

**ANÁLISIS Y ENSAYOS DE ALMACENAMIENTO PARA SEMILLAS
DE *Hymenaea courbaril* & *Enterolobium cyclocarpum* DEL QUINDÍO**

PAOLA ANDREA ACERO FRANCO

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO
FACULTAD DE EDUCACIÓN
PROGRAMA LIC. EN BIOLOGÍA Y EDUCACIÓN AMBIENTAL
ARMENIA - QUINDÍO
2005**

**ANÁLISIS Y ENSAYOS DE ALMACENAMIENTO PARA SEMILLAS
DE *Hymenaea courbaril* & *Enterolobium cyclocarpum* DEL QUINDÍO**

PAOLA ANDREA ACERO FRANCO

**Trabajo de grado para optar el título de Licenciada en Biología y Educación
Ambiental**

Director

M.Sc. CARLOS ALBERTO AGUDELO HENAO

**UNIVERSIDAD DEL QUINDIO
FACULTAD DE EDUCACIÓN
PROGRAMA LIC. EN BIOLOGÍA Y EDUCACIÓN AMBIENTAL
ARMENIA - QUINDÍO
2005**

NOTA DE ACEPTACIÓN:

ANA LUCÍA LÓPEZ GONZÁLEZ
Jurado

ROCÍO STELLA SUÁREZ
Jurado

RODOLFO LÓPEZ FRANCO
Jurado

Armenia, Noviembre de 2005

A Dios, a mis padres y hermanos; a aquellas personas que con su amor vivieron y compartieron a mi lado esta etapa de mi formación personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

La autora de este trabajo desea expresar sus más sinceros agradecimientos a las personas y entidades que con su apoyo y colaboración hicieron posible la realización de este trabajo:

- ❖ M. Sc. Carlos Alberto Agudelo Henao. Director
- ❖ Centro de Estudios en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ)
- ❖ Programa de Lic. En Biología y Educación Ambiental
- ❖ Programa de Biología
- ❖ Plantas piloto Universidad del Quindío
- ❖ Unidad de Recursos Genéticos - Centro Internacional de la Agricultura Tropical (CIAT)
- ❖ Lic. Andrés Felipe Orozco Cardona
- ❖ M. Sc. Ana Lucía López
- ❖ Comité evaluador
- ❖ Lic. Germán Darío Gómez Marín
- ❖ Ing. Diego Arias Gómez
- ❖ M. Sc. Alba Marina Torres
- ❖ Ing. Luís Eduardo Sepúlveda Rodríguez

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. OBJETIVOS	22
1.1 Objetivo general	22
1.2 Objetivos específicos	22
4. ESTADO DEL ARTE	23
5. MARCO TEÓRICO	29
5.1 Viabilidad	32
5.2 Reposo	33
5.3 Longevidad de la semilla	34
5.4 Germinación	34
5.5 Almacenamiento y conservación de semillas	36
5.6 La calidad o análisis de las semillas	37
5.7 Descripción general de las especies	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS	45
6.1 Zonas de estudio	45
6.2 Fase de campo	47
6.3 Fase de laboratorio	48
6.4 Procesamiento de datos	62
6.5 Cartilla	63

	pág.
7. RESULTADOS	65
7.1 Evaluación inicial de calidad de las semillas	65
7.2 Evaluación periódica de calidad de las semillas	69
7.3 Cartilla	106
8. DISCUSIÓN	107
8.1 Tratamientos adecuados para el almacenamiento de semillas	107
8.1.1 Temperatura.	108
8.1.2 Empaques.	110
8.1.3 Tratamientos prealmacenamiento.	111
8.2 Evaluación de calidad de las semillas	113
8.2.1 Germinación y viabilidad.	113
8.2.2 Contenido de humedad.	115
9. CONCLUSIONES	122
10. RECOMENDACIONES	124
11. GLOSARIO	126
12. BIBLIOGRAFÍA	129
13. ANEXOS	136

FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructuras de una semilla.	31
Figura 2. Árbol de <i>Hymenaea courbaril</i> .	40
Figura 3. Fruto de <i>Hymenaea courbaril</i> .	41
Figura 4. Semilla de <i>Hymenaea courbaril</i> .	41
Figura 5. Árbol de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	44
Figura 6. Fruto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	44
Figura 7. Semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	44
Figura 8. Zonas de estudio: Reserva La Montaña del Ocaso y Universidad del Quindío.	46
Figura 9. Procesamiento del material vegetal colectado. a. Recolección de frutos. b. Frutos de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	47
Figura 10. Proceso de escarificación. a. Corte lateral sobre la testa de una semilla de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> . b. Semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> escarificadas.	50
Figura 11. Pruebas de germinación. a. Semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> . b. Semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> .	51

	pág.
Figura 12. Pruebas de viabilidad empleando la técnica de tinción con Tetrazolio. a. Semilla no viable. b. Semilla viable.	52
Figura 13. Determinación del Contenido de humedad en horno a 130°C. a. Horno eléctrico con muestras de semillas. b. Muestras de semillas en cajas de petri.	53
Figura 14. Proceso de ahumado. a. Horno ahumador. b. capacho de coco. c.d. Producción de humo.	54
Figura 15. Empaque de vidrio.	55
Figura 16. Bolsa plástica.	56
Figura 17. Proceso de empaque al vacío. a. Equipo para empaque al vacío. b. Inicio del empaque al vacío. c. Extracción del aire. d. Sellado. e. Semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> empacadas al vacío. f. Semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> empacadas al vacío.	56
Figura 18. Frasco plástico.	57
Figura 19. Tratamiento de almacenamiento en frío. a. Congelador industrial con temperatura de -20°C. b. Nevera comercial con temperatura de 5°C. c. Semillas almacenadas en congelador industrial. d. Semillas almacenadas en nevera comercial.	58
Figura 20. Tratamiento de almacenamiento a temperatura ambiente.	59
Figura 21. Tratamientos.	60
Figura 22. Protocolo para el manejo y conservación de semillas.	61

	pág.
Figura 23. Diseño Factorial 4x3x2x3x4.	62
Figura 24. Porcentajes de germinación obtenidos en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	66
Figura 25. Porcentaje de viabilidad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	67
Figura 26. Porcentaje del contenido de humedad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	68
Figura 27. Medias de los porcentajes de Germinación para el factor prealmacenamiento.	70
Figura 28. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y la temperatura.	71
Figura 29. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor prealmacenamiento.	74
Figura 30. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Tiempo.	75
Figura 31. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Empaque.	78
Figura 32. Medias de los porcentajes de humedad para el factor prealmacenamiento.	79
Figura 33. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Temperatura.	79

	pág.
Figura 34. Medias de los porcentajes de humedad para el factor tiempo.	80
Figura 35. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y el tiempo.	80
Figura 36. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.	81
Figura 37. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.	81
Figura 38. Interacción de primer orden entre dos factores: la temperatura y el tiempo.	82
Figura 39. Medias de los porcentajes de germinación para el factor prealmacenamiento.	85
Figura 40. Medias para el factor Tiempo en la variable Germinación.	86
Figura 41. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y el tiempo.	86
Figura 42. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Prealmacenamiento.	90
Figura 43. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Tiempo.	91
Figura 44. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y el tiempo.	91

	pág.
Figura 45. Medias de los porcentajes de Contenido de Humedad para el factor Prealmacenamiento.	94
Figura 46. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Temperatura.	95
Figura 47. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Tiempo.	95
Figura 48. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.	96
Figura 49. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y el tiempo.	96
Figura 50. Interacción de primer orden entre dos factores: la temperatura y el tiempo.	97
Figura 51. Medias del número de semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> germinadas en el día 16 para el factor Empaque.	100
Figura 52. Medias del número de semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> germinadas en el día 16 para el factor Prealmacenamiento.	100
Figura 53. Medias del número de semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> germinadas en el día 16 para el factor Temperatura.	101
Figura 54. Medias del número de semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> germinadas en el día 16 para el factor Tiempo.	101

TABLAS

	pág.
Tabla 1. Porcentajes de germinación obtenidos en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	66
Tabla 2. Porcentaje de viabilidad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	67
Tabla 3. Porcentaje del contenido de humedad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> y <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	68
Tabla 4. Porcentajes de germinación obtenidos para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> en cada uno de los tratamientos.	69
Tabla 5. ANOVA para el porcentaje de germinación de <i>Hymenaea courbaril</i> .	70
Tabla 6. DMS para la interacción de factores.	71
Tabla 7. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.	72
Tabla 8. Porcentajes de viabilidad obtenidos para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> .	73
Tabla 9. ANOVA para el porcentaje de viabilidad de <i>Hymenaea courbaril</i> .	74

	pág.
Tabla 10. DMS para los factores significativos prealmacenamiento y tiempo.	75
Tabla 11. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	75
Tabla 12. Porcentajes de Humedad obtenidos para las semillas de <i>Hymenaea courbaril</i> .	77
Tabla 13. ANOVA para el porcentaje de contenido de humedad de <i>Hymenaea courbaril</i> .	78
Tabla 14. DMS para la interacción de factores.	82
Tabla 15. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	82
Tabla 16. Porcentajes de germinación obtenidos para las semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	84
Tabla 17. ANOVA para el porcentaje de germinación de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	85
Tabla 18. DMS para la interacción de factores.	87
Tabla 19. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	87
Tabla 20. Porcentajes de viabilidad obtenidos para las semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	89

	pág.
Tabla 21. ANOVA para el porcentaje de viabilidad de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	90
Tabla 22. DMS para la interacción de factores.	92
Tabla 23. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	92
Tabla 24. Porcentajes de humedad obtenidos para las semillas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	93
Tabla 25. ANOVA para el porcentaje de contenido de humedad de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .	94
Tabla 26. DMS para la interacción de factores.	97
Tabla 27. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	98
Tabla 28. ANOVA para el número de semillas germinadas en el día 16 para <i>Hymenaea courbaril</i> .	99
Tabla 29. DMS para interacción de factores.	102
Tabla 30. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la prueba obtenida de Tukey.	102

ANEXOS

	pág.
Anexo 1. Formato para registro de colección en campo de semillas de especies forestales – CIBUQ. Hoja de registro No. 1.	136
Anexo 2. Formato para registro de colección en campo de semillas de especies forestales – CIBUQ. Hoja de registro No. 2.	137
Anexo 3. Formato de registro de entrada de material vegetal al laboratorio – CIBUQ.	138
Anexo 4. Formato de registro para pruebas de germinación y viabilidad (TZ) de semillas.	139
Anexo 5. Cartilla	140
Anexo 6. Número de semillas germinadas por día de <i>Hymenaea courbaril</i> para cada uno de los periodos y tratamientos.	141
Anexo 7. Número de semillas germinadas por día de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> para cada uno de los periodos y tratamientos.	146

RESUMEN

Se evaluó la respuesta al almacenamiento de semillas de las especies forestales *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* obtenidas de material vegetal procedente de la Reserva Natural La Montaña del Ocaso. La investigación se llevó a cabo en el Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío – CIBUQ, específicamente en el laboratorio de Biotecnología, con el apoyo de las instalaciones de las Plantas Piloto de la Universidad del Quindío. Se siguió el protocolo para el manejo de germoplasma de frijoles y forrajeras tropicales del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2004) modificado para las especies bajo estudio, con el fin de determinar la eficiencia del ahumado y de los métodos de almacenamiento (temperaturas y empaques) mas adecuados para la conservación de las semillas. Los resultados obtenidos mostraron que para conservar las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* son adecuados los tratamientos prealmacenamiento sin ahumar y en nevera a 5°C; en cuanto a los empaques el frasco de plástico es adecuado para ambas especies y se obtuvo buenos resultados con frasco de vidrio y bolsa plástica sólo para la especie *Enterolobium cyclocarpum*.

Palabras claves: Almacenamiento, semillas, conservación, *Hymenaea courbaril*, *Enterolobium cyclocarpum*, especies forestales.

