Ocaso	5°C	45	20
		-20°C	10	*
		Ambiente	60	50
	Pto Samaria	5°C	*	50
		-20°C	50	40
		Ambiente	70	40
	Moravita	5°C	*	10
		-20°C	20	40
		Ambiente	55	50
	San Pablo	5°C	20	30
		-20°C	30	20
		Ambiente	60	45
	Puerto Alejandría	5°C	25	20
		-20°C	*	20
		Ambiente	65	45
	Verdun	5°C	*	40
		-20°C	50	30
Ambiente		*	*	
Ocaso	5°C	*	25	
	-20°C	40	60	
	Ambiente	50	45	
Pto Samaria	5°C	*	30	
	-20°C	25	55	

***Valor correspondiente a semillas que no presentaron viabilidad debido a daños internos o contaminación fúngica.**

El ANOVA para el porcentaje de viabilidad exhibe diferencias significativas para los factores Temperatura y Tiempo y para las interacciones de primer orden: Sustrato-Temperatura y Temperatura-Tiempo (Tabla 10, figuras 31 y 32).

Tabla 10. ANOVA para el porcentaje de viabilidad de semillas de *G. americana*.

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Procedencia	5	6070.2	1214.0		
Sustrato	1	25.0	25.0	0.09	0.7698
Temperatura	2	7202.4	3601.2	12.40	0.0000*
Tiempo	3	36334.8	12111.6	41.70	0.0000*
Sustrato*Temperatura	2	2694.8	1347.4	4.64	0.0115*
Sustrato*Tiempo	3	559.7	186.6	0.64	0.5893
Temperatura*Tiempo	6	4551.7	758.6	2.61	0.0207*
Sustrato*Temperatura*Tiempo	6	3470.5	578.4	1.99	0.0725
Residual	115	33403.4	290.5		
Total	143	94312.6			

***Significativo al 0.95%.**

En la figura 31a se observa que la viabilidad de las semillas fue mayor a temperatura ambiente (61%), y la más baja se dio a los 5°C (44%); para la figura 31b se observa una viabilidad inicial que disminuye gradualmente durante el almacenamiento (75%, 53%, 44% y 31%, respectivamente).

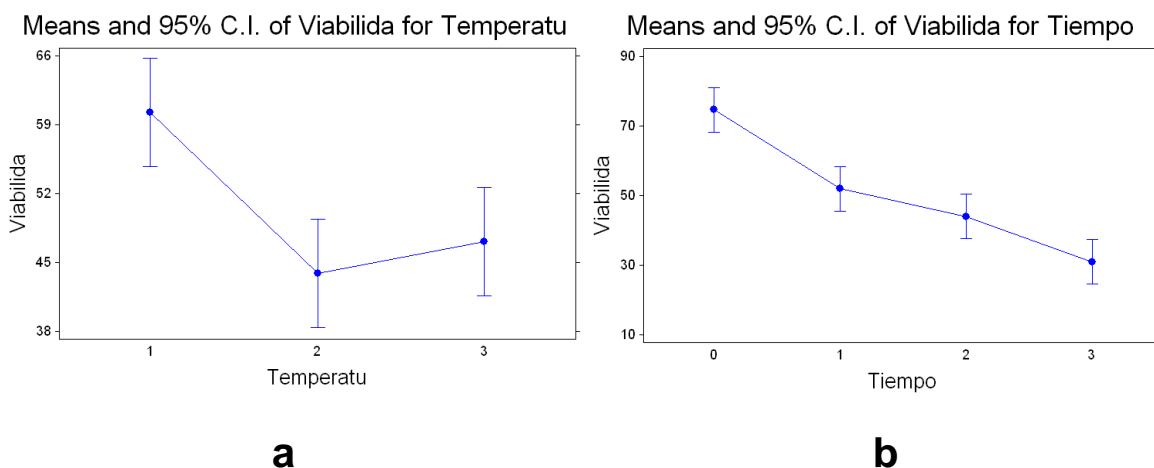


Figura 31. Medias del porcentaje de viabilidad de las semillas de *G. americana* para los factores: Temperatura y Tiempo de almacenamiento. a. Temperaturas: 1, Ambiente; 2, 5°C y 3, -20°C. b. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.

La figura 32 muestra que la viabilidad de las semillas es mayor para el almacenamiento a temperatura ambiente en torlita; la menor viabilidad se registró en el almacenamiento a -20°C de temperatura y se evidencia como va disminuyendo la viabilidad a medida que transcurre el tiempo.

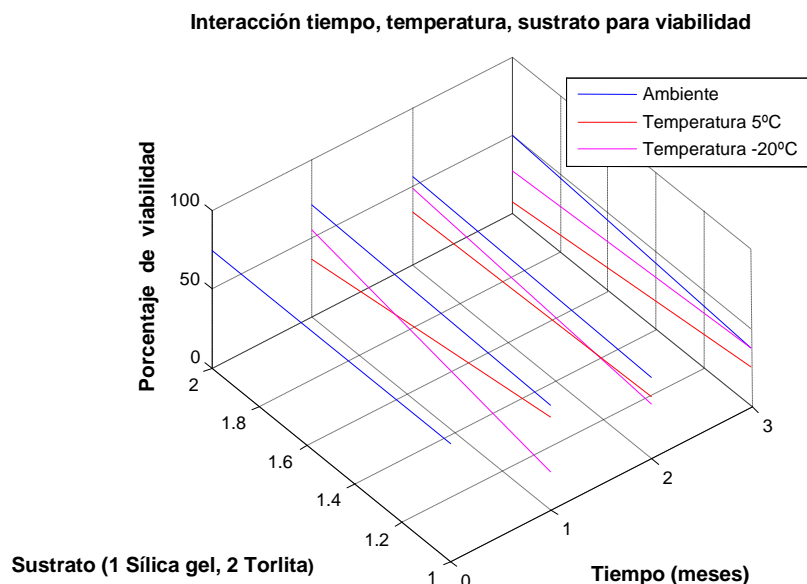


Figura 32. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el porcentaje de viabilidad de semillas de *G. americana*.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos es el adecuado se aplicó una prueba de DMS para la viabilidad de las semillas de *G. americana* (Tabla 11); la cual reveló que hay 3 grupos en los cuales las medias no difieren significativamente unas de la otras.

Tabla 11. DMS para interacción de factores en la viabilidad de semillas de *G. americana*.

Factores	Media	Grupos homogéneos
Temperatura		
Ambiente	60.229	A
5°C	47.104	B
-20°C	43.875	B
Sustrato		
Sílica Gel	49.986	A
Torlita	50.819	A
Tiempo		
0	74.667	A
1	51.944	B
2	44.028	B
3	30.972	C

Al evaluar la viabilidad en las pruebas de calidad se registraron valores entre 10-80%. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas en la temperatura y tiempo, así como en las interacciones sustrato-temperatura y temperatura-tiempo. La mayor viabilidad se obtuvo en almacenamiento a temperatura ambiental con el sustrato torlita y la menor viabilidad se obtuvo a 5°C. La disminución de la viabilidad durante el tiempo de almacenamiento fue gradual.

Estos resultados determinan un pauta diferente a los estudios reportados en especies forestales como *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* (Acero, 2005), en los cuales, los mayores porcentajes de germinación y viabilidad se obtuvieron a temperaturas de 5°C en semillas que fueron almacenadas por un periodo de cuatro meses, igualmente Ceballos & López (2007) reportaron pérdida de viabilidad y del poder germinativo con temperaturas mayores a 12 °C. Según Bermúdez (1998), citado por Ceballos & López (2007), las temperaturas bajas favorecen la conservación.

Reportes como el de Salazar (1999), coinciden con los resultados obtenidos, pues este autor menciona que almacenadas en condiciones ambientales las semillas de *G. americana* conservan su viabilidad por dos meses. Sin embargo los resultados contrastan con lo afirmado por el mismo autor (Salazar, 1999), quien menciona que en cámaras frías a 4°C y contenidos de humedad de 6 a 8% las semillas conservan su viabilidad por un año.

Salomão (2004) encontró que la viabilidad de las semillas de *G. americana* decreció durante el almacenamiento a 5, 10 y 15°C después de 12 meses de almacenamiento en contenidos de humedad de 38%. Igualmente, cuando sometió las semillas a una temperatura de -20°C durante 24 horas, encontró viabilidades entre 3-4%.

De lo anterior se puede inferir que la combinación de temperatura de 5°C con alto contenido de humedad deteriora la calidad de las semillas almacenadas y que las semillas son sensibles a bajas temperaturas; pues en esta investigación la viabilidad obtenida en almacenamiento a -20°C fue inferior al 50%.

Otro tipo de investigaciones como la de Stanislav & Plaza (2007), reportan que *G. americana* presentó una estrategia de viabilidad durante cuatro meses inmersa en agua después de la diseminación, pues no germina en condiciones de anoxia.

Para las semillas almacenadas a 5 y -20°C hubo dificultad en la evaluación de las estructuras del embrión por la coloración poco intensa de los tejidos a una concentración de tetrazolio al 0.1%.

Los anterior concuerda con lo reportado por Bhering *et al.* (2005), para semillas de Melancia; quienes dicen que el uso de solución de tetrazólio al 0,1% no se

mostró adecuado, una vez que los tejidos vigorosos en vez de rojo brillante se presentaron con coloración rojo carmín un poco menos intensa que la observada en los tejidos con lesiones, lo que dificultó la observación de los daños, especialmente en regiones vitales del embrión. La coloración más uniforme fue obtenida cuando se utilizó una concentración de tetrazolio al 0.075% por 60 minutos a 40°C en oscuridad.

Así mismo, Ferreira *et al.* (2007) encontraron que la concentración del 0,05% de la solución de tetrazólio en especies forestales, permitió, aún, una coloración más nítida de los embriones cuando fue comparada a la concentración del 0,1%, lo que facilitó el análisis visual de la viabilidad. Investigaciones con semillas de Fabaceae indican que en concentraciones más bajas los resultados de viabilidad parecen presentar una mayor correspondencia con las pruebas de germinación que en concentraciones más elevadas de la sal de tetrazólio, como se observó para semillas de *Pterodon pubescens*, *Senna multijuga* y *Senna macranthera* (Ferreira *et al.*, 2007).

Por lo tanto, la baja viabilidad de muchas semillas y la poca concordancia de ésta prueba con la de germinación puede deberse a la concentración de tetrazolio, que quizá estuvo muy alta para la especie.

Para la identificación rápida de la viabilidad de *G. americana*, Silva *et al.* (2006) recomiendan la combinación de pre-condicionamiento a 30°C por 24 horas, en la concentración de 0,025 % de la sal de tetrazólio durante dos horas de exposición.

En síntesis, el deterioro de las semillas durante el almacenamiento permite establecer que a pesar de la existencia de un orden de factores que actúan sobre la viabilidad, germinación y emergencia de las semillas, se otorga mayor importancia a los efectos de la temperatura, el tiempo y la humedad (Ortuño, 1980).

5.3.3 Germinación

En esta prueba se obtuvieron valores de PG entre 0 - 100%. (Tabla 12); la TG varió entre 23 a 33 días y el IVG fue inferior a 1 semilla por día, con un rango entre 0.03 - 0.44 semillas por día.

Tabla 12. Prueba de germinación de *G. americana* durante el almacenamiento con torlita a temperatura ambiente, para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Periodo de almacenamiento	Procedencia	Porcentaje de germinación (%)	Tasa de Germinación (días)	Índice de velocidad de Germinación (semillas/día)
30 días	Moravita	0	0	0
	San Pablo	0	0	0
	Puerto Alejandria	20	27	0.07
	Verdun	0	0	0
	Ocaso	10	33	0.03
	Puerto Samaria	0	0	0
60 días	Moravita	0	0	0
	San Pablo	100	27.1	0.37
	Puerto Alejandria	70	29.14	0.24
	Verdun	100	28.8	0.35
	Ocaso	10	33	0.03
	Puerto Samaria	100	25	0.44
90 días	Moravita	0	0	0
	San Pablo	0	0	0
	Puerto Alejandria	50	29.8	0.17
	Verdun	70	25	0.28
	Ocaso	0	0	0
	Puerto Samaria	80	23	0.36

El ANOVA para la variable porcentaje de germinación, muestra diferencias significativas tanto para los factores como para sus interacciones en su totalidad (Tabla 13) (Figuras 33 y 34).

Tabla 13. ANOVA para el porcentaje de germinación de semillas de *Genipa americana*.