INTRODUCCIÓN

Durante las dos últimas décadas la preocupación del mundo se ha centrado en el deterioro del medio ambiente y dentro de esa inquietud el futuro de los bosques tropicales. El desarrollo incontrolado de la civilización humana ha provocado un lamentable daño sobre los sistemas naturales. Sin lugar a duda, la pérdida total de especies vegetales, muchas de ellas desconocidas para el hombre o poco estudiadas por él, constituye un problema que urge detener (Triviño, 1989).

Las especies forestales nativas valiosas, algunas de ellas en peligro de extinción a nivel de procedencias o de especies, han sido poco incorporadas a los planes de reforestación, entre otras razones, por la poca información que existe sobre su silvicultura en general, mercadeo y rendimientos económicos. Dentro de esta problemática, las semillas de especies tropicales presentan dificultades para su manejo óptimo por la escasa información sobre la biología floral, calendarios fenológicos, estados de madurez fisiológica para que la semilla recolectada este en plena capacidad de germinación, el deficiente conocimiento de las técnicas de recolección, transporte y manejo; y la corta viabilidad favorecida por la carencia de métodos comprobados de almacenamiento (Triviño, 1989).

La diversificación y el mejoramiento de las plantaciones forestales, la demanda de especies arbóreas y arbustivas para reforestación industrial, silvicultura urbana y protección de cuencas, implica un abastecimiento de semillas seleccionadas, las cuales no están disponibles generalmente en el mercado ni en los centros de almacenamiento (Pinto & Sierra, 1995); además, debido a la expansión agrícola que cada día es mas creciente, al aumento de la ganadería extensiva, al indiscriminado uso maderero de las especies forestales y al desconocimiento que

se tiene sobre la remoción de semillas por parte de la fauna; es difícil que en estas condiciones, las semillas se establezcan y se desarrollen de manera natural, lo que conlleva de inmediato a la necesidad de establecer programas de reforestación en viveros y bancos de semillas para contar con una garantía de material genético de alta calidad, pero generalmente también se carecen de éstos (Trujillo, 1996).

La semilla en la actividad reforestadora es en la actualidad, la alternativa más utilizada para la reproducción de material vegetal y en el campo forestal constituye una fuente importante de germoplasma; sin embargo, frecuentemente es muy difícil conseguir semilla en época fuera de la cosecha.

Pese al desarrollo de los sistemas de reproducción vegetativa y en el corto plazo la introducción de la propagación por cultivo de tejidos, las semillas continuarán siendo para algunas especies forestales, la única vía para obtener el material reproductivo. Ante esta evidencia se ha desarrollado toda una serie de estrategias de almacenamiento. Sin embargo, mientras que muchas de las semillas de especies forestales demuestran buen comportamiento en condiciones de almacenaje, otras por el contrario se deterioran rápidamente bajo las mismas condiciones evidenciando que, aún el estado del conocimiento no ha logrado encontrar una técnica de almacenamiento adecuada para ciertas especies forestales tropicales valiosas, cuyas semillas pierden rápidamente la viabilidad (Trujillo, 1996).

La investigación concerniente al almacenamiento y conservación de semillas forestales es reducida debido a que se ha hecho mayor énfasis en aquellas especies de importancia agroalimentaria y ante la progresiva desaparición de especies forestales, así como la necesidad cada vez mayor de semillas de buena calidad para desarrollar programas de reforestación, recuperación de suelos,

protección de cuencas y por supuesto la conservación de los ecosistemas, se hace necesario aumentar el conocimiento sobre métodos, técnicas y los análisis y ensayos en laboratorio y en el campo que permitan la estandarización de protocolos adecuados para el manejo, almacenamiento y conservación del germoplasma de especies forestales, especialmente de aquellas especies amenazadas o en vía de extinción, las cuales pueden ser establecidas a través de procesos investigativos que permitan mantener las semillas en las mejores condiciones y así garantizar su viabilidad, calidad en el tiempo y contar con un suministro oportuno y permanente de semillas para programas de reforestación y el establecimiento de viveros en la región.

Al emprender una investigación de esta naturaleza con especies que han sido poco estudiadas como las de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*, las cuales han sido utilizadas frecuentemente por las personas por ser especies aptas para la recuperación de terrenos erosionados y por ser su madera empleada en la fabricación de canoas, artesanías, acabado de interiores, ebanistería, además utilizada como leña y postes para cercas; y sus frutos fuente de alimento para la fauna existente en la región (Tokura *et al.*, 1996), toma relevancia porque se aportan los primeros pasos para el establecimiento de un banco de semillas forestales en la región, estrategia de conservación *ex situ* que en la actualidad es tema de vital importancia.

Se han hecho muchos esfuerzos durante años para recolectar, almacenar y conservar semillas de especies forestales nativas importantes para programas de reforestación y de investigación; sin embargo, hasta ahora la mayor parte de la investigación en semillas forestales se reduce a las regiones de Cundinamarca, Antioquia, Valle y Bolívar principalmente, descuidándose otras regiones geográficas del país (Triviño, 1989), por lo que la carencia de grupos de investigación en el eje cafetero que den continuidad, profundidad y estabilidad a

los estudios de almacenamiento de semillas, retardarán el avance del conocimiento y la identificación de soluciones para detener la disminución de las poblaciones naturales de las especies forestales arbóreas amenazadas y vulnerables que abundan en la región.

La pregunta que ayuda a enmarcar el problema objeto de este trabajo es:

¿Cuál es el tratamiento físico y los métodos de almacenamiento más adecuados para la conservación de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*?

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

Evaluar la respuesta al almacenamiento de semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* del Departamento del Quindío.

1.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar la eficiencia del ahumado y de los métodos de almacenamiento (temperaturas y empaques) para la conservación de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.
- ❖ Conservar semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* bajo los métodos identificados como óptimos.
- ❖ Diseñar una cartilla sobre aspectos básicos, manejo y almacenamiento de semillas forestales.

4. ESTADO DEL ARTE

A continuación se describen brevemente algunos de los trabajos relacionados con esta investigación:

Camacho (1985), realizó un estudio en la identificación del mecanismo que inhibe la germinación en *Shinus molle* L. y la forma de eliminarlo. El quitar el mesocarpio que envuelve la semilla permitió que germinaran tan completa y rápidamente como los embriones extraídos.

Francis (1988), estudió en Puerto Rico la especie *Enterolobium cyclocarpum*, encontrando que se producen de uno a varios kl. de semillas por árbol y que existen 1.100 semillas de 1.3 a 1.9 cm. de largo por cada kl. Sus gruesas testas deben ser perforadas para permitir la penetración del agua y la germinación es favorable si se presionan las semillas en turba húmeda o se cubren con una capa de suelo húmedo de 1 o 2 cm.

Triviño *et al.* (1990), realizaron un trabajo sobre las técnicas de manejo de semillas para algunas especies neotropicales en Colombia. Se mejoró sustancialmente el conocimiento sobre los signos externos de madurez de los frutos y las técnicas de manejo post-cosecha de frutos y semillas.

González (1991), realizó un estudio de recolección y germinación de semillas de 26 especies arbóreas del bosque húmedo tropical. Para quince especies se recolectó semillas del suelo, nueve del árbol y dos utilizando mantas. Ocho especies alcanzaron un porcentaje de germinación superior al 75 %, diez entre 50 y 75 %, cinco entre 25 y 50 % y solamente tres menos del 25 %.

Trujillo (1991), en su libro Manejo de semillas, vivero y plantación inicial, presenta una secuencia lógica y ordenada de los fundamentos mínimos necesarios para la obtención y buen manejo de semillas, así como la producción adecuada de plantas de buena calidad.

Camacho (1994), en su libro Dormición de semillas: causas y tratamientos, presenta antecedentes, tipos de dormición y selección de tratamientos para eliminarla.

Faria (1996), estudió el efecto de métodos químicos de escarificación sobre la germinación de seis gramíneas forrajeras tropicales. Los tratamientos aplicados fueron ácido sulfúrico por 5 min. (TA), ácido sulfúrico por 10 min. (TB), nitrato de potasio al 0.2 % por 5 min. (TC), nitrato de potasio al 0.2 % más ácido sulfúrico (TD) por 5 min. y un testigo (TE). Las semillas no tratadas junto con las semillas bajo el tratamiento (TC) mostraron los más altos porcentajes de germinación.

Flores (1996), evaluó diversas condiciones de almacenamiento sobre la calidad de las semillas de *Brachiaria dictyoneura*. La semilla fue colocada en cuatro condiciones de almacenamiento: 18°C-60% Humedad Relativa, 12°C-60% HR, Condición ambiental; 7 meses condición ambiental + 4 meses 12°C-60% HR y dos formas de envase: abiertos y cerrados. En el ambiente controlado a 18°C-60% HR la semilla mantuvo la viabilidad entre 80-93%, con un máximo de germinación de 44%, en el ambiente controlado a 12°C-60% HR, la viabilidad se observó entre 79-94% pero la germinación no superó el 29%. En el ambiente no controlado la semilla mantuvo la viabilidad por encima de 80% durante los primeros 10 meses de almacenamiento presentando los mayores niveles de germinación (54%) y la forma combinada de almacenamiento mantuvo altos niveles de viabilidad (81-94%) y germinación (50%) durante los 11 meses de ensayo. El contenido de humedad de las semillas en las cuatro condiciones de almacenamiento se mantuvo entre 5 y 11%.

López *et al.* (1996), elaboraron un estudio preliminar de semillas y nutrientes minerales en plántulas de *Escallonia pendula*. Se determinó la calidad de semillas a través de las Reglas internacionales para ensayos de semillas (I.S.T.A.) tomando como procedencia el Jardín Botánico de Bogotá y la Quebrada Grande (Boyacá). Se indujeron deficiencias de N, P, K, Ca, Mg, S y micronutrientes en plántulas, usando soluciones madres Hoagland modificadas por Cadena (1987), el N, P y Mg fueron los macro nutrientes que más limitaron el crecimiento y la biomasa.

Correa (1997), desarrolló un estudio sobre las propiedades fisiológicas de las semillas de seis especies forestales de clima frío. Los resultados de la aplicación de tratamientos pregerminativos (escarificación física y química) para acelerar la germinación dieron resultados muy variables, pero en general los tratamientos químicos fueron mejores que los físicos.

Vázquez Yanes *et al.* (1997), en su libro *La Reproducción de Plantas: Semillas y Meristemos*, presentan los aspectos relacionados con la reproducción y propagación de las plantas como una forma de contribuir a divulgar la forma en que se puede propagar y favorecer la conservación de las plantas. En el capítulo I se expone el tema concerniente a las semillas y se tratan temas como el origen, producción, germinación, latencia, longevidad, tipos de semillas, manejo y almacenamiento.

Guariguata (1998), trabajó las consideraciones ecológicas sobre la regeneración natural aplicada al manejo forestal. El trabajo discute los principales factores biofísicos que influyen sobre la regeneración a partir de semillas en árboles del dosel en bosques lluviosos neotropicales. Proporciona aspectos relevantes sobre la biología reproductiva de árboles, la producción y dispersión de sus semillas, los limitantes espaciales y temporales en la disponibilidad de éstas y las

consecuencias potenciales sobre la regeneración de especies forestales.

Quiros & Arce (1998), realizaron un estudio sobre la influencia del secado de la semilla de encino (*Quercus costaricensis*) en la germinación y el almacenamiento. Se estableció que las semillas se pueden clasificar como recalcitrantes y que presentan una alta sensibilidad al secado, a bajas temperaturas y a bajos contenidos de agua. Para propósitos de almacenamiento de semillas, se recomienda utilizar bolsas plásticas selladas con extracción parcial del aire y almacenamiento a una temperatura de 5°C. Estas condiciones permitirían la conservación de lotes de semillas hasta por cuatro meses, sin que haya una pérdida significativa de la capacidad de germinación de las semillas.

Salazar & González (1998), estudiaron el almacenamiento de semillas de *Juglans olanchanum*. Los resultados indican que las semillas no toleran deshidrataciones por debajo del 15 % de contenido de humedad, la mejor temperatura para almacenarlas es a 5°C en empaques plásticos debidamente sellados y herméticos.