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Procedenc	5	0.0834	0.01669		
Sustrato	1	0.3772	0.37720	19.69	0.0000*
Temperatu	2	0.7544	0.37720	19.69	0.0000*
Tiempo	3	18.0245	6.00816	313.66	0.0000*
Sustrato*Temperatu	2	0.7544	0.37720	19.69	0.0000*
Sustrato*Tiempo	3	0.2854	0.09512	4.97	0.0028*
Temperatu*Tiempo	6	0.5707	0.09512	4.97	0.0001*
Sustrato*Temperatu*Tiempo	6	0.5707	0.09512	4.97	0.0001*
Residual	115	2.2028	0.01915		
Total	143	23.6235			

***Significativo al 0.95%.**

En la figura 33a se observa que el mejor sustrato de almacenamiento para la germinación de las semillas fue la torlita (PG: 32.6%) en contraste con la sílica gel (PG: 22%). La figura 33b muestra que el tratamiento con temperatura ambiente

presentó un PG mayor (38%) comparado con temperaturas de 5°C y -20°C, las cuales no difieren entre sí (PG: 23%); para la figura 33c se observa que inicialmente el PG es alto, pero al transcurrir el tiempo en almacenamiento disminuye rápidamente, siendo mayor la germinación durante el segundo (23%) y tercer mes (20%).

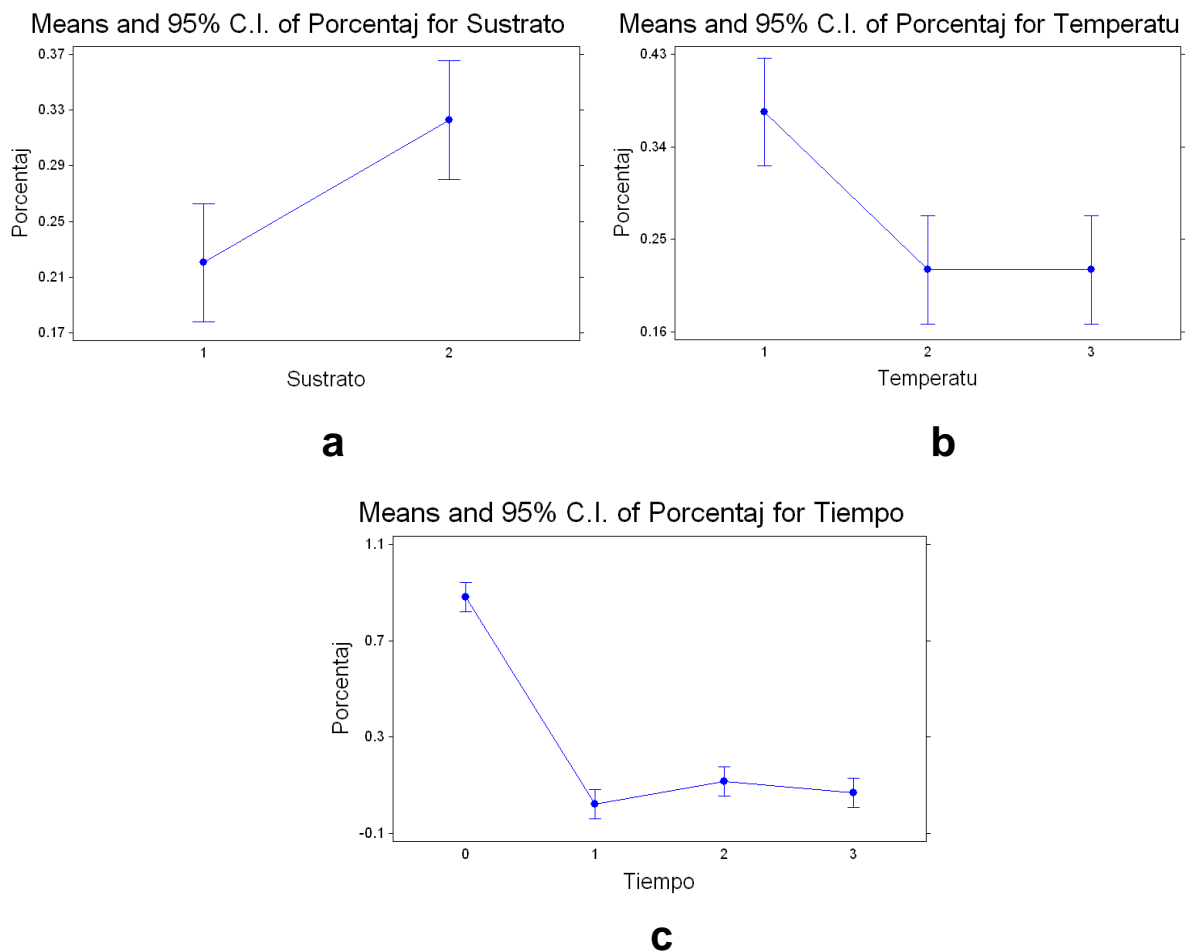


Figura 33. Medias de los porcentajes de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, Temperatura y Tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica gel y 2, Torlita. b. Temperaturas: 1, ambiente; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.

En la figura 34 se puede evidenciar la germinación control de sustratos y temperaturas prealmacenamiento y se observa que los porcentajes más altos de germinación para las semillas de *G. americana* almacenadas se presentaron con torlita a temperatura ambiente.

Interacción tiempo, temperatura, sustrato para porcentaje de germinación

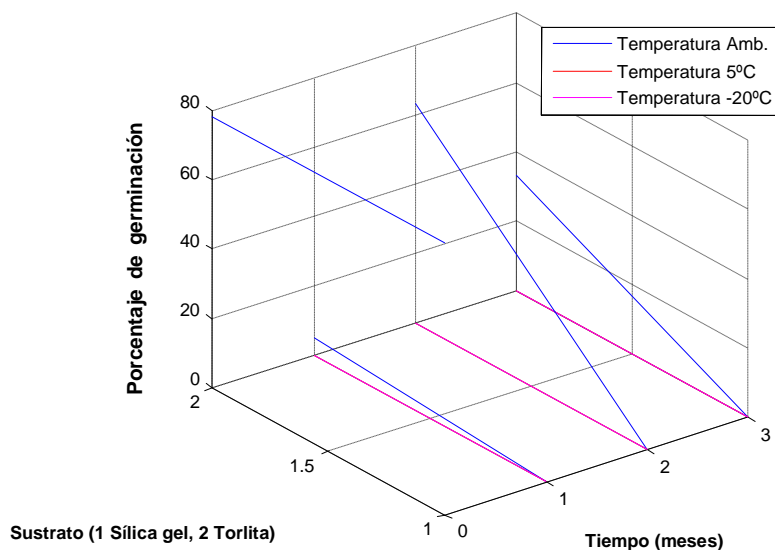


Figura 34. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el porcentaje de germinación de semillas de *G. americana*.

Se aplicó una prueba de DMS para el PG de las semillas (Tabla 14), con el fin de determinar cuál de los tratamientos significativos es el más adecuado y dada la interacción entre los sustratos. En ella se evidencia que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el grupo correspondiente al 28% de PG después del almacenamiento con torlita y B el 20% de PG obtenido con sílica gel.

Tabla 14. DMS para la interacción de factores en el porcentaje de germinación de semillas de *G. americana*.

Factores	Media	Grupos homogéneos
Temperatura		
Ambiente	32.250	A
5°C	19.542	B
-20°C	19.542	B
Sustrato		
Sílica gel	19.542	B*
Torlita	28.041	A*
Tiempo		
0	78.167	A
1	0.833	C
2	10.556	B
3	5.556	BC

* Diferencias significativas al 0.95%.

El ANOVA de la tasa de germinación reveló diferencias significativas para todos los factores e interacciones entre éstos (Tabla 15, figuras 35 y 36).

Tabla 15. ANOVA para la tasa de germinación de semillas de *G. americana*.

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Procedencia	5	2.439	0.4877		
Sustrato	1	7.664	7.6637	22.78	0.0000*
Temperatura	2	15.327	7.6637	22.78	0.0000*
Tiempo	3	217.529	72.5096	215.53	0.0000*
Sustrato*Temperatura	2	15.327	7.6637	22.78	0.0000*
Sustrato*Tiempo	3	3.984	1.3281	3.95	0.0101*
Temperatura*Tiempo	6	7.969	1.3281	3.95	0.0013*
Sustrato*Temperatura*Tiempo	6	7.969	1.3281	3.95	0.0013*
Residual	115	38.688	0.3364		
Total	143	316.896			

* Significativo al 0.95%.

En la figura 35a se pudo observar que la TG fue menor utilizando torlita como sustrato (29 días) en contraste con la sílica gel (31 días). La figura 35b muestra que el tratamiento con temperatura ambiente presenta una tasa de germinación menor (29 días) comparado con temperaturas de 5°C y -20°C, las cuales no difieren entre sí (31 días); para la figura 35c se observa una TG inicial menor (23 días) en comparación con el almacenamiento; pues al transcurrir el tiempo ésta aumenta a más de una semana (33 días para el primer mes y 29 días para el segundo mes y 30 días para el tercer mes).

En la figura 36 se observa que la tasa de germinación control de sustratos y temperaturas prealmacenamiento es mayor; así mismo, se evidencia que el mejor tratamiento para almacenar semillas de *G. americana* es torlita a temperatura ambiente.

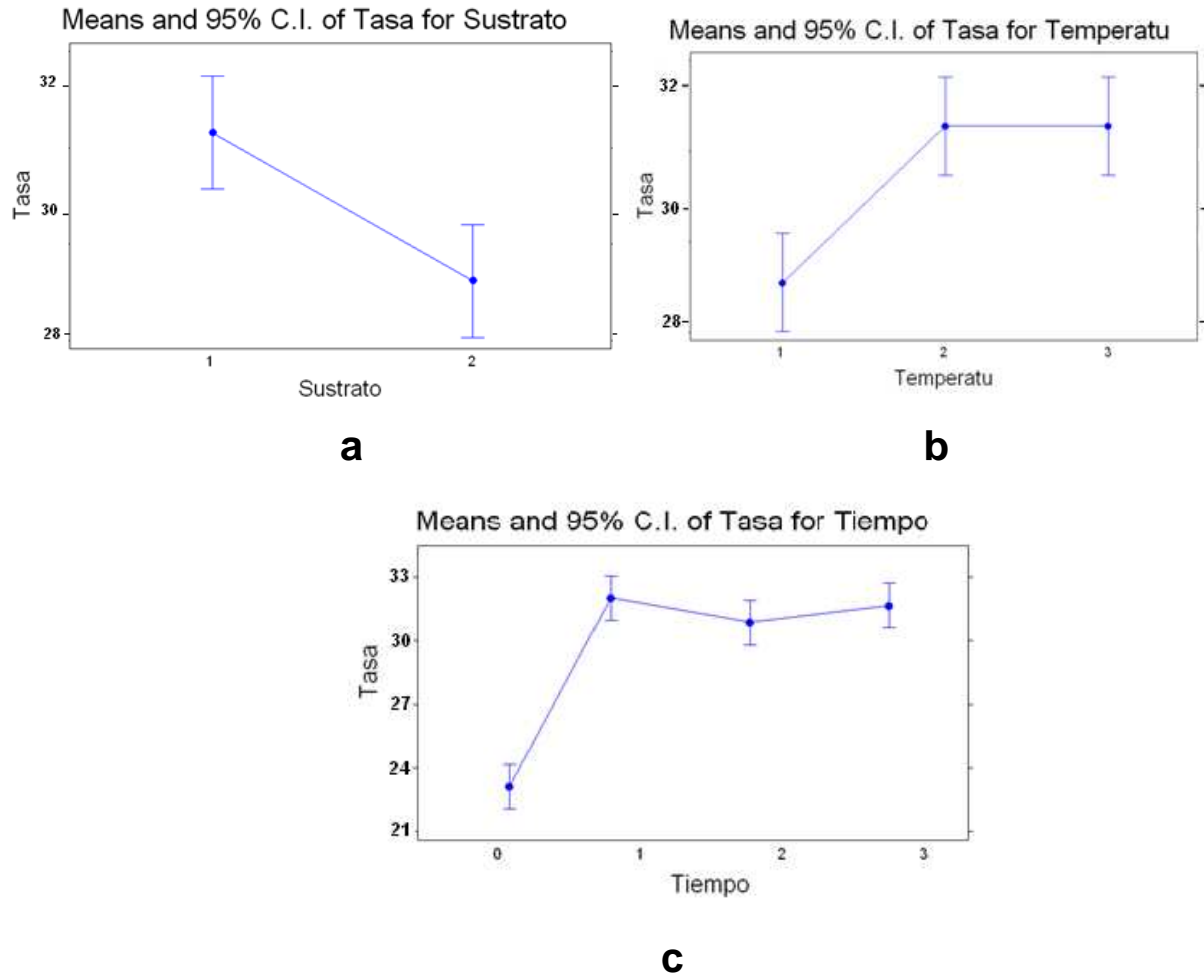


Figura 35. Medias de las tasas de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, Temperatura y Tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica gel y 2, Torlita). b. Temperaturas: 1, Ambiente; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.