Guariguata (1999), realizó un estudio sobre la biología de semillas y plántulas de nueve especies arbóreas comunes en bosques secundarios de bajura en Costa Rica. Los resultados mostraron que la longevidad de las cohortes de semillas en el suelo para las especies en estudio varió desde menos de tres meses hasta más de un año. En forma similar, el porcentaje de germinación de las semillas dispersadas bajo condiciones de sotobosque varió desde 0% hasta 75%.

Rodríguez (2000), en su libro Fundamentos de silvicultura maneja una guía autodidáctica ofreciendo exposiciones, definiciones y conceptos técnicos en el manejo y el aprovechamiento de recursos naturales. Dentro de una de sus unidades desarrolla el tema concerniente a semillas, ofreciendo una orientación

general con respecto al manejo, exámenes de calidad, almacenamiento y otros aspectos de importancia en este tema.

Corantioquia (2001), publicó la cartilla para el manejo de semillas forestales, proporcionando información básica y práctica a recolectores de semilla, técnicos de campo y viveristas interesados en la manipulación y utilización de semillas forestales. En esta cartilla se manejan aspectos relacionados con el conocimiento de las partes del fruto y la semilla, su clasificación, recolección, manipulación de los frutos recién colectados, secados, almacenamiento temporal, transporte, procesamiento y beneficio de las semillas, extracción, limpieza y almacenamiento.

Trujillo (2002), elaboró un manual de árboles que tiene dos componentes principales, uno que presenta a manera de manual la producción en vivero y otro que incluye para 90 especies, las condiciones de plantación, limitantes, usos, manejo y almacenamiento de las semillas. Entre ellas reporta para *Enterolobium cyclocarpum* un almacenamiento en lugares secos, frescos, a temperatura ambiente y dentro de recipientes herméticos, por largo tiempo o manteniéndolas en sitios frescos, con temperaturas entre los 4 y 5 °C y contenidos de humedad del 6 al 8%, y para *Hymenaea courbaril* un almacenamiento a temperatura ambiente o en seco y frío con un contenido de humedad menor al 10% en recipientes herméticamente cerrados.

En síntesis, los estudios sobre semillas se han desarrollado a lo largo de muchos años, acumulándose hasta la fecha un importante volumen de conocimientos acerca de muchos aspectos de su biología y manejo. Existen numerosas publicaciones científicas y técnicas en este campo y se conocen con detalle varias características de la biología de las semillas de las plantas cultivadas más importantes y de algunos árboles de valor forestal; sin embargo, las semillas de las plantas tropicales y subtropicales no han corrido con igual suerte y su estudio

se ha quedado muy rezagado, por lo que hasta ahora del conocimiento en almacenamiento y conservación de semillas forestales se conocen los tipos de semillas en relación con su conservación (recalcitrantes y ortodoxas), el manejo y control de factores que se deben tener en cuenta como la temperatura y el contenido de humedad; así como el uso de recipientes herméticos que permitan igualmente mantener la viabilidad de las semillas por largos periodos.

5. MARCO TEÓRICO

Algunos elementos conceptuales y teóricos sobre el estudio y manejo de semillas se presentan a continuación:

La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de los bosques y la sucesión ecológica (Vásquez – Yanez *et al.*, 1997).

Las semillas son óvulos fecundados y se forman en el ovario, el cual se desarrolla para formar el fruto; sin embargo, hay ocasiones en que participan otras estructuras además del ovario en la formación del fruto.

Todas las semillas están rodeadas por una cubierta llamada testa la cual puede tener muy distintas texturas y apariencias (Figura 1). Generalmente es dura, está formada por una capa interna y una externa de cutícula y, una o más capas de tejido grueso que sirve de protección. Estas características le confieren a la testa cierto grado de impermeabilidad al agua y a los gases. Ello le permite ejercer una influencia reguladora sobre el metabolismo y crecimiento de la semilla. Frecuentemente en la testa se puede observar el micrópilo, que en muchas ocasiones está asociado con una cicatriz llamada hilio, que marca el punto donde la semilla se separó del tallo (funículo) por medio del cual estaba adherido al fruto (Moreno, 1996).

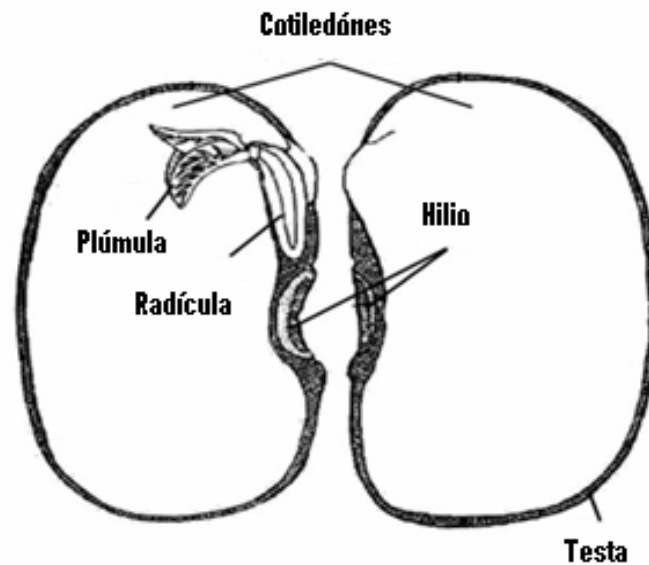
El endospermo tiene como función almacenar las reservas alimenticias de las semillas, aunque no siempre está presente. Entre las semillas que tienen un endospermo bien desarrollado están las gramíneas como el trigo, el maíz, la

cebada y algunas dicotiledóneas como *Ricinus communis*. En estos casos los cotiledones son relativamente pequeños.

El embrión es el origen de la raíz, hojas y tallo de la nueva planta, por lo que resulta de interés entender con más detalle su funcionamiento. El embrión maduro de las plantas que tienen flores consiste en un eje parecido a un tallo (eje embrionario) en cuyo extremo están uno o dos cotiledones. Estos cotiledones frecuentemente se conocen como las hojas de las semillas o las hojas cotiledonarias, debido a que son las primeras hojas en aparecer, aunque tienen forma y función diferentes de las hojas que aparecerán subsecuentemente durante la vida de la planta (Figura 1). En ambos extremos del eje embrionario hay meristemas formados por células con gran capacidad de reproducción, responsables del crecimiento. En el embrión, el meristemo apical del tallo se localiza en la parte superior del eje embrionario, justo arriba de los cotiledones, y por eso se le conoce como epicótilo —arriba de los cotiledones—. En algunos embriones el epicótilo consta solamente del meristemo apical, mientras que en otros, presenta una o más hojas jóvenes. En este último caso, el epicótilo, junto con las hojas jóvenes, se denomina plúmula. La parte del eje embrionario entre el epicótilo y el ápice de la raíz se llama hipocótilo, por encontrarse inmediatamente abajo de los cotiledones. Finalmente, en el extremo se encuentra el ápice de la raíz o radícula (Moreno, 1996).

Sintetizando, el embrión está formado básicamente por un eje hipocótilo-raíz con uno o dos cotiledones (dependiendo si son mono o dicotiledóneas) y un meristemo apical en los ápices de raíz y tallo.

Figura 1. Estructuras de una semilla



Las semillas son el mecanismo de distribución en el medio ambiente y son el almacén de la información genética de la especie; además, algunas semillas de árboles forman parte importante de la dieta del hombre y de numerosas especies de animales; tienen gran demanda en el medio industrial como fuente de grasas, ceras y aceites; también algunas semillas tienen diversos contenidos de alcaloides y glucósidos que se utilizan para combatir plagas debido a sus propiedades estimulantes y tóxicas (Romero & Rodríguez, 1999).

Cuando de estudiar semillas se trata el evaluar la viabilidad, el periodo de reposo, longevidad, germinación, el almacenamiento y la calidad de ellas es importante, por lo que estos aspectos se describen a continuación:

5.1 Por **Viabilidad** se entiende el definir si una semilla está viva y con capacidad para germinar. La viabilidad puede ser determinada con pruebas de germinación bajo condiciones óptimas o por análisis bioquímico. Cuando nos referimos a viabilidad en semillas debe tenerse en cuenta que se trata de un valor “promedio” de un lote o sea que no se están deteriorando todas las semillas a la vez con igual intensidad y que el deterioro del lote es la consecuencia de la muerte de semillas individuales con el transcurso del tiempo (Correa, 1997).

Existe la posibilidad de obtener semillas con baja viabilidad; para evitar esto, existen algunas pruebas que ayudan a determinar la calidad de un lote (su viabilidad y poder germinativo). Estas pruebas según Aguirre & Peske (1992) citado por Correa (1997), son:

5.1.1 Método colorimétrico: Es un tipo de análisis para la calidad de las semillas, basado en la coloración química diferencial de los tejidos fuertes, débiles y muertos. Con esto si un embrión está vivo y respira, al ponerlo en contacto con el indicador, éste cambiará de color. Entre los colorantes se encuentran: Biselenito Sódico, Carbonato de Sodio, el Indigo de Carmín y el Tetrazolio.

5.1.2 Prueba de Tetrazolio: El objetivo principal de la prueba de Tetrazolio es suministrar una estimación del grado de viabilidad de la semilla y del poder germinativo. Se utiliza para casi todas las especies y la cual requiere alrededor de un día para su determinación. Se determina la viabilidad del embrión utilizando soluciones de 0.1% - 1.0 % de 2, 3,5 – Trifenil Tetrazolium. Esto debido a que ciertas enzimas de tejido viable (deshidrogenasas) reducen el Tetrazolium (que no tiene color) a Formazan, que tiene un color rojo carmín y que no se difunde ni se disuelve en agua. Así, quedan con un color rojo los tejidos viables, mientras que no se colorean los tejidos muertos (Correa, 1997).

5.1.3 Prueba del pH del Exudado Colorimétrico: Cabuya (1993), citado por Correa (1997), sostiene que las semillas en presencia del agua conforman un factor importante en el proceso de germinación. Gracias a este comportamiento, durante el proceso de difusión a cambio del agua que entra a la semilla, libera al medio exterior gases, azúcares, aminoácidos, sustancias que afectan el pH del medio que embebe.

Las sustancias liberadas difieren en tipo y en cantidad entre una semilla viva y una muerta; por lo tanto, el pH del medio presenta cierta diferencia que puede ser aprovechable para estimar su viabilidad. Se emplea una solución básica de Carbonato de Sodio y el indicador Fenolftaleína, por medio de diferencias de coloración entre rosa fuerte para las semillas viables e incoloro para semillas muertas (Correa, 1997).

5.2 **Reposo:** es la fase en la cual el desarrollo de la semilla se encuentra detenido por la inexistencia de factores ambientales favorables a la germinación. La fase de reposo se contrapone a la fase de letargo, fenómeno por el cual una semilla viable no germina cuando se coloca en un sustrato húmedo, aireado y a temperatura suficiente para sostener los procesos metabólicos que conducen a la germinación; salvo casos extremos, esta temperatura oscila entre los 20°C y los 25°C. Es una fase de la vida de la semilla, después de la maduración, en la cual su desarrollo se encuentra detenido por factores estructurales o fisiológicos dependientes de la propia semilla (Besnier, 1989).

Es importante comprender, desde el primer momento de la consideración del problema, que los factores ambientales favorables para la germinación y por lo tanto, para la interrupción del reposo son: agua, oxígeno y una temperatura adecuada. Cualquier otro factor que parezca favorecer la germinación no interrumpe, en realidad, el reposo; lo que hace es romper el letargo (Besnier,

1989).

Métodos para romper el reposo:

Lo que se busca con los tratamientos pregerminativos efectuados a semillas destinadas a plantaciones, es obtener el máximo número de plántulas por cantidad de semilla utilizada y que la germinación sea uniforme dentro de un cierto período de tiempo, lo cual permitiría una manipulación más efectiva en campo (Echavarría, 1983).

Algunos tratamientos pregerminativos que se pueden emplear son:

- Tratamientos físicos: escarificación mecánica (que consiste en retirar o raspar una parte de la testa de la semilla sin dañar el embrión), sumergir las semillas en agua caliente (escaldado), utilizar temperaturas alternas y calor.