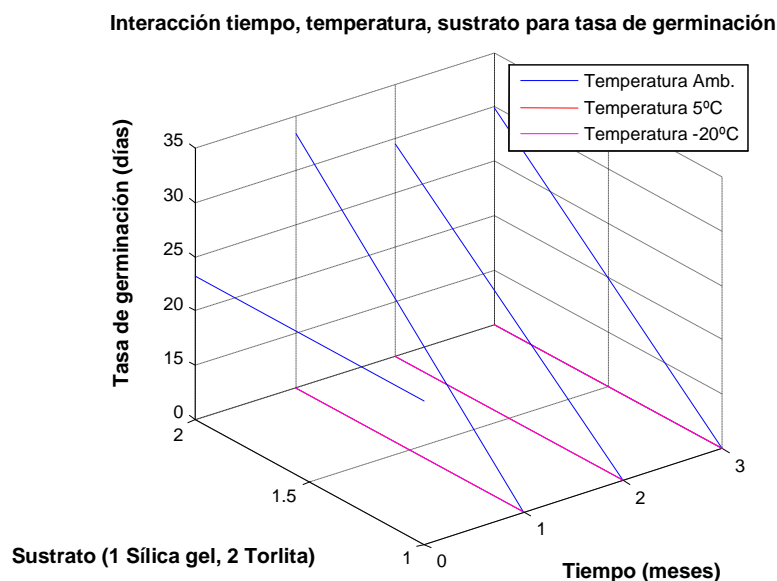


Figura 36. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para la tasa de germinación de semillas de *G. americana*.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos es el más adecuado y dada la interacción entre los sustratos se aplicó una prueba de DMS para la tasa de germinación de las semillas (Tabla 16); la cual muestra que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el valor promedio de tasa de germinación de 31 días para sílica gel y 29 días para torlita.

Tabla 16. DMS para la interacción de factores en la tasa de germinación de semillas de *G. americana*.

Factores	Media	Grupos homogéneos
Temperatura		
Ambiente	31	A
5°C	31	A
-20°C	29	B
Sustrato		
Sílica gel	31	A*
Torlita	29	B*
Tiempo		
0	22.667	B
1	33	A
2	29	A
3	30	A

*Diferencias significativas

El ANOVA del IVG, muestra diferencias significativas para todos los factores y para la interacción de primer orden: Sustrato-Temperatura (Tabla 17, figuras 35 y 36).

Tabla 17. ANOVA para el Índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana*.

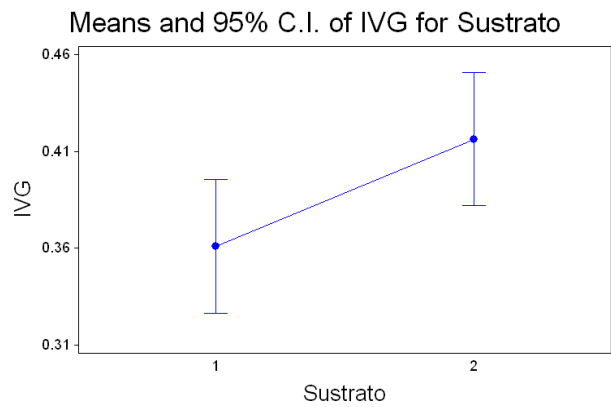
Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Procedencia	5	0.3006	0.0601		
Sustrato	1	0.1111	0.1111	6.20	0.0142*
Temperatura	2	0.2222	0.1111	6.20	0.0028*
Tiempo	3	53.4344	17.8115	993.78	0.0000*
Sustrato*Temperatura	2	0.2222	0.1111	6.20	0.0028*
Sustrato*Tiempo	3	0.0744	0.0248	1.38	0.2515
Temperatura*Tiempo	6	0.1487	0.0248	1.38	0.2272
Sustrato*Temperatura*Tiempo	6	0.1487	0.0248	1.38	0.2272
Residual	115	2.0611	0.0179		
Total	143	56.7235			

* Significativo al 0.95%.

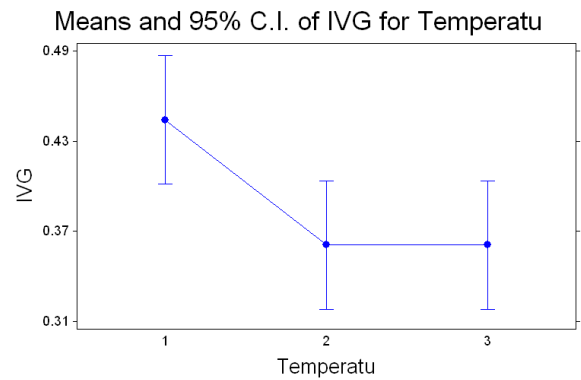
En la figura 37a se observa que el Índice de velocidad de germinación fue mayor utilizando torlita como sustrato (0.41 semillas por día) en comparación a la sílica gel (0.36 semillas por día); la figura 37b muestra que el tratamiento con temperatura ambiente presenta un mayor valor (0.44 semillas por día) comparado con temperaturas de 5°C y -20°C, las cuales no difieren entre sí (0.34 semillas por día); en la figura 37c se observa una velocidad de germinación que disminuye drásticamente durante el almacenamiento, siendo mayor a los 2 meses (0.08 semillas por día).

En la figura 38 se observa que el índice de velocidad de germinación durante el almacenamiento presenta valores inferiores a 1 semilla por día. Como ya se mencionó anteriormente, el mejor tratamiento para almacenar semillas de *G. americana* es torlita a temperatura ambiente.

En general, las semillas presentaron una alta contaminación fúngica asociada principalmente a la humedad en el almacenamiento, ya que las semillas almacenadas a baja temperatura con el sustrato torlita aumentaron su humedad interna de manera que se elevó el ataque fúngico. Para el caso del sustrato sílica gel, el contenido de humedad estuvo por debajo del 10% en varios casos, por lo que la viabilidad de las semillas se redujo y no germinaron. La combinación de tratamientos sustrato-temperatura de almacenamiento en los que hubo germinación de semillas fue torlita a temperatura ambiente y sólo para este caso la contaminación por hongos fue escasa (Anexo I).



a



b

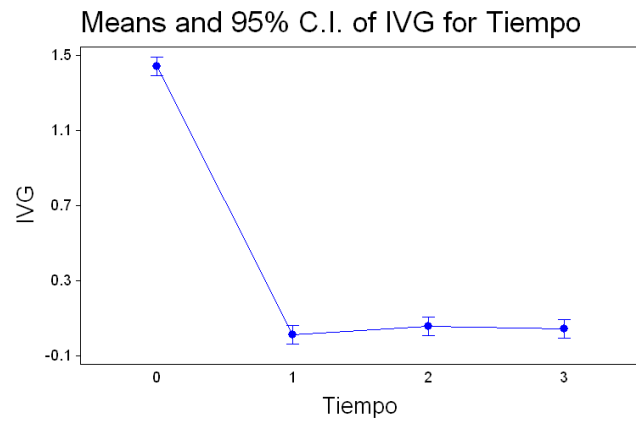


Figura 37. Medias del Índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana* para los factores: Sustrato, Temperatura y Tiempo de almacenamiento. a. Sustratos: 1, Sílica Gel y 2, Torlita). b. Temperaturas: 1, Ambiente; 2, 5°C y 3, -20°C. c. Tiempo de almacenamiento: 0 meses, 1 mes, 2 meses y 3 meses.

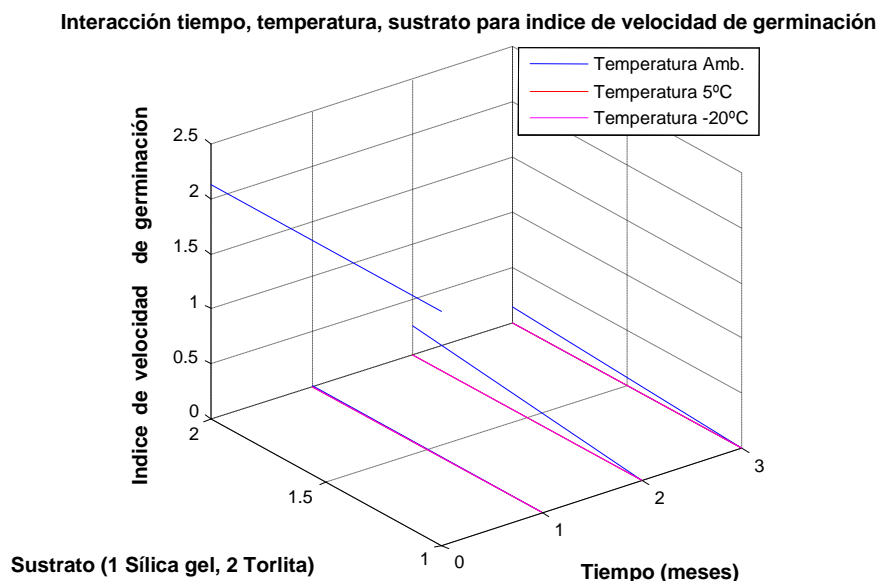


Figura 38. Interacción de segundo orden entre tres factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el Índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana*.

Dada la interacción entre los sustratos y para la determinación del tratamiento significativo adecuado, se aplicó una prueba de DMS para el índice de velocidad de germinación de las semillas (Tabla 18); la cual muestra que no hay diferencias significativas entre los grupos para los factores.

Tabla 18. DMS para interacción de factores en el Índice de velocidad de germinación de semillas de *G. americana*.

Factores	Media	Grupos homogéneos
Temperatura		
Ambiente	0.4167	A
5°C	0.4167	A
-20°C	0.4167	A
Sustrato		
Sílica gel	0.4167	A
Torlita	0.4167	A
Tiempo		
0	1.6667	A
1	0.0000	B
2	0.0000	B
3	0.0000	B

Durante las pruebas de calidad se registraron valores de germinación entre 0-100%, tasa de germinación entre 23-32 días y un IVG inferior a 1 semilla por día. Únicamente se observó germinación para las semillas almacenadas a temperatura ambiente con el sustrato torlita. Siendo mayor a los 2 meses de almacenamiento. Las medias para los sustratos presentaron diferencias significativas, siendo mayor el valor para la PG con el sustrato torlita y menor el valor para la TG con este sustrato.

Según Silva *et al.* (2006), la temperatura óptima para germinación de las semillas extraídas de frutos inmaduros y de frutos maduros se encuentra en la franja de 22°C a 31°C. Así mismo, mencionan que la temperatura mínima de 16°C y las máximas entre 34°C a 37°C y las temperaturas alternadas con temperatura alta (35°C) inhiben la germinación. La temperatura ambiental para la prueba de germinación concuerda con este reporte, ya que se aproxima a 22°C.

Los resultados encontrados difieren de lo reportado en la literatura por Silva *et al.* (2006), quienes mencionan que después de un año de almacenamiento al 11% de humedad y 10°C de temperatura, las semillas de *G. americana* tuvieron un 90% de germinación, mientras que aquellas almacenadas a 5° C y 15° C presentaron 85% de poder germinativo. Así mismo, indicaron que a partir de 6 meses de almacenamiento hubo pérdida de vigor de las semillas independiente de la procedencia, temperatura y contenido de humedad. Sin embargo, en esta investigación la germinación registrada para las semillas almacenadas a 5°C durante un periodo de 90 días exhibió un valor muy bajo (23%) y el contenido de humedad promedio fue de 20%.

La germinación durante el almacenamiento fue nula a -20°C, lo que indica que las semillas son sensibles a la conservación a esta temperatura. Un resultado similar fue obtenido por Salomão (2004), quien expuso las semillas a -20°C durante 24 horas y observó bajos porcentajes de germinación y viabilidades entre 3-4%.

Para las semillas almacenadas a temperatura ambiental se registraron varios casos de semillas que germinaron después del periodo establecido para la prueba; lo cual concuerda con el reporte de Silva *et al.* (2000), quienes verificaron que la máxima germinación fue obtenida a los 70 días; sin embargo la temperatura a la que registró la germinación fue de 30°C.

En general la germinación se vio afectada por la contaminación fúngica y daños internos de la semilla almacenada, no visibles a simple vista previo al inicio de la germinación.

Con respecto a lo anterior, pensando en la obtención de material sano y vigoroso para la conservación *ex situ*, Salomão & Padilha (2006), evaluaron el estadio de

maduración de frutos sobre la germinabilidad y la asociación de micoflora en semillas de *G. americana*. Independiente de la procedencia de los frutos observaron la ocurrencia de hongos en la porción radicular del eje embrionario y la incidencia de *Fusarium oxysporum* en plántulas (Salomão, 2004); la mayoría de los hongos patógenos estaba asociada a las semillas procedentes de frutos maduros.

La incidencia de hongos xerotolerantes (*Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*) y de aquellos de campo (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Epicocum*) en semillas *G. americana* puede ser atribuida a vías de contaminación por transmisión sistémica de la planta madre y vía estigma durante la floración y su localización en tejidos intra-seminales (Salomão & Padilha, 2006). Lo anterior debido a que si los hongos se presentaran externamente, la desinfestación superficial con hipoclorito de sodio, probablemente los habría eliminado.