- Tratamientos químicos: Estos tratamientos consisten en impregnar las semillas con soluciones de las siguientes sustancias: Ácido Sulfúrico, Ácido Nítrico, Nitrato de Potasio, Ácido 3 Indol Acético, Ácido 3 Indol Butírico, Giberelina y Kinetina.

5.3 Longevidad de la semilla: es el tiempo que una muestra de semillas mantiene su viabilidad (o capacidad para germinar) en estado latente. Algunos efectos ambientales como temperatura, agua, nutrientes, depredación, infecciones, estado de madurez y tamaño de la semilla pueden reducir la longevidad de las semillas (Rodríguez, 2000).

5.4 Germinación: es la emergencia y desarrollo a partir del embrión, de las estructuras esenciales que son indicativas de la habilidad para inducir la formación de una planta normal bajo condiciones favorables (Correa, 1997).

El proceso de la germinación va acompañado de una gran actividad fisiológica y de cambios morfológicos. A su vez también hay factores externos que están controlando la germinación, siendo estos factores ambientales: agua, temperatura, suministro de oxígeno y luz (Correa, 1997).

Las etapas iniciales de la germinación son similares en todas las plantas con semillas; en una primera etapa, la semilla se hincha, luego emerge la radícula, se desarrolla y forma la raíz primaria, que usualmente tiene un crecimiento rápido para permitir la fijación de la plántula al suelo; de este paso común la germinación continúa en forma epígea o hipógea.

En la germinación epígea los cotiledones se observan por encima de la superficie del suelo, frecuentemente con la testa todavía prendida a ellos; después de pocos días los cotiledones aumentan de tamaño y se independizan de la testa, dejándola caer al suelo. En la germinación hipógea los cotiledones quedan debajo de la superficie de la tierra, hay un crecimiento rápido de la plúmula o tallo y la formación de las hojas primarias que inician el proceso fotosintético; los cotiledones, quedan debajo de la superficie del suelo como fuente de alimentos de la planta, mientras ésta fotosintetiza los diferentes compuestos necesarios para su desarrollo (Trujillo, 1991).

La germinación de un lote o grupo de semillas, no ocurre de una manera uniforme; en primera instancia se inicia la germinación de unas pocas hasta que al cabo de un tiempo germinan todas las que tienen condiciones favorables para hacerlo. El tiempo transcurrido entre el inicio de la germinación y su terminación, puede ser corto a largo, cuanto más corto es este período, es mayor la energía germinativa. A esta rapidez se le considera como el **vigor de germinación** y se puede medir en función del tiempo. El anterior concepto es totalmente diferente al porcentaje de germinación, el cual solo mide el número de semillas germinadas sin relacionarlas

con su rapidez.

Las pruebas de germinación miden el vigor para germinar las semillas, bajo condiciones estandarizadas y óptimas. Los sustratos para germinar las semillas tienen la función de suministrar el agua necesaria para la germinación y sostener las semillas. Deben tener las siguientes características: libres de patógenos y esporas, uniformes y estandarizables, libres de sustancias tóxicas y con alta capacidad para absorber agua y simultáneamente permitir aireación suficiente.

5.5 Almacenamiento y conservación de semillas: El almacenamiento de las semillas bajo condiciones controladas constituye en la actualidad el método de preservar la diversidad genética de numerosas especies de valor actual y potencial, así como de aquellas que se encuentran amenazadas ó en peligro de extinción (Rodríguez, 2000).

Harrington (1972), señala que en las especies que se reproducen por semillas es posible tener un aumento en la longevidad de los materiales conservados, disminuyendo la temperatura y humedad relativa en el almacenamiento.

El almacenamiento es de gran importancia para proteger la semilla y mantener una reserva de éstas para utilizarlas en años de escasa fructificación (Correa, 1997). Este procedimiento ha de hacerse en condiciones tales que la capacidad germinativa de las semillas se conserve en un buen nivel durante el mayor tiempo posible. Los problemas de almacenamiento están directamente relacionados con el clima. Se almacenan en: cuartos fríos, bodegas refrigeradas con humedad relativa y temperaturas controladas y otros recipientes (Besnier, 1989).

A las semillas que responden adecuadamente al tratamiento de almacenamiento Roberts (1973), las denominó Ortodoxas y se identifican en cereales,

leguminosas, oleaginosas, forrajeras, entre otras; en cambio, a aquellas semillas que no toleran estas condiciones, las denominó Recalcitrantes siendo el caso de especies como el caucho, cacao, palma, algunas especies forestales tropicales, frutos tropicales y algunos frutales de clima templado.

5.6 La calidad o análisis de las semillas. Por ser elementos vivos y en actividad, las semillas se pueden consumir y perder su facultad para germinar, por tanto es indispensable conocer algunas técnicas para evaluar el grado de viabilidad y aspectos físicos de interés como la germinación y el contenido de humedad (Trujillo, 1991).

5.6.2 Para el análisis de germinación la muestra requerida es de 100 semillas evaluadas como mínimo en dos repeticiones. A cada repetición se le calcula el porcentaje de germinación mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de germinación} = \frac{\text{No. de semillas germinadas}}{\text{No. de semillas sembradas}} \times 100$$

5.6.3 Contenido de humedad (CH). Las semillas, como tantos otros cuerpos, tienen un contenido de humedad sobrante dentro de sí, que presenta condiciones cambiantes; por ejemplo, cuando están en el fruto tienen un contenido de humedad máximo, que corresponde en forma real a una cantidad de agua intercelular, la cual va disminuyendo en la medida que madura el fruto y en especial cuando son sometidos a procesos de secado. La medida de la cantidad de agua libre o contenido de humedad de la semilla es importante ya que su exceso puede influir en la pérdida de viabilidad de la misma, al ser utilizada por ésta para estimular el proceso de germinación, sin existir condiciones adecuadas (Trujillo, 1991).

Para calcular la cantidad de agua libre o contenido de humedad de las semillas, se toman dos muestras de 5 gramos y se someten a un proceso gradual de secado en un horno o estufa a 103°C durante 16-17 horas o a 130°C por 1 hora, al cabo del cual se pesa la semilla, que ha perdido humedad por medio del secado; se tienen entonces 2 registros; el de 5 gramos que corresponde a un peso inicial o húmedo y el peso registrado después del proceso de secado, luego se calcula el CH de la siguiente manera:

$$\% \text{ CH} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso seco}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

5.7 Descripción general de las especies involucradas en este trabajo:

5.7.1 *Hymenaea courbaril* L.

Pertenece a la familia Caesalpinaceae. Es llamado comúnmente algarrobo, jutahí, guapinol, nazareno, quenuque, guanano. Es un árbol subcaducifolio, de 10 a 25 m (hasta 40 m) de altura (Figura 2), con un diámetro a la altura del pecho de hasta 1.5 m. Hojas alternas, compuestas por un par de folíolos opuestos, de 5 a 10 cm de largo incluyendo el pecíolo, con algunos puntos aceitosos. Flores blanco verdosas, extendidas, perfumadas, de 3.5 cm de diámetro. Se presentan en cimas densas terminales pubescentes de 10 a 15 cm de largo; cáliz verde crema, tubular carnoso en forma de campana y 5 pétalos blanco con puntos cafés, erguidos y extendidos, que apenas sobresalen del cáliz. El fruto es una vaina indehisciente, ligeramente aplanada de 10 a 17.5 cm de largo por 4 a 6.5 cm de ancho, sumamente leñosa, verdosa a café oscuro, con pulpa harinosa, dulce y comestible (Figura 3). Las vainas cuando secas exudan una resina pegajosa y fragante. Contienen 3 ó 4 semillas y permanecen largo tiempo en el árbol. Las semillas son

oblongas achatadas, pardas y duras, de 1.5 a 2.5 cm de diámetro (Figura 4), cubiertas por una pulpa gruesa, dulce y olorosa de color amarillo. Posee un sistema radical extendido. Hermafrodita (Francis, 1988).

Es un árbol nativo de América tropical, originario de México y las Antillas. Se extiende desde el centro de México hasta Perú, Colombia, Bolivia, Brasil y la Guyana Francesa y a lo largo de las Antillas desde Cuba y Jamaica a Trinidad y Tobago. Crece cerca de ríos o corrientes de agua. Su mejor crecimiento ocurre desde el nivel del mar hasta los 900 m, donde hay una precipitación de 1900 a 2150 ml/año. Su temperatura media anual va de 20 a 30° C. se desarrolla en suelos de origen volcánico y aluvial, con pH de 4.8 a 6.8, suelos arenosos, porosos, amarillos, rojizos – arcilloso (Francis, 1988).

Brinda efectos restauradores tales como la recuperación de terrenos degradados, conservación de suelos, control de erosión y estabiliza bancos de arena; a su vez aporta algunos servicios: 1. Sombra/Refugio, el árbol es usado como sombra para café, sirve de alimento a monos (*Cebus apella*), agutíes (*Dasyprocta punctata*), pericos (*Pionus maximiliani*) que consumen las semillas. 2. Ornamental, por su gran tamaño solo debe ser plantado en parques y otros sitios abiertos y nunca cerca de edificios o viviendas por su sistema radical extendido (Correa & Bernal, 1990).

Dentro de sus usos se encuentra que la resina que exuda del tronco y ramas se usa como incienso. Esta especie es maderera, se emplea en la fabricación de artesanías, trabajo de tornería e instrumentos musicales (pianos), muy apreciada en la ebanistería. Se usa en carpintería, embarcaciones, aros de ruedas de carretas, muebles de lujo, postes y decoración de interiores. Las semillas son empleadas para hacer joyería y otros pequeños ornamentos, también su madera es empleada para leña y carbón. La pulpa blanquecina y dulce que rodea las

semillas es comestible y con ellas se preparan bebidas.

Dentro de los usos medicinales se encuentra que el pericarpio del fruto contiene resina con propiedades purgantes. El cocimiento de la corteza se usa para controlar parásitos intestinales, indigestión y curar infecciones urinarias. Un linimento hecho con la corteza y resina en polvo se usa para tratar úlceras o salpullido. La resina se quema y se aspira como remedio para aliviar el asma y catarro. Se ha reportado su uso para combatir el reumatismo, estreñimiento y enfermedades venéreas (Correa & Bernal, 1990).

Figura 2. *Árbol de Hymenaea courbaril*



Figura 3. Fruto de *Hymenaea courbaril*

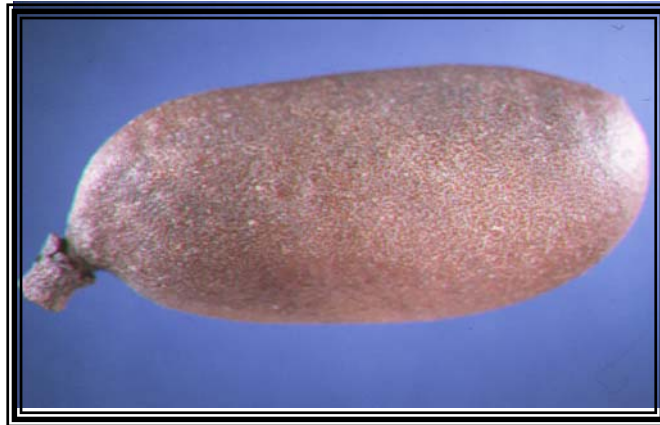


Figura 4. Semilla de *Hymenaea courbaril*



5.7.2 **Enterolobium cyclocarpum** (Jacquin) Grisebach.

Pertenece a la familia Mimosaceae. Es llamado comúnmente piñón de oreja, dormilón, orejo, riñón, guanacaste o caro. Esta especie es un árbol de 20 a 30 m (hasta 45 m de altura) (Figura 5), con un diámetro a la altura del pecho de hasta 3 m; hojas bipinnadas con 4 a 15 pares de pinnas opuestas, miden de 15 a 10 cm de largo; folíolos numerosos (15 a 30 pares por pinna) de color verde brillante que

se pliegan durante la noche. Flores en cabezuelas pedunculadas axilares, de 1.5 cm a 3.5 cm de largo. Flores actinomorfas, cáliz verde y tubular; corola verde clara, de 5 a 6 mm de largo. El fruto consiste en una vaina circular indehisciente, de 7 a 15 cm de diámetro, aplanada y enroscada, leñosa, café, brillante, de sabor dulce (Figura 6). Contiene de (5) 10 a 15 (20) semillas, de 2.3 por 1.5 cm, cafés y brillantes con una línea pálida con la forma del contorno de la semilla (Figura 7), rodeadas por una pulpa esponjosa y fibrosa de olor y sabor dulce. Presentan una testa extremadamente dura que impide la germinación hasta que una modificación estructural permita la hidratación del embrión. Presenta un sistema radical extenso y profundo. Hermafrodita (Francis, 1988).

Originaria de América tropical. Se extiende desde el centro de México (23° N.) a través de América Central y el norte de América del Sur (hasta cerca de la latitud 7 N.), Colombia, Venezuela, Trinidad, Guyana y el extremo norte de Brasil. Crece desde el nivel del mar hasta los 1200 m, a temperaturas medias de 23 °C y precipitación de 800-1200 mm anuales; con estación seca prolongada. Se desarrolla en suelos bien drenados, su crecimiento es bueno en suelos neutros o ácidos (Tokura *et al.*, 1996).

Brinda efectos restauradores tales como la recuperación de terrenos degradados, conservación de suelos, control de erosión, fijación de Nitrógeno, y cobertura de hojarasca; a su vez aporta algunos servicios: 1. Ornamental, los árboles son muy decorativos por sus enormes copas y elegante follaje. Es un árbol ideal para parques, campos de recreo y bordes de camino. 2. Barrera rompevientos. 3. Sombra/refugio. Árbol de hermoso follaje cuya sombra refresca los lugares habitados por el hombre y el ganado. 4. Cerca viva en los agrohábitats (Tokura *et al.*, 1996).

Dentro de sus múltiples usos se encuentra que es una especie de importancia maderable, con ella se elaboran juguetes y artículos torneados, se emplea en la construcción rural, en la fabricación de canoas y embarcaciones ligeras por ser muy resistente al agua; muebles y acabados de interiores. Los frutos maduros contienen un jugo gomo-resinoso que mezclado con la pulpa del mismo previamente macerada sirve para fabricar aglomerados de carbón. Produce leña muy usada en los hogares e industrias rurales.

Es una especie susceptible de aprovecharse como futuro recurso alimenticio porque la composición de aminoácidos de la semilla es comparable a la de algunas harinas como la de trigo y el pescado. Las semillas se comen tostadas y son tan alimenticias como los frijoles, además son ricas en proteínas (32 a 41%) y contienen hierro, calcio y fósforo. En algunos sitios se consumen las semillas en salsas, sopas y como sustituto del café (Correa & Bernal, 1995).

Es un árbol forrajero. Las semillas contienen 36% de proteína. Se emplean como forraje y complemento alimenticio para ganado bovino, porcino, caprino y equino. También es empleada como especie medicinal, la corteza se usa en infusiones o en vainas para curar el salpullido; es depurativa. La goma que exuda el tronco es empleada como remedio para la bronquitis y el resfriado. Los frutos verdes son astringentes y se utilizan en casos de diarrea. Es saponifera, la pulpa de las vainas verdes se usa como sustituto del jabón para lavar ropa (produce saponinas) (Correa & Bernal, 1995).

Figura 5. Árbol de *Enterolobium cyclocarpum*



Figura 6. Fruto de *Enterolobium cyclocarpum*

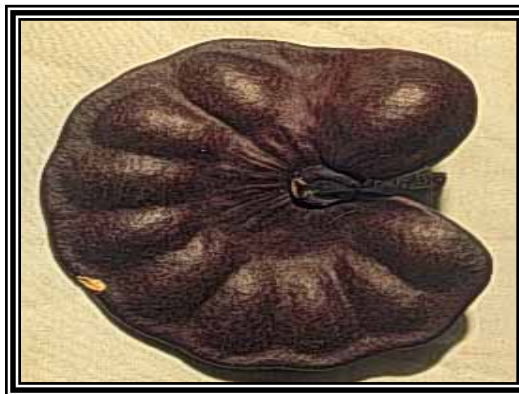


Figura 7. Semillas de *Enterolobium cyclocarpum*



6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Zonas de estudio:

Para la fase de campo y dada la presencia de las dos especies en la reserva natural La Montaña del Ocaso, se utilizó este sitio como centro de operación para el proyecto, la cual está ubicada en la vereda el Laurel, en el municipio de Quimbaya, departamento del Quindío, entre las vertientes de los ríos Roble y La Vieja (Figura 8); con una altitud entre los 1000 y 1200 metros sobre el nivel del mar y una temperatura entre los 18°C y 26°C La reserva está ubicada espacialmente con las siguientes coordenadas: latitud norte 4°34'08" y longitud oeste 75°51'03" (Agudelo & Gómez, 2001).

La fase de laboratorio se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad (CIBUQ) y en las Plantas Piloto; las dos instalaciones hacen parte de la Universidad del Quindío la cual está localizada en el municipio de Armenia con las siguientes coordenadas: latitud norte 4° 32` y longitud oeste 75° 40` (Figura 8).

Figura 8. Zonas de estudio: Reserva La Montaña del Ocaso y Universidad del Quindío

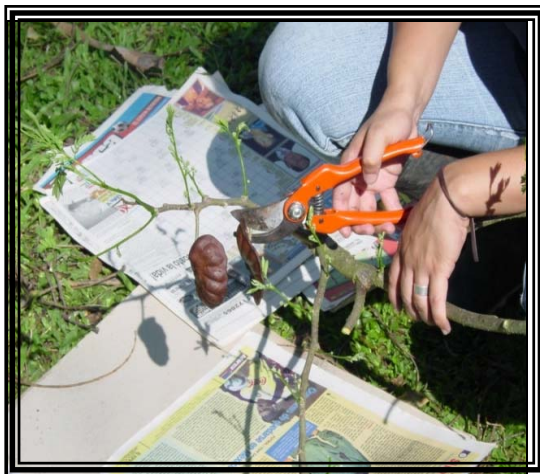


La investigación se realizó en dos fases: campo y laboratorio, las cuales se ejecutaron de forma simultánea y se tuvo como unidades experimentales a las semillas de las especies *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.

6.2 Fase de Campo

En primer lugar, antes de iniciar esta fase se utilizó material del Herbario HUQ para hacer observaciones de tipo morfológico y taxonómico que facilitarían la identificación de las dos especies en el campo; así mismo con los datos de etiqueta se estableció la época de fructificación para proceder a coleccionar los frutos en las épocas adecuadas. Igualmente se identificaron dos localidades con poblaciones de las dos especies (una en la Reserva La Montaña del Ocaso donde se ubicaron las dos especies y otra en el Municipio de La Tebaida, Quindío, donde sólo se encuentra *Enterolobium cyclocarpum*, por lo cual se eligió El Ocaso como sitio de estudio). Posteriormente se realizaron 8 salidas de un día de duración, durante los 4 primeros meses, para ubicar los sitios de muestreo; se utilizó un GPS para tener perfectamente ubicados los sitios y los individuos de las especies; tomando datos como longitud y latitud. Se seleccionaron individuos que estuvieran en periodo de fructificación, cuyos frutos y/o semillas estuvieran accesibles; seleccionando aquellos que no presentaran daños físicos (Figura 9).

Figura 9. Procesamiento del material vegetal coleccionado. a. Recolección de frutos. b. Frutos de *Enterolobium cyclocarpum*.



a.



b.

Para cada colección se registraron los siguientes datos: nombre de la especie, nombre común, número de colección, lugar y fecha de colecta, localidad (Municipio, Vereda, Finca de la colección), altitud, coordenadas geográficas, tipo de suelo, precipitación pluvial, vegetación aledaña, descripción de las características morfológicas del árbol semillero, descripción morfológica de los frutos en distintos estados de desarrollo, número de frutos colectados, estado de madurez de los frutos, estado fitosanitario de los frutos (Anexo 1-2). Las colecciones incluyeron además de los frutos, ramas vegetativas para ser depositadas en el Herbario Universidad del Quindío (HUQ), bajo la serie de numeración de P. A. ACERO.

Los datos en campo fueron tomados con ayuda de lupa, altímetro, y acompañados de un registro fotográfico. Los frutos se transportaron en estopas, se mantuvieron en un sitio fresco con el objeto de evitar la deshidratación por exceso de temperatura y se evitaron golpes o daños físicos al material, además en cada estopa se depositó un bajo número de frutos y/o semillas para evitar otros daños. Cada especie fue almacenada de forma independiente.

6.3 Fase de laboratorio

En esta fase se siguió el protocolo para el manejo de germoplasma de frijoles y forrajeras tropicales del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2004) modificado para las especies bajo estudio, el cual consistió en:

Registro material - Extracción semillas - Remoción impurezas – Selección semillas – Secado - Almacenamiento temporal – Evaluación inicial de calidad - Tratamientos prealmacenamiento - Secado final - Empaque – Conservación – Evaluación periódica de calidad. Este protocolo se describe a continuación:

6.3.1 Se realizó el registro y codificación de los frutos y/o semillas que entraron al lugar de procesamiento, teniendo en cuenta los datos tomados en campo, para mantener la identidad de este material (Anexo 3).

6.3.2 Extracción de la semilla del fruto: se retiró el pericarpo manualmente para las dos especies.

6.3.3 Remoción de impurezas: se procedió a retirar manualmente cualquier impureza que acompañara a las semillas, tales como ramas, hojas, restos de pericarpo, etc.

6.3.4 Selección de semillas: esta prueba física se hizo por medio de observación directa utilizando lupa. Se seleccionaron las semillas que presentaron las mejores condiciones y que no se encontraban deterioradas; se tuvo en cuenta el color y la forma que presentaran en general las semillas.

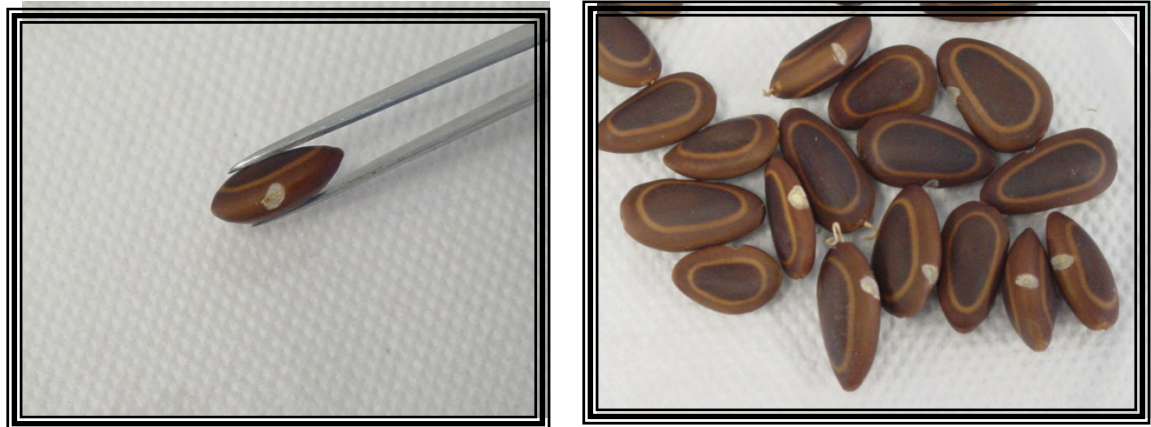
6.3.5 Secado de las semillas: las semillas de cada especie que se utilizaron para los ensayos se colocaron en bolsas de muselina y se llevaron a una desecadora de vidrio con silica gel por un periodo de 8 días para reducir su contenido de humedad hasta el 5 y el 8 %.

6.3.6 Almacenamiento temporal: luego del secado, las semillas de ambas especies se almacenaron temporalmente en bolsas de muselina y se mantuvieron en nevera a 5°C para realizar posteriormente los ensayos que se describen a continuación:

6.3.7 Escarificación: antes de cada prueba, las semillas seleccionadas para tales fines fueron sometidas a procesos de escarificación, es decir, se lijó una pequeña porción de la testa de la semilla procurando no cortar los sitios donde se ubicara

el embrión esto con el fin de acelerar los procesos de germinación y viabilidad (Figura 10).