Hongos asociados a los tejidos de los frutos pueden igualmente infectar interna y externamente las semillas. Como ejemplo de hongos transmitidos vía frutos se tienen aquellos de los géneros *Phoma* y *Phomopsis*, los cuales fueron detectados en semillas de *G. americana* y que posiblemente estaban presentes en tejidos intra-seminales (Salomão & Padilha, 2006).

Con respecto a los análisis y ensayos de semillas, Acero (2005) indica que éstos permiten obtener información básica para conocer la calidad de un lote de semillas; evaluar futuros métodos de recolección, control de enfermedades y plagas, manejo adecuado para almacenamiento, tratamientos pregerminativos y siembra. Por lo tanto, son una herramienta que permite optimizar el procesamiento y manipulación de semillas y aminorar la pérdida en producción de plantas.

Por otra parte, Azerêdo & Matos (2006), observaron que las semillas sembradas entre papel filtro a 30°C, germinaron más rápidamente; el grado de maduración de los frutos no afectó el poder germinativo de las semillas, siendo posible, así, el aprovechamiento de semillas encontradas en frutos inmaduros.

De acuerdo a Mayer & Poljakoff-Mayber (1989), citado por Acero (2005), se puede considerar como óptima la temperatura en la cual se haya obtenido el más alto porcentaje de germinación dentro del menor espacio de tiempo. En este estudio, con la temperatura ambiente se obtuvo los mayores porcentajes de germinación; por lo tanto es la temperatura adecuada para mantener la capacidad germinativa y viabilidad de las semillas de *G. americana*.

Según Trujillo (2002), citado por Acero (2005), algunas investigaciones han determinado que la temperatura ideal para almacenar algunas especies tropicales como *Tabebuia sp*, *Cordia sp*, entre otras similares, es de 17° ± 1°C; por esta

razón es importante realizar ensayos de esta naturaleza para determinar la temperatura óptima de almacenamiento para cada especie ya que todas poseen características y requerimientos propios por lo que no se puede generalizar un tratamiento.

Según Niembro (1979), citado por Urrea & Suarez (2009), las semillas almacenadas a temperatura ambiente (22°C) continúan sus procesos de respiración y oxidación de lípidos y proteínas, con la subsiguiente degradación y muerte del embrión, y pérdida de su capacidad germinativa. Por su parte, Ortuño (1980), afirma que las semillas almacenadas a elevadas temperaturas incrementan su tasa metabólica o bien, se destruyen en ellas algunas enzimas; sin embargo, para ésta investigación se encontró que en el almacenamiento a temperatura ambiente con control de humedad a través de los sustratos torlita y sílica gel, no presentaron contaminación fúngica en contraste con las almacenadas a baja temperatura.

El ambiente normal de laboratorio, sin control de la temperatura y de la humedad relativa del aire, no es eficiente para conservar la calidad fisiológica de las semillas (Araújo *et al.*, 2005).

Para Niembro (1990) y Cordero & Oliveros (1983), citados por Acero (2005), el almacenamiento de semillas forestales bajo condiciones controladas constituye en la actualidad el método más fácil y económico para conservar la diversidad genética de numerosas especies forestales de valor actual o potencial, así como aquellas que se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, porque almacenando las semillas en condiciones adecuadas se evita el deterioro temprano y se mantiene la calidad durante más tiempo.

Contrario a lo encontrado por Parra & Suarez (2009) para semillas de tipo ortodoxas como *Tabebuia rosea*, quienes reportan que a temperatura de -20°C, las semillas presentan altos valores de germinación entre el 75-70%, seguido por la temperatura a 5°C con valores entre el 70-30% permitiendo establecer que las bajas temperaturas son las más adecuadas para el almacenamiento de semillas de esta especie. Mientras que para *G. americana* las bajas temperaturas no son las más adecuadas para los niveles máximos de su germinación, además provocan un ambiente propicio para la proliferación de hongos xerotolerantes. Además, como lo mencionan Vázquez *et al.* (1997), una de las limitantes cuando se almacena semillas a bajas temperaturas, es el riesgo de formar cristales dentro de las células por congelamiento que terminarían por romper los tejidos de las semillas; es posible que en este estudio, las semillas almacenadas a -20°C con el sustrato sílica gel hayan presentado este proceso.

Como lo confirman Salomão (2004) y Salomão & Padilha (2006) para *G. americana*; se conoce que las semillas pueden ser parcialmente desecadas, sin embargo pierden gradualmente la viabilidad durante el almacenamiento a corto plazo (12 meses) en bajas temperaturas.

La temperatura presenta una gran influencia tanto en el porcentaje como en la velocidad de germinación, influenciando la absorción de agua por la semilla y las reacciones bioquímicas que regulan el metabolismo involucrado en este proceso (Bewley & Black, 1994, citados por Acero, 2005).

En alusión a lo anterior, Salomão (2004) encontró que la viabilidad de la semilla de *G. americana* decreció durante el almacenamiento a 5, 10 y 15°C después de 12 meses de almacenamiento en contenidos de humedad de 12-38% y la germinación fue nula. Sin embargo durante el mismo periodo y temperaturas, la germinación fue alta (>80%) para semillas secadas a 11% de humedad. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en la literatura, pues, en general, las semillas de *G. americana* se conservan mejor a temperatura ambiente en un contenido de humedad por encima del 10%. Existe una interacción entre la temperatura y el contenido de humedad de la semilla; de ambos depende su buena conservación durante el almacenamiento, ya que la temperatura influye en la absorción de humedad, durante el almacenamiento.

Por otra parte, con respecto al sustrato para control de humedad, Salomão (2004) obtuvo altos porcentajes de germinación prealmacenamiento para *G. americana* en semillas secadas a contenidos de humedad entre 47 y 19%, manteniéndose porcentajes altos en el secado con torlita y decreciendo por debajo del 50% en el secado con sílica gel a un contenido de humedad menor de 9%. Lo anterior coincide con lo encontrado en esta investigación; pues el mejor sustrato de correspondió a la torlita, la cual tiene alta capacidad de retención de agua (Walker 1975; citado por Silva *et al.*, 2000). Esto se evidencia en la germinación, la cual se dio únicamente para las semillas almacenadas con torlita como sustrato control de humedad.

De acuerdo con Carvalho *et al.* (2000), las semillas de *G. americana* presentan comportamiento intermedio en el almacenamiento, soportando la desecación en contenidos de humedad próximos a 10% y no toleran el congelamiento (Silva *et al.*, 2006). Éste reporte concuerda con lo mencionado por Salomão (2004), quien encontró un contenido de humedad crítico entre 9 y 6% de peso fresco y un contenido de humedad óptimo para el almacenamiento correspondiente a 11%. Estos resultados sugieren que las semillas de *G. americana* tienen comportamiento intermedio.

En la presente investigación se logró establecer el comportamiento de las semillas de *G. americana* bajo factores que pudieran influenciar el potencial germinativo, viabilidad y el contenido de humedad, variables que se evaluaron periódicamente para determinar las pautas a tener en cuenta en el almacenamiento; confirmándose finalmente que la especie presenta semillas de tipo intermedias.

5.4 PROTOCOLO DE ALMACENAMIENTO PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE *Genipa americana*

(Realizado por Sandra Viviana Ramírez Morales)

**Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Banco de Semillas Forestales.
Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de la
Universidad del Quindío. (CIBUQ).**

A continuación se presentan en detalle los procedimientos a seguir y los datos a registrarse, con base en lo sugerido por Schimdt (2000), Rao *et al.* (2007) y Gold *et al.* (2004).

1. BIOLOGÍA FLORAL Y ECOLOGÍA

La floración es periódica y ocurre cada 3-4 meses y fructifica durante todo el año (Arias *et al.*, 2006). Lleva hasta un año para que los frutos maduren y pueden durar en el árbol hasta 26 meses (Orozco *et al.*, 2002 y Orozco & Gómez, 2006).

2. FUENTE SEMILLERA

2.1 Evaluación de las poblaciones:

Realización de una visita previa para ubicar las poblaciones potenciales, confirmar la identificación de los individuos de la especie y estimar la fecha de recolección según la época de producción de las semillas. Es necesario conocer la accesibilidad para evaluar el factor de riesgo.

2.2 Selección de la fuente semillera:

La calidad de las semillas está influenciada por las características fenotípicas del parental; por lo que es preferible que las semillas colectadas provengan de árboles con tallo recto que no presenten plagas y enfermedades. Se debe buscar obtener material que represente la diversidad genética de la población muestreada y que de manera ideal pueda recrear la población original en caso de que ésta se extinga. En el caso del muestreo de varias poblaciones a lo largo del rango de distribución de la especie, las opciones de contener material genético con potencial de adaptación a las condiciones locales para restauración de un hábitat son mayores.

2.3 Evaluación del estado de dispersión de las semillas:

Algunos indicadores morfológicos de la fase de dispersión natural incluyen frutos maduros que se han desprendido del árbol y se rompen al caer al suelo liberando las semillas, ruptura brusca de los carpelos y liberación de las semillas con adherencia al árbol de parte del fruto.

En la morfología de los frutos y semillas, el índice de madurez del fruto corresponde a características tales como: 6.57-8.19 cm ancho, 9.9-13.23 cm largo y 240-378 g. peso en promedio, exocarpo de color café parduzco con presencia de líquenes blanquecinos, consistencia blanda al tacto, olor agrio y fuerte. Ausencia de sustancias colorantes. Aproximadamente 170 semillas al interior del fruto, envueltas en fibras del mesocarpo, de color amarillo-blanquecino.

3. COLECTA DE SEMILLAS

3.1 Plan de recolección:

Debido a la distribución dispersa de los individuos y a la disminución de la especie por factores antropogénicos, se recomienda recolectar la mayor cantidad posible de semillas y mantener las de cada individuo en recipientes separados. El etiquetado del material colectado dentro y fuera del recipiente es imprescindible para mantener la identidad del lote de semillas de un árbol cuando la identidad de la planta madre debe ser conocida.

3.2 Datos:

Es necesario tomar registro de las coordenadas geográficas de cada individuo para facilitar su ubicación dentro de cada población para posteriores colectas, futuras investigaciones o labores de monitoreo de los individuos de la especie.⁴

3.3 Método de Colecta:

Está influenciado por los factores climáticos en el momento de la colecta, la altura de los árboles, la accesibilidad y el terreno. Debido a la altura que alcanzan los individuos de la especie (10-25 m de altura), se recomienda colectar los frutos directamente del árbol por medio de una podadora de extensión, cortando racimos de frutos. Se debe revisar cada racimo colectado para evitar la posibilidad de incluir frutos inmaduros y cuidando de reducir el daño mecánico a los árboles que propicie el ingreso de insectos u hongos a través del área cortada. La colecta directamente del suelo se debe evitar, ya que la exposición a la radiación solar, humedad del terreno y la presencia de insectos depredadores disminuyen considerablemente la calidad de la semilla y aumentan la incidencia de proliferación fungal en la germinación.

Una opción para superar este inconveniente, evitando colectar frutos infestados o causar daño a los árboles, es la colocación de redes bajo los árboles durante el periodo de caída natural de los frutos; pues éstas no reúnen el agua de lluvia junto con los frutos de manera que no se corren riesgos de deterioro, depredación, dispersión o germinación rápida después de la caída. La cantidad de frutos que se pueden recoger con este método depende de la cobertura de la malla bajo el árbol. La principal ventaja es el ahorro de tiempo, trabajo y el mantenimiento de la identidad de las semillas.

3.4 Prelimpieza:

Remoción de material de gran tamaño, tal como hojas, pedúnculos o frutos demasiado pequeños. Esto ayuda a reducir el peso durante el transporte y la optimización del espacio durante el procesamiento; además de una posible infestación de las semillas por insectos o patógenos presentes en este tipo de material.

4. DETALLES DE TRANSPORTE DEL FRUTO

4.1 Contenedores para transporte:

La bolsa plástica con pequeños agujeros laterales para asegurar la ventilación.

4.2 Precauciones especiales:

Temperatura entre 20-35°C, ya que las altas temperaturas aumentan la respiración. Necesitan ventilación para evitar desarrollo de hongos y recalentamiento.

4.3 Duración del transporte:

Es importante lograr que transcurra el menor tiempo posible entre el envío de los frutos extraídos desde el lugar de recolección y su llegada al sitio de procesamiento.

5. PROCESAMIENTO DE SEMILLAS

5.1 Limpieza, extracción y remoción de partes específicas:

Las semillas deben estar maduras antes de la extracción. Si no lo están los frutos se pueden poner a madurar con las semillas dentro dejándolos en un ambiente fresco, bien ventilado para evitar la infección por hongos.

Una vez maduros, los frutos se pueden abrir con un cuchillo. Se extraen las semillas, se lavan y se retiran las fibras del mesocarpo que las envuelven, con un cepillo de cerdas suaves y se esparcen sobre papel periódico o absorbente, en un sitio fresco, ventilado, para un secado previo entre 2-3 horas.

5.2 Número de días entre procesamiento y el inicio de ensayos de laboratorio:

Si las semillas no se pueden manipular de inmediato, los frutos se pueden almacenar por un período corto antes de extraer las semillas. Se recomienda mantenerlos en recipientes parcialmente ventilados, como bolsas plásticas, no muy cerrados y a la sombra; si se observan gotas de agua se requiere ventilarlos hasta que se sequen y se ubican de nuevo en bolsas libres de humedad. Las condiciones de almacenamiento deben simular las de la planta madre.

5.3 Remoción manual de semillas, dañadas, infectadas o infestadas:

Inspección visual de las semillas sobre una superficie bien iluminada para detectar daño por hongos o insectos y exclusión de las semillas infestadas del resto del material. La presencia de pequeños puntos oscuros en la semilla, vistos a la luz es indicador de daño interno en la semilla y es una posible fuente de infección posterior. Las semillas vacías y el material liviano deben incluirse en el material de exclusión.

5.4 Análisis de Pureza:

Determinación de la necesidad de limpieza adicional, para lo cual se pesa una muestra de trabajo del total del lote de semillas escogida al azar y se dispersa la muestra sobre una mesa, separando con pinzas las semillas puras, dejando que las semillas se deslicen por una superficie inclinada.

6. PRUEBAS DE CALIDAD INICIALES

6.1 Prueba de contenido de humedad inicial:

Secar las semillas en una cabina desecadora con sílica gel realizando pesajes de réplicas de 20 semillas mínimo, por 3 días consecutivos (a las 0, 3, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 36, 48 y 72 horas de secado) hasta alcanzar un peso estable, que indique un contenido de humedad mínimo de 10%. El Contenido de humedad (CH) se

expresa en términos del peso del agua contenida en una semilla como porcentaje del peso total de la semilla antes del secado, conocido como peso húmedo o como base de peso fresco (pf).

6.2 Viabilidad:

Se realiza un corte longitudinal de las semillas (previo acondicionamiento en agua a 30°C por 24 horas) a través de los cotiledones con una cuchilla desechando la mitad de cada semilla y colocando la otra mitad en solución de tinción de tetrazolio al 0.25% durante 2 horas (según lo sugerido por Nascimento, 1997; citado por Silva *et al.*, 2006), en cajas petri; las cuales se sellan con papel aluminio simulando oscuridad y se mantienen a temperatura ambiente. Posteriormente se lavan las semillas con abundante agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se evalúa el patrón de tinción de las semillas a simple vista. El color de los tejidos viables es rojo intenso. Los tonos rosados y rojos muy oscuros indican tejido muerto.

6.3 Capacidad de germinación inicial:

Para esta prueba se requieren mínimo dos réplicas de 50 semillas o 4 réplicas de 25 semillas.

Primero las semillas se mantienen por durante 10 minutos en un recipiente con 2 ml de Tween 20, luego se enjuagan con abundante agua; seguidamente se dejan en alcohol comercial por 10 minutos y se enjuagan. Por último se desinfectan con hipoclorito de sodio comercial durante 15 minutos y finalmente se enjuagan con abundante agua cuidando que no queden restos de agentes de lavado en las semillas a utilizar.

Posteriormente, las semillas se ubican en cajas petri, previamente esterilizadas con alcohol al 70%; se coloca el papel sustrato en la parte inferior, cortado según el tamaño y la forma del recipiente. Se agrega un volumen de agua destilada según el grosor del papel sustrato. Las semillas se dispersan uniformemente de modo que no queden en contacto unas con otras; a una distancia de 3 a 5 veces el diámetro de la semilla. Se utiliza cinta de enmascarar para sujetar las tapas de cada recipiente y evitar que las semillas se contaminen por esporas de hongos dispersas en el aire. Cada caja petri se rotula con los datos de la especie, tipo de tratamiento y la fecha de inicio de la prueba. Las semillas se dejan en luz a una temperatura entre 15-30°C. Regularmente el sustrato se rocía con agua y se

hacen los respectivos conteos del número de semillas germinadas por día, basándose en una longitud de la radícula superior a 0.5cm.

Aproximadamente a los 30 días del inicio de la prueba se calcula el porcentaje de germinación, la tasa de germinación y el índice de velocidad de germinación como lo indica Maguire, 1962, citado por Otegui *et al.* (2007). Es posible extender el periodo de la prueba hasta 70 días para verificar el máximo de germinación de la especie reportado por Andrade *et al.* (2000).

7. ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS

7.1 Preparación para desecación:

Seque las semillas sobre papel absorbente al interior de una cabina desecadora con sílica gel como agente absorbente, por un periodo de 48-60 horas; lapso de tiempo en el cual las semillas alcanzaron el rango de contenido de humedad requerido para el almacenamiento humedad de 10%.

7.2 Separación de lotes de semillas para almacenamiento:

Se hace la selección en grupos de 150 semillas a las cuales se les toma el peso en conjunto. Se toma una cantidad de torlita equivalente al volumen que ocupa el grupo de semillas.

7.3 Almacenamiento de semillas:

Las semillas son dispuestas en bolsas de selle hermético de 12*15 cm separadas de la capa de Torlita por una hoja de papel filtro. Las bolsas son selladas cuidando que no quede aire al interior de la bolsa y etiquetadas al interior y exterior con los datos de la especie, número de accesión, peso de las semillas, fecha de almacenamiento y sitio de colecta. Así mismo, las bolsas con las semillas son introducidas en recipientes de vidrio transparente con selle hermético y dejadas en almacenamiento a temperatura ambiente.

8. EVALUACION DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS

De manera bimestral se realizan pruebas periódicas para verificar la calidad de las semillas almacenadas, mediante ensayos de contenido de humedad, viabilidad y germinación de las muestras conservadas, siguiendo la metodología descrita con anterioridad. Para el caso de los ensayos de germinación, se utilizan 3-5 g del fungicida Vitavax 300 disueltos en un litro de agua destilada para aminorar la incidencia de contaminación fúngica.

5.5 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

El análisis morfométrico permite establecer diferencias en las variables examinadas para todas las procedencias de las semillas. En primer lugar la estadística descriptiva presenta un valor promedio del peso de la semilla para las seis procedencias igual a 0.24 g, largo promedio 1.17 cm, ancho promedio 0.92 cm, grosor promedio 0.34 cm, (Anexo J, Figuras 39 y 40 a-b), relación largo/ancho promedio 1.23, volumen promedio 0.38cm^3 y forma más común fue la categoría 3, equivalente a semillas irregulares.

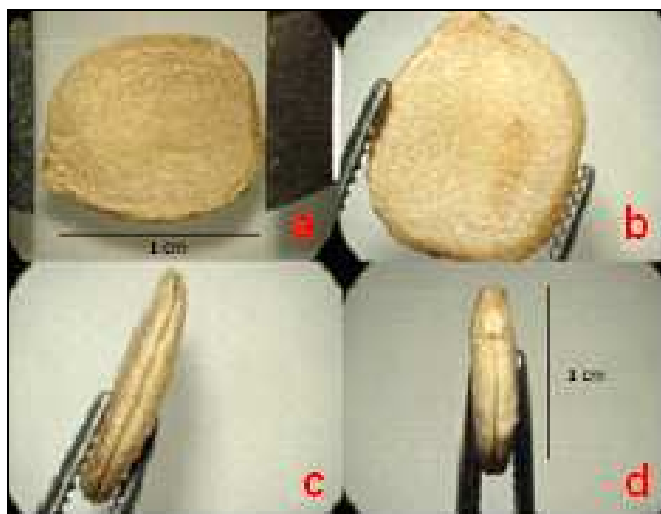


Figura 39. Medición de semillas de *G. americana*. Variables morfométricas: a. Largo, b. ancho, c. grosor. d. vista lateral semilla mostrando extremo micropilar.

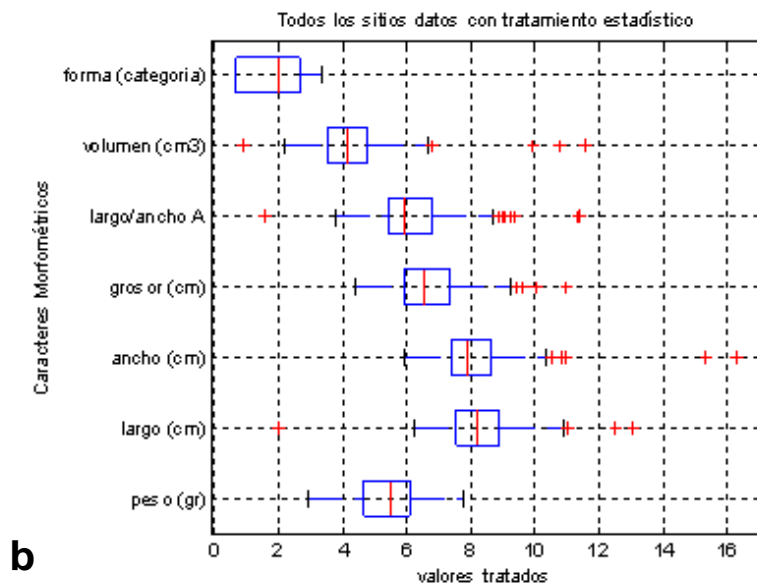
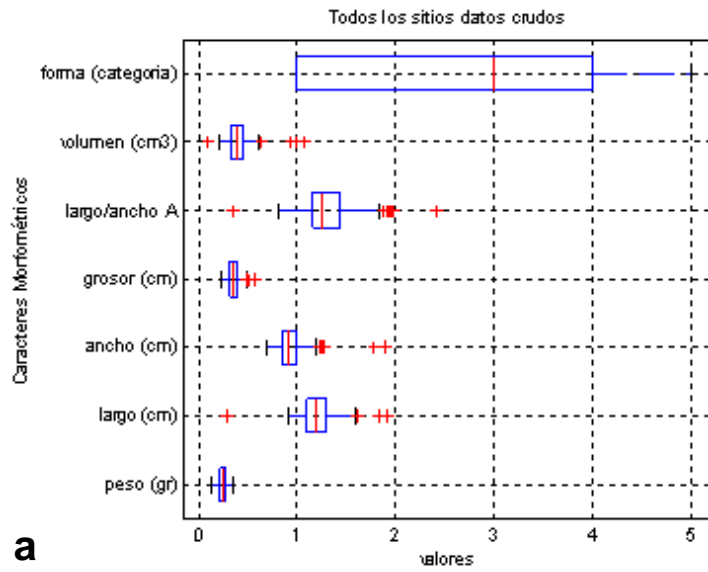


Figura 40. Datos de los caracteres morfométricos de semillas de *G. americana*. a. Datos sin tratamiento estadístico. b. Datos con tratamiento estadístico.

Los resultados del análisis de los valores de coeficiente de variación y factor de variación obtenidos para cada una de las siete variables examinadas en cada una de las seis procedencias mostraron que la variable forma tuvo los valores más elevados para el coeficiente y factor de variación (0.49 y 2.23); mientras que la variable largo presentó el valor más bajo en coeficiente de variación (0.08) y las variables grosor, peso y volumen tuvieron los menores valores en el factor de variación ($1.941 \cdot 10^{-03}$, $6.46 \cdot 10^{-03}$ y $3.62 \cdot 10^{-03}$ respectivamente) (Anexo 10, Figura 41).

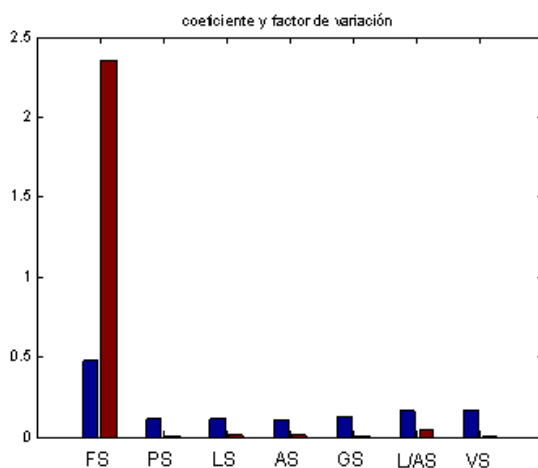


Figura 41. Variación en los valores de coeficiente y factor de variación para los caracteres morfológicos de la semilla evaluados: Forma (FS), peso (PS), largo (LS), ancho (AS), grosor (GS), relación largo/ancho (L/AS), volumen (VS).

Los resultados del análisis de componentes principales efectuado (Tabla 19) revelaron que la componente 1 tiene la mayor correlación positiva con volumen, peso y largo de la semilla, mientras que tiene correlación negativa con la forma de la semilla.

La componente 2 tiene correlación positiva con relación largo /ancho, largo de la semilla y grosor de la semilla; pero la correlación es negativa con el ancho y peso de la semilla.

En el caso de la componente 3 existe correlación positiva con largo, ancho y forma de la semilla y correlación negativa con el grosor y volumen de la semilla.

En la componente 4 se encontró correlación positiva con largo de la semilla, y relación largo/ancho; pero la correlación es negativa con la forma de la semilla. C5 tiene correlación positiva con el largo, relación largo/ancho y ancho de la semilla; mientras que la correlación negativa es para la forma y grosor de la semilla.