Figura 10. Proceso de escarificación. a. Corte lateral sobre la testa de una semilla de *Enterolobium cyclocarpum*. b. Semillas de *Enterolobium cyclocarpum* escarificadas.



a.

b.

6.3.8 Evaluación inicial de calidad: estas pruebas se realizaron con el fin de determinar el estado inicial de las semillas y establecer la continuidad del ensayo. Se aplicaron pruebas iniciales a tres variables: porcentaje de germinación, porcentaje de viabilidad y porcentaje de humedad.

6.3.8.1 Prueba de germinación: esta prueba consistió en sembrar semillas de las dos especies en cajas de Petri con un substrato de papel absorbente humedecido con fungicida Vitavax 300 disuelto en agua destilada. Se tuvieron dos repeticiones cada una con 50 semillas y estas fueron mantenidas en condiciones normales de luz, temperatura y humedad (Figura 11).

Figura 11. Pruebas de germinación. a. Semillas de *Enterolobium cyclocarpum*. b. Semillas de *Hymenaea courbaril*.



Los datos se consignaron en tablas de datos (Anexo 4). El porcentaje de germinación se determinó aplicando la siguiente fórmula:

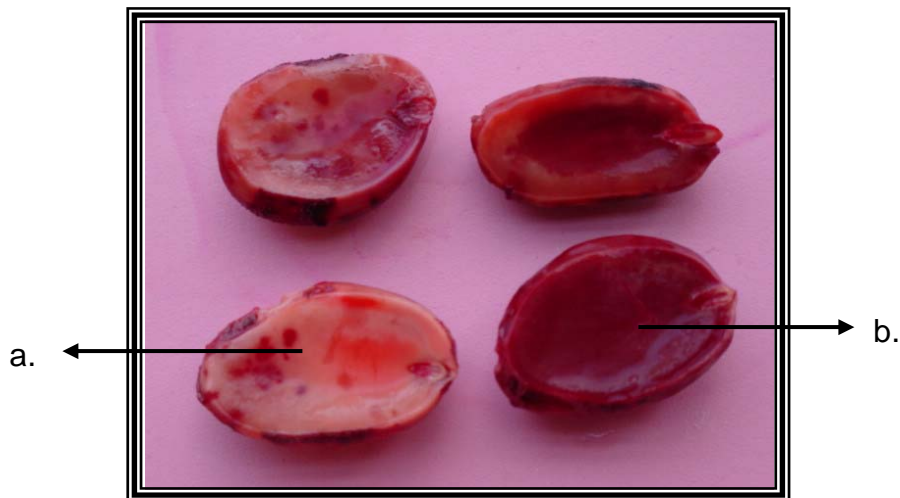
$$\% \text{ de Germinación total} = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número de semillas sembradas}} \times 100$$

Igualmente, se contó el número de semillas germinadas por día en tablas de datos para determinar la velocidad de germinación de las semillas.

6.3.8.2 Prueba de viabilidad: se empleó la técnica de tinción con Tetrazolio, para lo cual se tomaron muestras de 10 semillas, dividiéndose en dos repeticiones iguales y además esta prueba también se realizó para aquellas semillas que después de cierto tiempo no germinaron en las pruebas de germinación, con el fin de definir si estas semillas estaban en periodo de latencia o no eran viables.

Las semillas se hidrataron durante 24 horas, posteriormente se les retiró la testa y se separaron los cotiledones para realizar la prueba. Los cotiledones se sumergieron en una solución de 2,3,5 Trifenil - 2H - Tetrazolium Chloride y se llevaron al horno a 40°C por un periodo de 1 hora. Al cabo se observaron al estereoscopio y se evaluó el área coloreada (embrión, endospermo y/o cotiledones) y la intensidad de la coloración (rojo, rosado y/o incoloro) para determinar la viabilidad de cada semilla y el porcentaje de semillas viables del lote (Figura 12). Los datos se consignaron en tablas de datos (Anexo 4).

Figura 12. Pruebas de viabilidad empleando la técnica de tinción con Tetrazolio. a. Semilla no viable. b. Semilla viable.



Se esperó que el porcentaje de viabilidad fuera mayor del 85% para dar continuidad al procedimiento. El valor obtenido se tomó como referencia para las estimaciones futuras de viabilidad, luego de varios meses de almacenamiento.

6.3.8.3 Contenido de humedad: a cada especie se le determinó el contenido de humedad (CH) de las semillas. Para esto se utilizaron muestras de aproximadamente 10 gramos, dividiéndose en dos repeticiones iguales, las cuales se secaron al horno a una temperatura de ± 130 °C durante 1 hora (Figura 13),

luego del secado se dejaron enfriar durante 30 minutos en la desecadora de vidrio con silica gel, para evitar que estas ganaran nuevamente humedad. Seguidamente fueron pesadas en una balanza digital OHAUS. El CH se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{\text{Peso Semilla Húmeda} - \text{Peso Semilla Seca}}{\text{Peso Semilla Húmeda}} \times 100$$

Figura 13. Determinación del Contenido de humedad en horno a 130°C. a. Horno eléctrico con muestras de semillas. b. Muestras de semillas en cajas de petri.



a.



b.

6.3.9 Tratamientos Pre-almacenamiento:

6.3.9.1 Ahumado: consistió en colocar un lote de semillas de ambas especies a ahumar en frío (20 °C) en un horno ahumador AQUAL, cuyo humo procedió de capachos de coco. Las semillas de ambas especies fueron ahumadas por un periodo de 1 hora (Figura 14).

Figura 14. Proceso de ahumado. a. Horno ahumador. b capacho de coco. c.d. Producción de humo.



a.



b.



c.



d.

6.3.9.2 No Ahumado: consistió en no aplicar el procedimiento anterior a grupos de semillas de ambas especies.

6.3.10 Secado Final: luego de haber realizado los ensayos descritos, las semillas de cada especie se colocaron de nuevo en bolsas de muselina y se llevaron a una secadora de vidrio con silica gel por un periodo de 8 días, para reducir su

contenido de humedad hasta el 5-8 %. Para determinar tal porcentaje se aplicó el método descrito en el ítem 6.3.8.3

6.3.11 Empaque: las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* fueron empacadas en:

6.3.11.1 Vidrio: consistió en depositar una muestra de las semillas de cada tratamiento de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* en frascos de color ámbar de ½ lb (Figura 15).

Figura 15. Empaque de vidrio.



6.3.11.2 Bolsas plásticas: consistió en depositar una muestra de las semillas de cada tratamiento de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* en bolsas plásticas para empacado al vacío de ½ Lb (Figura 16). Estas semillas se empacaron al vacío en una máquina Egarback (Figura 17).

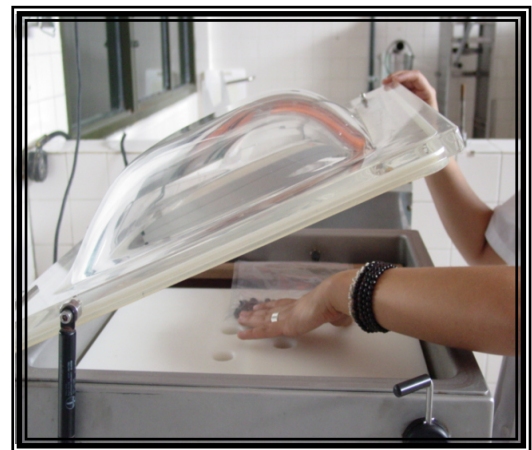
Figura 16. Bolsa plástica



Figura 17. Proceso de empaque al vacío. a. Equipo para empaque al vacío. b. Inicio del empaque al vacío. c. Extracción del aire. d. Sellado. e. Semillas de *Enterolobium cyclocarpum* empacadas al vacío. f. Semillas de *Hymenaea courbaril* empacadas al vacío.



a.



b.



c.



d.



e.



f.

6.3.11.3 Frascos plásticos: consistió en depositar todas las semillas de cada tratamiento de ambas especies en frascos plásticos de 250 g (Figura18).

Figura 18. Frasco plástico



6.3.12 Conservación: para conservar las semillas se aplicaron tratamientos de temperatura, a saber:

6.3.12.1 Tratamiento de almacenamiento en frío en nevera comercial, consistió en que un lote de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* se depositó en un sistema de almacenamiento en frío a una temperatura de 5 °C (Figura 19).

6.3.12.2 Tratamiento de almacenamiento en frío en congelador industrial, consistió en depositar un lote de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* en un sistema de almacenamiento en frío a una temperatura de -20°C (Figura 19).

Ambos equipos de enfriamiento fueron para uso exclusivo del proyecto, se les calibró la temperatura y la humedad interna.

Figura 19. Tratamiento de almacenamiento en frío. a. Congelador industrial con temperatura de -20°C. b. Nevera comercial con temperatura de 5°C. c. Semillas almacenadas en congelador industrial. d. Semillas almacenadas en nevera comercial.





c.



d.

6.3.12.3 Tratamiento de almacenamiento a temperatura ambiente = Grupo control, es decir que las semillas ubicadas en dicho bloque no fueron sometidas en un sistema de almacenamiento en frío; fueron almacenadas a temperatura ambiente (22 °C aprox.) y a la sombra (Figura 20).

Figura 20. Tratamiento de almacenamiento a temperatura ambiente



6.3.13. Evaluación periódica de calidad:

Para cada tratamiento se utilizaron 100 semillas, divididas en dos grupos de 50 semillas c/u para realizar dos repeticiones; en total se hicieron 72 tratamientos, para un total de 7200 semillas en estudio por especie (Figura 21).

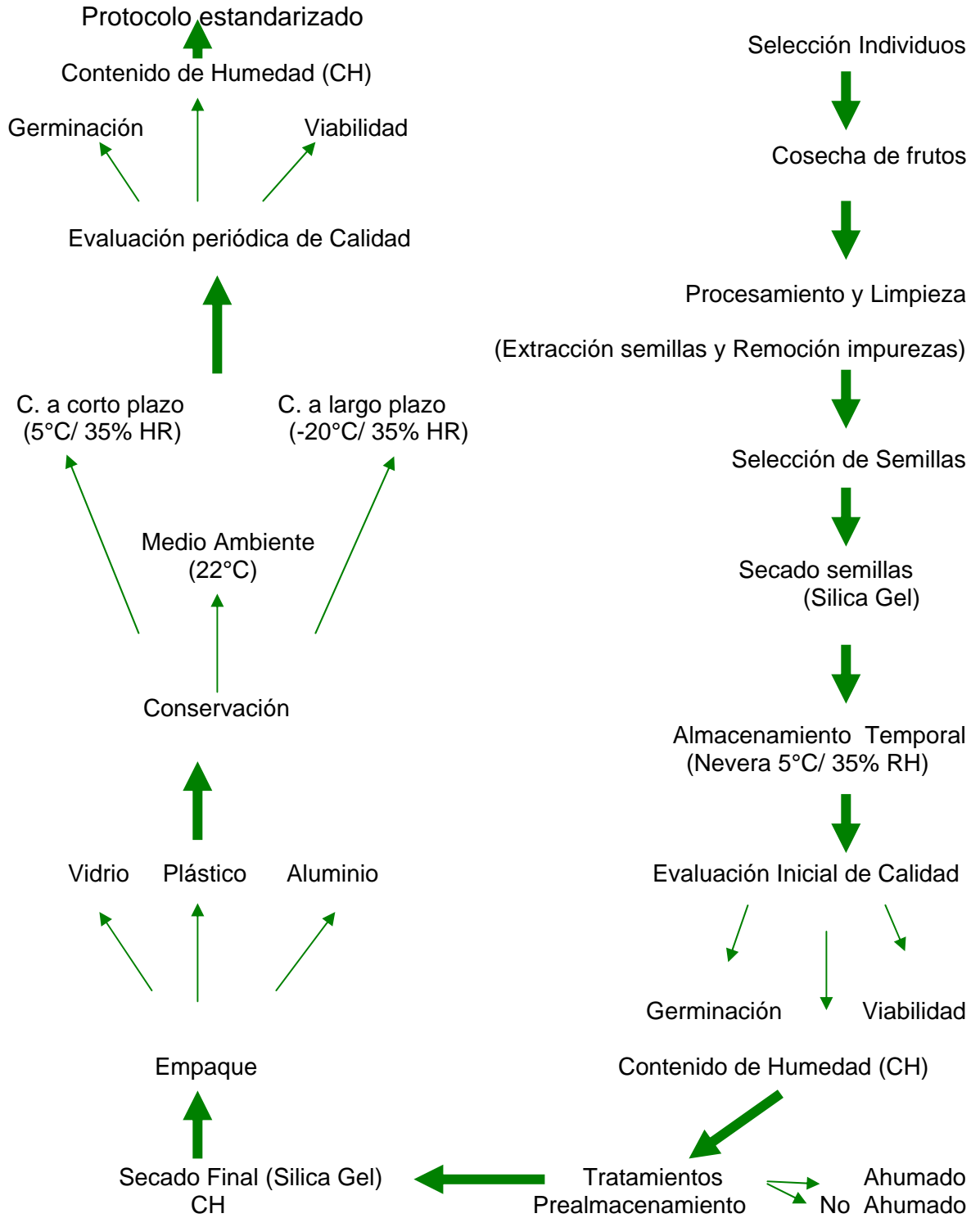
Cada 30 días se tomó un grupo de semillas de cada tratamiento, equivalente a una de las repeticiones de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* para realizar nuevamente las siguientes pruebas: Prueba de Germinación, Viabilidad y Contenido de Humedad. Este procedimiento se repitió en 4 oportunidades, es decir hasta los 120 días de almacenamiento.