Tabla 19. Matriz de Valores y vectores del Análisis de Componentes Principales para semillas de *G. americana* de seis procedencias del Departamento del Quindío.

Autovectores	COMPONENTES PRINCIPALES				
	C1	C2	C3	C4	C5
PS	0.5035	-0.1352	0.0096	-0.0691	-0.8462
LS	0.4631	0.3031	0.4582	0.1367	0.1597
AS	0.2853	-0.6058	0.2633	0.0106	0.2591
GS	0.2997	0.1465	-0.7921	-0.1793	0.1197
L/AS	0.1627	0.6966	0.1527	0.0878	0.0165
VS	0.5772	-0.0932	-0.1242	-0.0431	0.4178
FS	-0.0339	0.0861	0.2333	-0.9668	0.0466

En la Figura 42 se presenta el gráfico en dos dimensiones de las primeras dos componentes, donde se puede apreciar que la gran mayoría de observaciones se acumulan en los valores centrales de ambos componentes (elipse Figura 42), aunque hay algunos datos que destacan por los valores distintos.

Las semillas de la Moravita presentan valores positivos para la primera componente, con algunos datos positivos y negativos en la segunda componente. Así mismo, las semillas del Ocaso presentan principalmente valores positivos para la primera componente y se distribuyen cerca al centro para la segunda componente, con un dato atípico. Las semillas de Puerto Alejandría presentan en principalmente valores positivos en la primera componente y se acumulan cerca al centro entre valores negativos y positivos para la segunda componente, con varios datos bastante dispersos.

Las semillas procedentes de San Pablo muestran valores bajos para la primera componente principal y se distribuyen cerca al centro para la segunda componente; las semillas de Puerto Samaria presentan en su mayoría valores negativos para la primera componente, pero positivos para la segunda componente con un par de datos que se aleja de la variabilidad promedio.

En el caso de Verdun, las semillas se encuentran agrupadas cerca al centro y presentan un dato atípico.

En general las semillas del mismo municipio (San pablo-Puerto Samaria y Ocaso, Puerto Alejandría) tienen variabilidad más similar que entre los municipios (Figura 42).

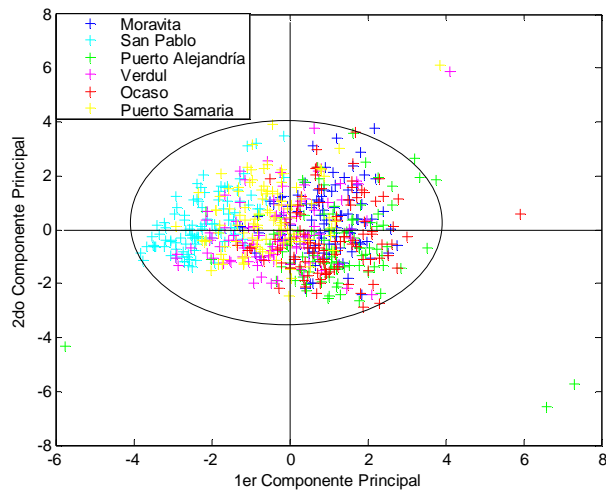


Figura 42. Gráfico bidimensional de las dos primeras componentes que muestra la variabilidad en observaciones de semillas de *G. americana* de las seis procedencias.

La figura 43 exhibe la varianza explicada por cada uno de los cinco componentes principales que es de 37.88% para C1, 26.25% para C2, 15.47% para C3, 14,11% para C4 y 5.77% para C5. La varianza acumulada es de 38% para C1, 64% para C2, 79% para C3, 93% para C4 y 99% para C5.

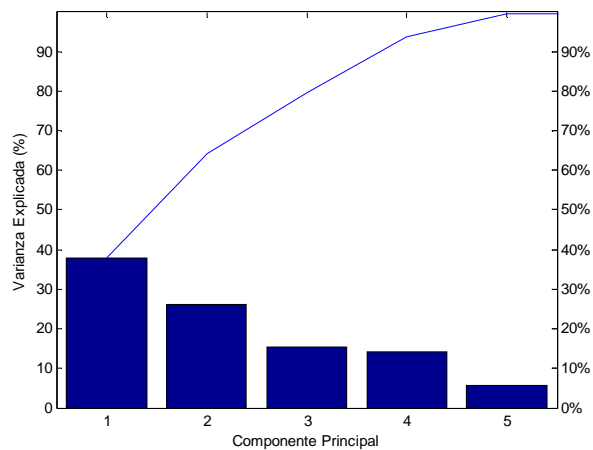


Figura 43. Varianza explicada y varianza acumulada para los cinco componentes principales de los caracteres morfométricos de semillas de *G. americana* de las seis procedencias.

Los resultados morfométricos obtenidos se asemejan a lo reportado en la literatura por Jøker *et al.* (2003), quienes encontraron que las semillas son planas y miden 1 a 1.20 cm de longitud.

Por otra parte, Silva *et al.* (2006) comentan que las semillas de *Genipa americana* miden 0.85 cm de longitud y 0.70 cm de ancho, son achatadas, elipsoides, discoideas. Nascimento & Damião-Filho (1998), mencionan que la mayoría de las semillas presentan forma deltoide con 9,8 mm de largo por 7.3 mm de ancho. Lo anterior difiere de lo encontrado en esta investigación, ya que las semillas presentaron tamaños superiores a estos.

En el caso de la variable peso de las semillas, Salomão (2004), reporta un promedio de 0.09 g; mientras que para Silva *et al.* (2006) pesan 8.5g/100 unidades. No obstante, el valor promedio de peso de las semillas obtenido en esta investigación es mucho mayor a lo reportado por estos autores.

El tamaño, peso y forma de las semillas puede estar influenciado por el tamaño de los frutos del que proceden, que en general es mayor del reportado en la literatura para los seis sitios de colecta.

Werkler (1997), menciona que la forma de la semilla está determinada genéticamente y es moldeada por el espacio para su crecimiento dentro del fruto e influenciada por el tipo de óvulo del cual se ha originado; tiene función en la orientación de la semilla en la caída para su germinación y en la dispersión de la semilla anemócora o hidrócora (Werkler, 1997).

Según Granados (1991) algunas características de las semillas como el grosor y ancho de la semilla se encuentran muy influidos por factores ambientales tales como humedad, temperatura y pH. Estos caracteres son de gran importancia, ya que el tamaño de la semilla influye en el vigor de las plántulas, el cual juega un papel en su sobrevivencia (Iglesias & Tivo, 2006).

Así mismo, para los caracteres de tamaño y peso de la semilla, Werkler (1997), indica que están determinados genéticamente y son afectados por factores ambientales durante el desarrollo de la semilla. La variación intraespecífica en tamaño y peso es influenciada por el empaquetamiento dentro del fruto. El peso de las semillas es afectado por el tamaño, estructura y contenido celular y proporciones.

En relación a lo anterior, el fruto tipo baya de *G. americana* produce semillas que van desde 50 hasta más de 300 semillas cada uno, lo cual influye notablemente en los caracteres morfológicos de la semilla. La variación en peso es afectada por la exposición al aire, ya que las semillas están envueltas en fibras jugosas del

mesocarpo y al ser retiradas éstas, empiezan a perder humedad rápidamente por su alta tasa metabólica y adaptación para una rápida germinación en condiciones de alta humedad en el suelo.

La morfometría de las semillas de *G. americana* difiere según el sitio de procedencia; quizá el tipo de suelo, la cantidad de radiación solar o lluvia y la edad del árbol son factores que de una u otra manera influyen en las características de la semilla madura.

De acuerdo con estos resultados es probable que las semillas tengan mayor influencia del ambiente en las características de volumen, peso, longitud, ancho y grosor de las semillas. En relación al tamaño de la semilla; es una característica variable en muchas poblaciones de plantas, éste a menudo influye en la sobrevivencia, crecimiento y reproducción.

Una explicación factible corresponde a lo mencionado por Iglesias & Tivo (2006), quienes comentan que teóricamente se pronostica poca variación genética para características correlacionadas con éxito reproductivo, debido a un período largo de selección y eliminación de alelos con efectos deteriorantes en el éxito reproductivo. Por lo tanto es posible que la variación en el tamaño de la semilla se origine en su mayor parte de recursos ambientales.

Iglesias *et al.* (2005), hacen alusión a la alta variabilidad intrapoblacional en los árboles forestales, la cual puede constituir una respuesta adaptativa a la heterogeneidad espacial y temporal encontrada en las poblaciones. La variación morfológica de una especie vegetal se encuentra íntimamente ligada a las condiciones medioambientales que prevalecen en el ciclo de vida de la misma, de modo que la estrecha relación planta-medio ambiente marca la importante propiedad para la especie vegetal de poseer la suficiente flexibilidad de desarrollo o normas de reacción amplias para existir en las condiciones donde se ubican.

Las diferencias encontradas en los caracteres evaluados, podrían ser benéficas para mantener la diversidad genética en la población. Cabe en particular destacar que es muy probable que las especies con semillas de mayor peso y tamaño tengan mayor oportunidad de sobrevivir las primeras fases de su ciclo de vida. Esto se confirma con la correlación detectada por diversos autores (Iglesias *et al.*, 2005) entre peso de la semilla y capacidad de germinación, lo cual puede tener implicaciones en la producción de vivero.

CONCLUSIONES

- El potencial germinativo de la especie puede mantenerse a corto plazo en almacenamiento a temperatura ambiente, utilizando torlita para controlar la humedad.
- Las semillas almacenadas a baja temperatura y alto contenido de humedad son más vulnerables al deterioro por contaminación fúngica.
- El comportamiento de almacenamiento de *G. americana* con respecto a la temperatura y contenido de humedad corresponde al de una semilla intermedia.
- Se establece un protocolo de almacenamiento como el más actual y preciso para conservar semillas *G. americana*, bajo los tratamientos identificados como óptimos.
- Las semillas de *G. americana* presentan en su mayoría forma irregular y la mayor variación morfométrica corresponde a características como volumen, peso y largo, independientemente de la procedencia de las mismas.

RECOMENDACIONES

- Adoptar tratamientos fungistáticos y fungistémicos en semillas de la especie en miras de la obtención de material biológico destinado a la conservación de germoplasma de la especie en campo y en condiciones criogénicas.
- Dar continuidad a este tipo de investigaciones para estandarizar protocolos de almacenamiento para la conservación de especies forestales nativas en peligro.
- Implementar viveros forestales para las especies nativas amenazadas o con poblaciones reducidas para llevar a cabo labores de reforestación en reservas de la zona.
- Realizar estudios climáticos en cada una de las fuentes semilleras con el fin de determinar su influencia sobre las características morfométricas del fruto y la semilla.
- Fortalecer el grupo de estudio en semillas forestales y crear un semillero de investigación para el área en cuestión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acero, F.P.A. Análisis y Ensayos de Almacenamiento para semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* del Quindío. Trabajo de grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 2005, 150 p.
2. Agudelo, H.C.A, Orozco, C.A.F & G.D. Gómez M. Banco de Germoplasma de especies forestales del departamento del Quindío. Revista de Investigaciones No. 16. Universidad del Quindío. Armenia, 2006. p 81-92.
3. Aguilar, E.A. Almacenamiento de semillas Forestales en Panamá. En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina (2º:1999, Santo Domingo, República Dominicana) Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 2000. 309 p.
4. Andrade, A.C.S., Souza, A.F, Ramos, F.N., Pereira, T.S. & A.P.M. Cruz. Germinação de sementes de Jenipapo: Temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.35, n.3, mar, 2000. p.609-615.
5. Aráoz, S.D., Del Longo, O. & O. Karlin. Germinación de Semillas de *Zizyphus mistol* Grisebach I. Viabilidad Durante el Almacenaje en Frío y a Temperatura Ambiente. Multequina 13, 2004. p. 39-4.
6. Arias, V.A, Gómez, G. & C. Agudelo. 2006. En: Riqueza Biótica Quindiana. Compilado por C.H. Agudelo, H. Editorial Universidad del Quindío, 421 p.
7. Aular, J., Bautista, D. & N. Maciel. Influencia de la luz, profundidad de siembra y almacenamiento de *Passiflora edulis*. *Agronomía Tropical* 46(1), 1996. p. 73-83.
8. Azerêdo, G.A. & V.P. Matos. Viabilidade de sementes de Acerola (*Malpighia puniceifolia* DC) influenciada pelo substrato, temperatura e coloração de frutos. Pesquisa Agropecuária Tropical, 36 (1), 2006. p. 7-11.
9. Bhering, M.C., Dias, D.C.F.S., D.D.C. & D.I. Barros. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Melancia. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 27, nº 1, 2005. p.176-182.