Figura 21. Tratamientos

Tiempo (Días)	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)					
	Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas		
	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F
30	1...
60
90
12072

El protocolo descrito se resume en el siguiente diagrama de flujo (Figura 22):

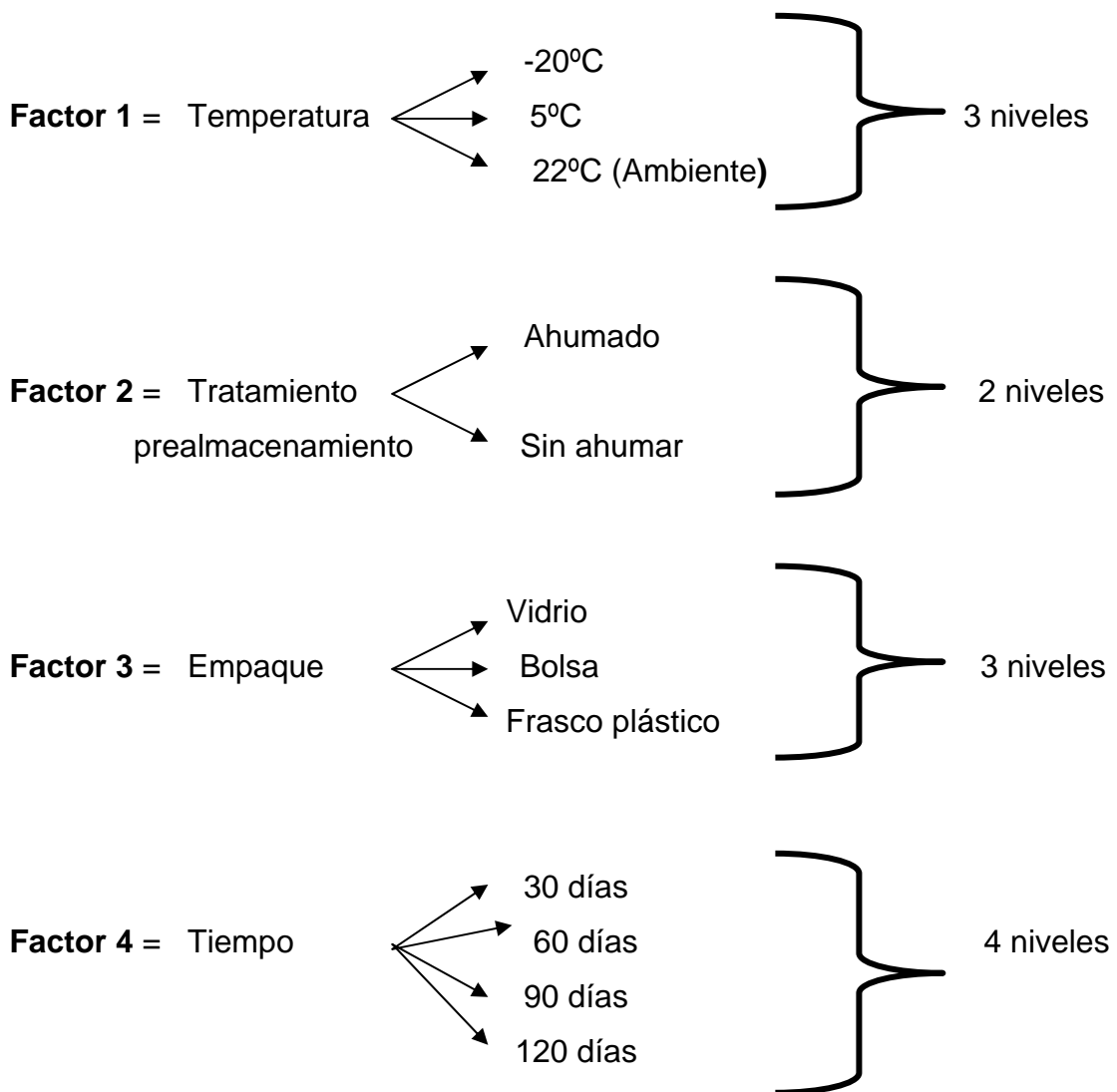
Figura 22. Protocolo para el manejo y conservación de semillas



6.4 Procesamiento de los datos:

Los datos obtenidos de cada una de las pruebas de calidad para cada especie (% de germinación, viabilidad y humedad) se consignaron en matrices de datos y fueron trabajados estadísticamente mediante un diseño Factorial 4x3x2x3x4 (Figura 23) con repeticiones (Steel & Torrie, 1985).

Figura 23. Diseño Factorial 4x3x2x3x4



Para cada matriz de datos se hizo un Análisis de Varianza (ANOVA) empleando el programa estadístico StatGraphics Plus 5.0 para determinar si había diferencia significativa para los factores (temperatura, tratamiento prealmacenamiento empaque y tiempo) y si existían interacciones entre ellos con un nivel de significancia del 95%.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos era el más adecuado y dadas las interacciones entre factores, se aplicó la prueba de comparaciones de Tukey hallando la Diferencia Mínima Significativa (DMS). Esta prueba consistió en determinar las medias generales de cada uno de los tratamientos y compararlas con el valor obtenido de la DMS. Si el valor de una de las medias era menor del valor de la DMS se tomaba este tratamiento como no significativo, pero si era mayor de dicho valor, se tomaba como significativo.

Finalmente, se hicieron gráficas para mostrar las interacciones dadas y para los resultados de los porcentajes iniciales de germinación, viabilidad y contenido de humedad.

6.5 Cartilla

Se diseñó una cartilla ilustrada dirigida a estudiantes de pregrado de Biología y áreas afines a esta (Anexo 5). Se siguieron las recomendaciones del Ministerio de Agricultura – INDERENA (Sin fecha) para la elaboración de medios pedagógicos; este material posee un contenido técnico y científico sobre aspectos básicos, manejo y almacenamiento de semillas forestales en donde se desarrollan los siguientes temas:

- Generalidades de las semillas
- Recolección de frutos y semillas
- Almacenamiento de semillas

Cada uno de los temas se desarrolló teniendo en cuenta literatura referente a trabajos realizados con semillas y teniendo como base la cartilla de Corantioquia (2001), esto permitió recopilar información básica para la construcción de este material pedagógico.

7. RESULTADOS

Con los resultados obtenidos en el presente estudio, se dan los primeros pasos para la consolidación del Banco de Semillas de la Universidad del Quindío, proceso que se ha liderado desde el año 2004 a través del Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ) por su línea de investigación en Biotecnología.

El aporte significativo de este trabajo ha permitido el desarrollo de un nuevo proyecto de investigación relacionado con esta temática, el cual es financiado actualmente por la Universidad del Quindío y a través de él se ha logrado fortalecer con equipos y suministros, el laboratorio de Biotecnología del CIBUQ; esto permitirá continuar desarrollando investigaciones de este tipo, así como la puesta en marcha del Banco de semillas de especies en vía o amenazadas de extinción de la región centro andina colombiana.

7.1 Evaluación inicial de calidad de las semillas

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las pruebas de calidad inicial realizadas a las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*:

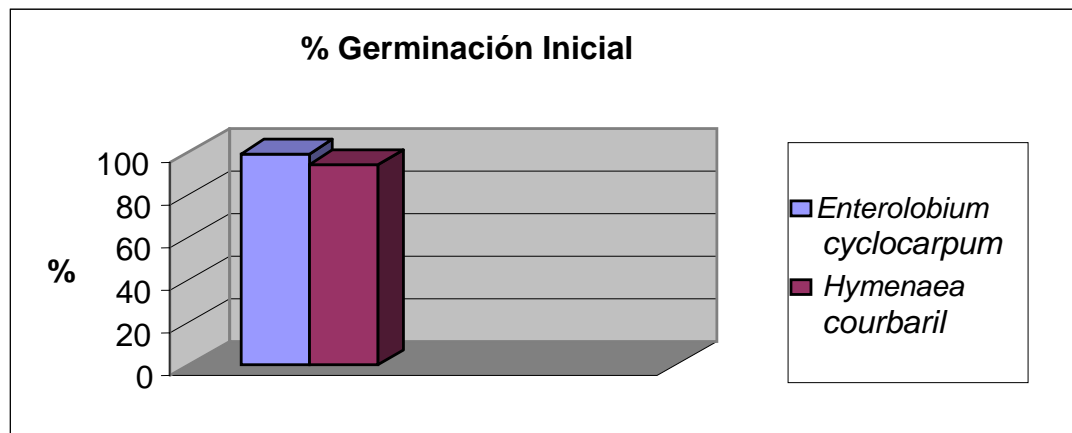
7.1.1 Evaluación de la germinación

El porcentaje inicial de germinación obtenido para las semillas de *Hymenaea courbaril* fue de 95% y para *Enterolobium cyclocarpum* del 100% (Tabla 1) (Figura 24).

Tabla 1. Porcentajes de germinación obtenidos en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.

	<i>Hymenaea courbaril</i>			<i>Enterolobium cyclocarpum</i>		
	Repetición 1	Repetición 2	Total	Repetición 1	Repetición 2	Total
Número de Semillas Sembradas	50	50	100	50	50	100
Número de Semillas Germinadas	48	47	95	50	50	100
% Germinación	96	94	95	100	100	100

Figura 24. Porcentajes de germinación obtenidos en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.



Dado que el porcentaje de germinación obtenido para las dos especies fue mayor del 85% se determinó que las semillas estaban en buen estado y por tanto eran adecuadas para continuar con los ensayos.

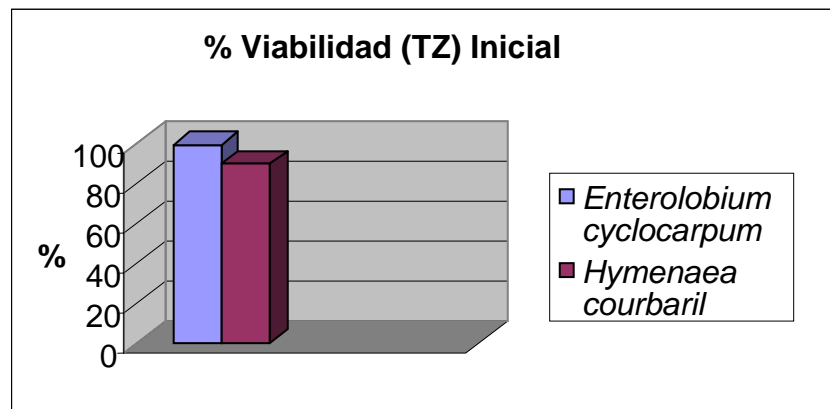
7.1.2 Evaluación de la viabilidad

El porcentaje de viabilidad obtenido por el método de Tinción con Tetrazolio (TZ) para las semillas de *Hymenaea courbaril* fue de 90% y para *Enterolobium cyclocarpum* del 100% (Tabla 2) (Figura 25).