10. Cabezas, E. Viabilidad de semillas de cinco especies forestales almacenadas al medio ambiente. En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua, Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.
11. Ceballos, F.A.J. & J.A. López, R. Conservación de la Calidad de Semillas Forestales Nativas en Almacenamiento. *Cenicafé*, 58 (4), 2007. p. 265-292.
12. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal CONIF. [en línea] Página Web versión HTML. Bogotá, DC: (s.e.), 2007. [citado 12 de Agosto de 2009]. Disponible en Internet: <<http://www.conif.org.co/servicios.php?form=dos/>>.
13. Correa, V.J. & L.S. Echavarría, C. Propiedades Fisiológicas de las semillas 6 Especies forestales de Clima Frío de Colombia. Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología. Medellín, 1997. 119 p.
14. Crestana, C.S.M., Batista, E.A. & G. Mariano. Fenologia da frutificação de *Genipa americana* L(Rubiaceae) em mata ciliar do Rio Moji Guaçu, SP. *IPEF*, n.45, jan./dez.1992. p.31-34.
15. Cherobini, E.A.I. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de espécies florestais nativas. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de Concentração Silvicultura, da Universidade Federal de Santa Maria. R. S. Brasil. 2006. 114 p.
16. FAO, FLD, IPGRI. Forest genetic resources conservation and management. Vol. 3: In plantations and genebanks (*ex situ*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. 86 p.
17. FAO. Guía para la manipulación de semillas forestales. Serie Estudio FAO: Montes -20/2. Compilado por R.L. Willan. Centro de Semillas Forestales de DANIDA. 1991. 510 p.
18. Febles, P.G.J., Ruiz, V.T.E., Crespo, L.G., Delgado, N.M.A., Vento, V.A.D. & J.L. Cué. 2006. Evaluación del uso de zeolita para el almacenamiento de semillas. . [citado 12 de Agosto de 2009]. Disponible en Internet: <[http://www.buscagro.com/biblioteca/PinardelRio/zeolitas.pdf./](http://www.buscagro.com/biblioteca/PinardelRio/zeolitas.pdf./>)>.
19. Ferreira, R.A., Oliveira, L.M., Tonetti, O.A.O. & A.C. Davide. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (VELL.) Blake – Leguminosae Caesalpinoideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 29, nº 3, 2007. p.83-89.

20. Fogaça, C.A., Malavas, M.M., Zucareli, C. & U.C. Malavasi.. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 28, nº 3, 2006. p.101-107.
21. Fonseca, S.C. L. & H. B. Freire. Sementes Recalcitrantes: Problemas na pós colheita. Artigo de revisão. *Bragantia*, Campinas, v.62, n.2, 2003. p. 297-303.
22. Francis, John K. *Genipa americana* L. Jagua, genipa. SO-ITF-SM-58. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 1993. 5 p.
23. García, I.S., Souza, A., Barbedo, C.J., Dietrich, S.M.C. & R.C.L. Figueiredo-Ribeiro. Changes in Soluble Carbohydrates During Storage of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood) Seeds, an Endangered Leguminous Tree from The Brazilian Atlantic Forest. *Braz. J. Biol.*, 66(2B), 2006. p. 739-745.
24. García M.V.H., Arias, G.D., Acero, F.P.A. & Maya, L.C.A. Banco de semillas de *Albizia carbonaria* y *Cedrela Odorata* en el departamento del Quindío. Proyecto de Investigación 280. Universidad del Quindío. Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología CIBUQ. Línea Diversidad Vegetal. Grupo de Investigación Flora Quindío. 2006.
25. Gold. K.; P. León-Lobos. & M. Way. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 2004. 62 p.
26. Gómez, C.C. Erosion of genetic resources within seed genebanks: The role of seed containers. *Seed Science Research*. 16, 2006. p. 291–294.
27. Gómez, C.C. A guide to efficient long term seed preservation. Monographs ETSIA, Univ. Politécnica de Madrid 170, 2007. p. 1-17.
28. Gómez, T.J., Jasso, M.J., Vargas, H.J.V. & M.R. Soto H. Deterioro de semilla de dos procedencias de *Swietenia macrophylla* King., bajo distintos métodos de almacenamiento. *Ra simhai*, enero-abril, vol 2 (001). Universidad Autónoma Indígena de México. El Fuerte México. 2006. p. 223-239.
29. González, E. & R.F. Fisher. Pruebas de almacenamiento de semillas de especies de árboles tropicales. En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua,

- Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.
30. Iglesias, A.L.G. & Y. Tivo, F. Caracterización Morfométrica de la Población de *Pinus hartwegii* lindl. Del cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai* Vol. 2. Número 2. 2006, 449-468.
 31. Iglesias, L., Mora, I. & J.L. Casas. Morfometría, Viabilidad y variabilidad de las Semillas de la Población de *pinus hartwegii* del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Cuadernos de Biodiversidad* 19, 2006. p. 14-22.
 32. Iriondo, A. J.M. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* Vol. 16 (1). 2001. 20 p.
 33. I.S.T.A. International Rules for Seed Testing. ISTA. Bassersdorf, CH-Switzerland. 2005. 453 p.
 34. Jara NLF (Ed.). Guía para las giras y prácticas de campo. Curso para Profesores. Mejoramiento genético, selección y manejo de fuentes semilleras y de semillas forestales. 27 de mayo al 7 de junio, 1996. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
 35. Jøker, D., DFSC, Salomão, N. A., Vasquez, C. y W. Vasquez, CATIE. 2003. *Genipa Americana* L. 2003. Seed Leaflet. No.67.
 36. Karaboon, S., Ripona, S., Thanapornpoonpong, S., Pawelzik, E. & S. Vearasilpa. Breaking Dormancy and Optimum Storage Temperature of Golden Shower (*Cassia fistula*) Seeds. Conference on International Agricultural Research for Development. Stuttgart-Hohenheim, Germany. October 11-13, 2005. 4 p.
 37. Mendoza, H., Ramírez, B. & L.C. Jiménez. Rubiaceae de Colombia-Guía ilustrada de géneros. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá. Colombia. 2004. 351 p.
 38. Morton, J. *Genipap*. In: Fruits of warm climates. Miami. FL. 1987.
 39. Müller, E. Almacenamiento de semillas de cuatro especies forestales nativas de la Región Huetar Norte de Costa Rica. En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua, Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.

40. Nascimento, W.M.O. & N. M. Carvalho. Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Campinas, v.20, n.2, 1998. p. 470-474.
41. Nascimento, W.M.O. & C. F. Damião-Filho. Caracterização morfológica de sementes e plântulas de Jenipapeiro (*Genipa americana* L. - Rubiaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 20, no 1. 1998. p.143-147.
42. Oficina para la Coordinación de Asuntos Humanitarios / Naciones Unidas Colombia. OCHA. [en línea] Página Web versión HTML. Bogotá, Colombia: (s.e.), 2006. [citado 12 de Agosto de 2009]. Disponible en Internet: <<http://www.colombiassh.org/site/spip.php?article27>>.
43. Orozco, C. A. F., Arias V.A. & L.G. Mejía. Fenología de *Anacardium excelsum*, *Rollinia membranacea* y *Genipa americana* en la Reserva del Ocaso, Quimbaya – Quindío. Trabajo de Grado. (Licenciatura en Biología) Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Biología y Educación Ambiental. 2002. 117 p.
44. Orozco, C. A. F & G. D. Gómez. Fenología de especies forestales En: Riqueza Biótica Quindiana, Capítulo II Editorial Universidad del Quindío. 2006. 421p. En: Riqueza Biótica Quindiana.
45. Ortuño, V.F. & Z.R. Echandi. Efecto de condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad y vigor de la semilla de café (*Coffea arabica* L.). *Agronomía Costarricense*. 4(2). 1980. p.149-159.
46. Ospina, L.T.C & R.C. Suárez, R. Viabilidad y Ensayos de Almacenamiento para semillas de *Tabebuia chrysantha*. Trabajo de grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 2008, 16 p.
47. Otegui, M., Sorol, C., Fleck, A. & G. Klekailo. Madurez fisiológica, germinación y conservación de semillas de guayabito (*Psidium cuneatum* Camb.-Myrtaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 29, nº 3, 2007. p. 160-169.
48. Parra, F.G.N. & R.C. Suárez, R. Evaluación del potencial de almacenamiento de semillas de *Tabebuia rosea* (Bertol.)D.C. Trabajo de grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 2009, 31 p.
49. *Plan de Gestión Ambiental Regional PGAR Departamento del Quindío 2003-2012*. Planeación Departamental - Gobernación del Quindío, Comité

Departamental de Cafeteros, Cámara de Comercio de Armenia, Consejo Directivo CRQ, Sociedad de Ingenieros del Quindío, Asociación Quindiana Ingenieros Agrónomos, Fundación Las Mellizas, Universidad del Quindío, Asociación Quindiana de Ambientalistas ORQUIDEA, CAMACOL Quindío, Subdirección Planeación CRQ , Oficina Asesora de la Dirección CRQ.

50. Puente, P.C. Almacenamiento de Semillas de ramón (*Brosimum alicastrum*). En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua, Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.
51. Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Novell & M. Larinde. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia. 2007. 165 p.
52. Renhe, I.R.T. Extração e estabilidade do corante azul de jenipapo (*Genipa americana* L). Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. Brasil. 2008. 49 p.
53. Sacandé, M., Van Pijlen, J.G., De Vos, C.H.R, Hoekstra, F.A., Bino, R.J. & S.P.C. Groot. Intermediate storage behaviour of neem tree (*Azadirachta indica*) Seeds from Burkina Faso. En: Ouédraogo, A.S., K. Poulsen & F. Stubsgaard, editors. Intermediate/Recalcitrant Tropical Forest Tree Seeds. Proceedings of a workshop on Improved Methods for Handling and Storage of Intermediate/Recalcitrant Tropical Forest Tree Seeds, 8-10 June 1995, Humlebaek, Denmark. IPGRI, Rome and DANIDA Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark. 1996.
54. Salazar-Figueroa, R. *Genipa americana* Linnaeus. Nota Técnica sobre Manejo de Semillas Forestales CATIE no. 72. Editorial Turrialba, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), CR. 2 p. 1999.
55. Salinas, A.R., Yoldjian, A.M., Craviotto, R.M. & V. Bisaro. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 36, n. 2, p. 371-379.
56. Salomão, A.N. Desiccation, storage and germination of *Genipa americana* seeds. En: Sacandé, M., D. Joker, M.E. Dulloo & K.A. Thomsen. Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. 363 p.

57. Salomão, A.N. & L. S. Padilha. Avaliação preliminar da germinabilidade e da micoflora associada às sementes de *Genipa americana* em diferentes estágios de maturação. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006 (Série Embrapa - Circular Técnica 50). 9 p.
58. Schmidt L. Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Centre. Humleback (Dinamarca). 2000. 511 p.
59. Silva, D.B., Salomão, A.N., Carvalho. P.C.L. & M.M.V.S. Wetzel. Jenipapo. En: Vieira, R. F. (ed.) Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p. 304-322.
60. Stanislav, V.M. & G.A. Plaza. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. Agronomía Colombiana 25 (1), 2007. p. 96-203.
61. Torres, C.G. Osmocondicionamiento, secado y almacenamiento de semillas de *Esenbeckia leiocarpa* Engl (guarantã), *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucaliptus grandis* W. Hill (ex Mainden). En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua, Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.
62. Trujillo, E. Algunos reportes de almacenamiento y tratamientos pregerminativos de semillas forestales. En: Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. (1º:1995, Managua, Nicaragua)Memorias/Coordinador, R. Salazar. Turrialba, Costa Rica, DFSC, 1995. 307 p.
63. Tusarma, R.H.M., Herrera, C.H.F & R.C. Suárez, R. Estandarización del método para determinar el potencial de almacenamiento de semillas de *Luehea seemanii* (Triana y Planch, 2003). Trabajo de grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 2008, 15 p.
64. UNCTAD. Market Brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native Species. *Genipa Americana* Jagua, huito. Compilado por: The United Nations Conference on Trade and Development (UNCTAD) & BioTrade Initiative / BioTrade Facilitation Programme (BTFFP). 2005. 38 p.
65. Urrea, L.A. & R.S. Suárez, R. Potencial de almacenamiento de semillas de *Lafoensia punicifolia*. Trabajo de Grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 2009.

66. Vargas H., J. J, Basilio B. V. & F. T. Ledig (eds.). Manejo de Recursos Genéticos Forestales, Segunda Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. 2004. 208 p.
67. Vázquez-Yanes, C. & M. Rojas, A. *Ex Situ* Conservation of Tropical Rain Forest Seed: Problems and Perspectives. *INTERCIENCIA* 21(5). 1996. p. 293-298. URL: <http://www.interciencia.org.ve>.
68. Vázquez, Y.C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M.E. & V. Cervantes. La reproducción de las plantas: Semillas y Meristemas. La ciencia para todos, N° 157. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 1ª ed. 1997. 166 p.
69. Werker, E. Seed anatomy. Encyclopedia of plant anatomy. Tomo X, 3. Gebrüder Borntraeger, Berlín. 1997.

ANEXOS

Anexo A. Formato de registro para colección en campo de semillas de especies forestales- CIBUQ.

Fecha de Colecta	Altura (msnm)	Coordenadas Geográficas	Localidad (Municipio, Vereda, Finca)	Nro árbol semillero	Características árbol semillero (diámetro y altura)

Anexo B. Formato de registro para entrada de material vegetal al laboratorio de Biotecnología- CIBUQ.

Nombre de la especie	Nombre común	Entrada Número	Nro de colección	Nro de registro	Procedencia	Fecha de colección	Fecha de entrada

Tipo de material	Cantidad de semilla recibida (gr)	Causa de pérdida	Cantidad de semilla eliminada (gr)	Contenido de Humedad	Nro de empaque	Cantidad almacenada (gr)

Anexo C. Formato de registro para pruebas de germinación de semillas forestales.
Laboratorio Biotecnología-CIBUQ.

Prueba Nro. ____ Nro de Réplicas: ____ Responsable: _____

Especie: _____ Familia: _____ Procedencia: _____

Fecha inicio prueba: _____ Fecha Finalización prueba: _____

Sustrato: _____ Temperatura: _____ Nro de semillas sembradas: _____

Conteos	I (a la 1 ^a semana)	II (a la 2 ^a semana)	III (a la 3 ^a semana)	IV (a la 4 ^a semana)	Total
Nro de semillas germinadas*					
Nro de semillas no germinadas					
Nro de semillas contaminadas					
Total					
		% de Germinación			
		Tasa germinativa (días)			
		Índice de velocidad de Germinación (semillas/día)			

* con emergencia de radícula superior a 0.5cm

Observaciones:

Anexo D. Formato de registro para pruebas de viabilidad y contenido de humedad de semillas forestales. Laboratorio Biotecnología- CIBUQ.

Prueba Nro. ____ Nro de Réplicas: ____ Responsable: _____

Especie: _____ Familia: _____ Procedencia: _____

Fecha inicio prueba: _____ Fecha Finalización prueba: _____

Prueba de Viabilidad				Contenido de Humedad			
Categorías	Nro de semillas	Vivas	Muertas	Nro de semillas	Peso seco	Peso fresco	Total
I*							
II**				%			
III***							
Total							
%							

*semillas totalmente teñidas que son viables;

**semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción

***semillas totalmente libres de coloración que son no viables

Observaciones:

Anexo E. Formato de registro para ensayos de almacenamiento de semillas forestales.

Laboratorio Biotecnología- CIBUQ.

Ensayo Nro: _____ Responsable: _____

Especie: _____ Familia: _____ Procedencia: _____

_____ Tipo de envase: _____

Fecha inicio	Fecha final	Lote	Peso de la muestra	Nro de semillas en muestra	Sustrato	Peso Sustrato	Nro de accesión	Nro del recipiente	T° (°C)

Anexo F. Morfometría de frutos de *G. americana*: Medidas de ancho y largo de frutos de las seis procedencias.

Procedencia	Frutos										Promedio	
	1		2		3		4		5		A. (cm)	L. (cm)
	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)		
Ocaso, Quimbaya	8.05	13.64	7.6	12.05	7.7	14.96	9.01	13.59	8.1	11.36	8.09	13.12
San Pablo, Montenegro	6.11	11.19	6.72	11.40	6.40	10.93	7.04	12.07	6.44	12.03	6.54	11.52
Moravita, Pijao	8.80	13.72	7.97	13.02	8.80	13.60	8.5	13.0	8.32	11.85	8.48	13.04
Puerto Alejandría, Quimbaya	8.22	10.90	7.86	10.34	7.48	8.37	7.36	9.20	7.61	9.54	7.71	9.67
Verdun, Caicedonia	7.65	11.62	6.66	10	7.89	12.28	7.80	11.58	8.16	11.67	7.63	11.43
Puerto Samaria, Montenegro	8.01	14.59	7.20	12.74	7.08	12.41	7.41	14.23	7.31	13.08	7.40	13.41

A: Ancho. L: Largo

Procedencia	Frutos										Promedio	
	6		7		8		9		10		A. (cm)	L. (cm)
	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)	A. (cm)	L. (cm)		
Ocaso, Quimbaya	7.24	13.11	7.87	12.5	8.13	12.56	7.3	11.88	7.1	10.75	7.53	12.16
San Pablo, Montenegro	6.31	12.14	6.59	11.35	6.76	11.59	6.83	10.36	6.5	10.2	6.60	11.13
Moravita, Pijao	8.40	11.80	8.13	10.76	7.63	10.96	7.71	11.90	7.64	11.82	7.90	11.45
Puerto Alejandría, Quimbaya	7.88	9.40	7.77	10.38	8.23	10.33	8.35	10.84	8.22	9.72	8.09	10.13
Verdun, Caicedonia	8.40	12.52	7.67	11.31	7.65	11.03	7.42	11.07	7.52	11.76	7.73	11.54
Puerto Samaria, Montenegro	7.46	13.92	7.59	13.74	6.81	12.75	6.89	12.48	6.71	12.41	7.09	13.06

Anexo G. Morfometría de frutos de *G. americana*: Medidas de peso de frutos de 6 procedencias.

Procedencia	Peso (gr.)										Promedio
	Frutos										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ocaso, Quimbaya	508	430.6	419.8	404.8	404.5	457.5	387.2	448.1	411	311.5	377.82
San Pablo, Montenegro	213	227.8	217.8	310.7	253.6	255.4	257.4	261.8	234	176.3	240.78
Moravita, Pijao	530	410	585	590	375	360	440	300	362.8	260	421.28
Puerto Alejandria, Quimbaya	380.7	342.1	223.2	267.7	284.3	288.7	308.2	322.4	362.1	308.2	308.76
Verdun, Caicedonia	276.9	163.1	282.8	282	288.5	341.5	255	230.2	229.8	241.1	259.09
Puerto Samaria, Montenegro	426.8	307.3	293.1	397.9	357.9	316.5	343.8	269.7	269.3	263.2	324.55

Anexo H. Número de semillas germinadas en la prueba de calidad inicial de semillas de *G. americana* de las seis procedencias.

Procedencia	Control Temperaturas	Número de semillas germinadas cada día del mes																							
		1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	
Moravita	Ambiente	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3		
	5°C							1		2	2		1		1	2	2	1	1		1	2	1		
	-20°C										1	1	1	2	2	1	2	2		1	2				
San Pablo	Ambiente			1	3		2	1				2	2		1		1				1	2	1		
	5°C			1	2	2	2		3			1	3	3	1								1		
	-20°C				3	2	2	1			3	3	1	1	1	1	1								
Pt. Alejandría	Ambiente										1		2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1		
	5°C								3	1	1	1	1	1	2	1		1	1	1	1	2			
	-20°C											1	1	2	3	1	2	1	1	1	1				
Verdun	Ambiente						1	2			1		1	2	1	1		2		1	2	1	1		
	5°C					2	2	1				1	2	1	1			3		2		1			
	-20°C						1	1	1	1	4		1	2	2			1					2		
Ocaso	Ambiente	1	3	2	1	2	3		2	2	1	1			2							1	3		
	5°C			1		3	2	3	1	1	1	1			1	1	1			1			1		
	-20°C	1			3	2	3	2	1	1	2					1	1			1		1	1		
Pt. Samaria	Ambiente									1	2	1		2	1	1				1					
	5°C								1	2	1		1		1	2	4			1	1				
	-20°C									2	3				2	1	2		2	1	1				

Anexo I. Número de semillas germinadas por día de *G. americana* para las seis procedencias durante el almacenamiento con torlita a temperatura ambiente.

Procedencia	Mes	Número de semillas germinadas cada día del mes																							
		1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3		
		2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3		
Moravita	1																								
	2																								
	3																								
San Pablo	1																								
	2											1	1	1	1	2	1	1			2	1	1		
	3																								
Pt. Alejandría	1															1		1							
	2												1	1				1		1		1	2		
	3															1		1		1		1	1		
Verdun	1																								
	2											1			1		1	1	2		1	1	2		
	3									1		1	1			1	1	1	1	1		1	1		
Ocaso	1																								
	2																								
	3																								
Pt. Samaria	1																								
	2									1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1		
	3							1	2		1		1			1		1		1	1	2			

Anexo J. Estadística descriptiva de las variables de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas. Valores en cm.

Variable Largo							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	0.94	0.113	1.51	0.96	0.12	0.013
San Pablo	100	1.09	0.105	1.42	0.91	0.10	0.011
Puerto Alejandría	100	1.28	0.169	1.61	0.29	0.13	0.029
Verdun	100	1.22	0.145	1.91	0.96	0.12	0.021
Ocaso	100	1.21	0.122	1.5	0.99	0.10	0.015
Puerto Samaria	100	1.16	0.11	1.83	0.92	0.09	0.012
Promedio	100	1.15	0.127	1.63	0.84	0.08	0.017

Variable Ancho							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	0.85	0.093	1.18	0.71	0.11	8.649*10 ⁻⁰³
San Pablo	100	0.86	0.054	0.98	0.69	0.06	2.916*10 ⁻⁰³
Puerto Alejandría	100	1.03	0.152	1.89	0.77	0.15	0.023
Verdun	100	0.94	0.095	1.26	0.72	0.10	9.025*10 ⁻⁰³
Ocaso	100	0.97	0.105	1.27	0.71	0.11	0.011
Puerto Samaria	100	0.87	0.091	1.12	0.7	0.10	8.281*10 ⁻⁰³
Promedio	100	0.92	0.098	1.28	0.72	0.11	0.0105

Variable Grosor							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	0.36	0.048	0.48	0.27	0.13	2.304*10 ⁻⁰³
San Pablo	100	0.31	0.034	0.44	0.24	0.11	1.156*10 ⁻⁰³
Puerto Alejandría	100	0.34	0.044	0.47	0.26	0.13	1.936*10 ⁻⁰³
Verdun	100	0.31	0.039	0.4	0.23	0.13	1.521*10 ⁻⁰³
Ocaso	100	0.39	0.052	0.57	0.30	0.14	2.704*10 ⁻⁰³
Puerto Samaria	100	0.36	0.045	0.48	0.26	0.12	2.025*10 ⁻⁰³
Promedio	100	0.34	0.044	0.47	0.26	0.13	1.941*10⁻⁰³

Variable L/A							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	1.37	0.19	1.99	0.95	0.14	0.036
San Pablo	100	1.27	0.18	1.84	1	0.14	0.032
Puerto Alejandría	100	1.27	0.23	1.92	0.34	0.18	0.053
Verdun	100	1.31	0.22	1.31	1.0	0.18	0.048
Ocaso	100	1.27	0.21	1.90	1.0	0.17	0.044
Puerto Samaria	100	1.35	0.22	2.41	0.96	0.16	0.048
Promedio	100	1.31	0.21	1.89	0.87	0.16	0.043

Variable Peso							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	0.27	0.026	0.34	0.21	0.09	$6.76 \cdot 10^{-04}$
San Pablo	100	0.17	0.018	0.21	0.13	0.11	$3.24 \cdot 10^{-04}$
Puerto Alejandría	100	0.28	0.030	0.35	0.18	0.11	$9 \cdot 10^{-04}$
Verdun	100	0.24	0.026	0.30	0.19	0.11	$6.76 \cdot 10^{-04}$
Ocaso	100	0.28	0.030	0.35	0.18	0.11	$9 \cdot 10^{-04}$
Puerto Samaria	100	0.22	0.02	0.28	0.17	0.09	$4 \cdot 10^{-04}$
Promedio	100	0.243	0.025	0.305	0.18	0.10	$6.46 \cdot 10^{-04}$

Variable Volumen							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	0.43	0.047	0.54	0.31	0.11	$2.209 \cdot 10^{-03}$
San Pablo	100	0.29	0.039	0.38	0.21	0.14	$1.521 \cdot 10^{-03}$
Puerto Alejandría	100	0.45	0.105	1.07	0.08	0.23	0.011
Verdun	100	0.36	0.064	0.60	0.21	0.18	$4.096 \cdot 10^{-03}$
Ocaso	100	0.45	0.092	1	0.29	0.20	$8.464 \cdot 10^{-03}$
Puerto Samaria	100	0.36	0.054	0.61	0.25	0.15	$2.916 \cdot 10^{-03}$
Promedio	100	0.39	0.067	0.7	0.225	0.17	$3.62 \cdot 10^{-03}$

Variable Forma							
Procedencia	Tamaño muestra	Media	Desviación estándar	Valor máximo	Valor mínimo	CV	FV
Moravita	100	3.26	1.252	5	1	0.38	1.567
San Pablo	100	3.42	1.499	5	1	0.44	2.247
Puerto Alejandría	100	3.11	1.582	5	1	0.51	2.503
Verdun	100	2.9	1.306	5	1	0.45	1.706
Ocaso	100	2.96	1.569	5	1	0.53	2.462
Puerto Samaria	100	2.80	1.699	5	1	0.61	2.887
Promedio	100	3.075	1.484	5	1	0.49	2.229