Tabla 2. Porcentaje de viabilidad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.

	<i>Hymenaea courbaril</i>			<i>Enterolobium cyclocarpum</i>		
	Repetición 1	Repetición 2	Total	Repetición 1	Repetición 2	Total
Número de Semillas	10	10	20	10	10	20
Número de Semillas Viables	10	8	18	10	10	20
% Viabilidad	100	80	90	100	100	100

Figura 25. Porcentaje de viabilidad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.



Dado que el porcentaje de viabilidad obtenido para las dos especies fue mayor del esperado 80 - 85% se determinó que las semillas estaban en buen estado y por tanto eran adecuadas para continuar con los ensayos.

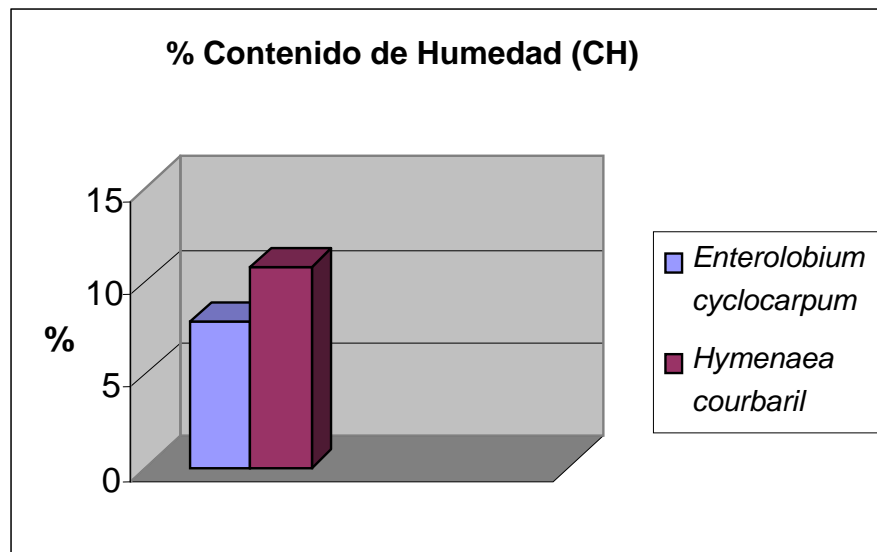
7.1.3 Evaluación del contenido de humedad (CH)

El porcentaje promedio del Contenido de Humedad (CH) obtenidos para semillas de *Hymenaea courbaril* fue de 10.752% y para *Enterolobium cyclocarpum* de 7.842% (Tabla 3) (Figura 26).

Tabla 3. Porcentaje del contenido de humedad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.

	Repeticiones	% CH	CH Promedio
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	1	5.882	7.842
	2	9.803	
<i>Hymenaea courbaril</i>	1	8.602	10.752
	2	12.903	

Figura 26. Porcentaje del contenido de humedad obtenido en las pruebas de calidad inicial para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.



Dado que el porcentaje de humedad obtenido para las dos especies fue el esperado (entre el 5 – 10.752%) se determinó que las semillas estaban en buen estado y por lo tanto eran adecuadas para continuar con los ensayos.

7.2 Evaluación periódica de calidad de las semillas.

Para los tratamientos descritos en la metodología se obtuvo los siguientes resultados:

7.2.1 Hymenaea courbaril

7.2.1.1 Evaluación del porcentaje de germinación

En esta prueba se obtuvieron valores entre el 70% y el 100% para esta especie (Tabla 4).

Tabla 4. Porcentajes de germinación obtenidos para las semillas de *Hymenaea courbaril* en cada uno de los tratamientos.

Tiempo (Días)	Rep.	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)					
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas		
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F
30	I	84	80	100	100	88	100	84	84	90	92	94	92	100	100	80	100	88	96
	II	94	92	92	96	100	86	80	90	88	86	88	100	82	100	84	100	96	100
60	I	84	84	72	100	100	100	90	82	80	100	100	100	90	82	86	100	100	100
	II	88	88	94	100	100	100	92	84	84	100	100	100	86	96	82	100	100	100
90	I	76	90	100	100	90	100	76	90	84	100	100	100	92	100	74	100	100	80
	II	80	72	90	96	100	100	80	82	70	90	100	100	80	92	80	92	90	100
120	I	80	84	96	100	100	100	80	96	88	96	100	100	80	80	80	96	100	90
	II	92	94	100	94	80	100	84	80	80	100	100	94	82	100	84	92	90	88

Rep.= Repeticiones, V= empaque en vidrio, B= Empaque en bolsa, F= Empaque en frasco plástico.

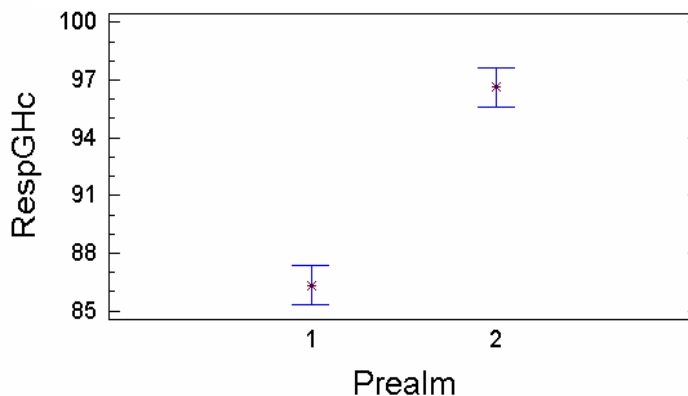
Tomando como base la matriz de datos anterior se aplicó un ANOVA, el cual mostró una diferencia significativa para el factor prealmacenamiento y para la interacción de primer orden o de dos factores: el empaque y la temperatura (Tabla 5) (Figuras 27-28).

Tabla 5. ANOVA para el porcentaje de Germinación de *Hymenaea courbaril*.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	54.3852	2	27.1926	0.73	0.4867
Prealm	3789.15	1	3789.15	101.20	0.0000*
Rep	5.0283	1	5.0283	0.13	0.7149
Temp	89.2865	2	44.6432	1.19	0.3086
Tiem	138.704	3	46.2348	1.23	0.3023
Emp*Prealm	124.009	2	62.0043	1.66	0.1971
Emp*Temp	667.004	4	166.751	4.45	0.0026*
Emp*Tiem	109.074	6	18.1791	0.49	0.8174
Prealm*Temp	122.806	2	61.4031	1.64	0.2002
Prealm*Tiem	440.171	3	146.724	3.92	0.0114
Temp*Tiem	267.724	6	44.6207	1.19	0.3188
Emp*Prealm*Temp	315.919	4	78.9796	2.11	0.0869
Emp*Prealm*Tiem	143.65	6	23.9416	0.64	0.6983
Prealm*Temp*Tiem	168.172	6	28.0287	0.75	0.6122
Emp*Prealm*Temp*Tiem	279.824	12	23.3187	0.62	0.8171
Residual	3107.56	83	37.4405	-	-
Total (corregido)	9857.97	143	-	-	-

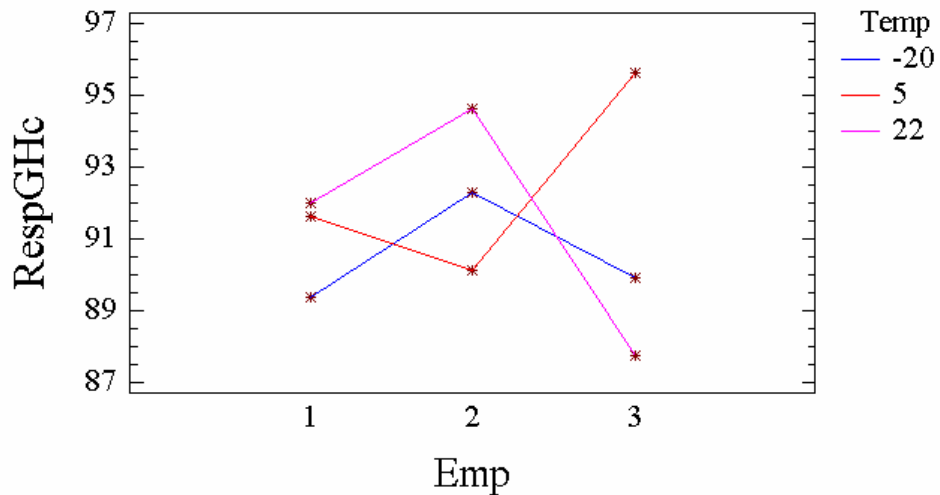
* Significativo

Figura 27. Medias de los porcentajes de Germinación para el factor prealmacenamiento.



En la figura anterior se puede observar que el tratamiento prealmacenamiento 2 (Sin Ahumar) presenta los más altos porcentajes de germinación comparados con el tratamiento 1 (Ahumado).

Figura 28. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y la temperatura.



En la figura anterior se puede observar que los porcentajes más altos de germinación para *Enterolobium cyclocarpum* se presentaron almacenándolas a 22°C y empacándolas en bolsas, así mismo a 5°C y en frascos plásticos. En frascos y a temperaturas de -20°C y 22°C los porcentajes de germinación son bajos.

Para determinar cuál de los tratamientos significativos es el más adecuado y dada la interacción entre los empaques y la temperatura se aplicó una prueba de Tukey para hallar la Diferencia Mínima Significativa (DMS) (Tabla 6).

Tabla 6. DMS para la interacción de factores.

Factor	DMS
Temperatura	8.4
Empaques	8.4

Seguidamente se compararon los DMS con las medias de los factores y tratamientos, a saber:

Tabla 7. Medias generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	91.8	↕
Tiempo 60 días	92.8	
Tiempo 90 días	90.0	
Tiempo 120 días	91.1	
5°, ahumado, vidrio	84.7	↕
5°, ahumado, bolsa	85.5	
5°, ahumado, frasco	93.0	
5°, sin ahumar, vidrio	98.2	↕
5°, sin ahumar, bolsa	94.7	
5°, sin ahumar, frasco	98.2	
-20°, ahumado, vidrio	84.7	↕
-20°, ahumado, bolsa	86.0	
-20°, ahumado, frasco	82.5	
-20°, sin ahumar, vidrio	95.5	↕
-20°, sin ahumar, bolsa	97.7	
-20°, sin ahumar, frasco	98.2	
22°, ahumado, vidrio	86.5	↕↕
22°, ahumado, bolsa	93.7	
22°, ahumado, frasco	81.2	
22°, sin ahumar, vidrio	97.5	↕
22°, sin ahumar, bolsa	95.5	
22°, sin ahumar, frasco	94.2	

Del análisis anterior, se deduce que:

El almacenar semillas de *H. courbaril* a temperatura ambiente (22° C), ahumarlas y empacarlas en frascos plásticos puede reducir significativamente el porcentaje de germinación, los demás métodos de almacenamiento no generan diferencias significativas en ésta variable. De todos los métodos de almacenamiento ensayados se puede determinar que guardar semillas de *H. courbaril* en nevera a 5° C, sin ahumar y almacenándolas en vidrio o frascos plásticos generan los mejores porcentajes de germinación. Igual puede afirmarse de almacenamientos en congeladores a -20° C, sin ahumar y empacadas en frascos plásticos.

7.2.1.2 Evaluación de la viabilidad de las semillas

En esta prueba se obtuvieron valores entre el 40% y el 100% (Tabla 8).

Tabla 8. Porcentajes de Viabilidad obtenidos para las semillas de *Hymenaea courbaril*.

Tiempo (Días)	Rep.	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)						
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	
30	I	80	100	100	100	100	100	80	80	100	100	80	80	100	100	80	100	80	100	
	II	100	80	80	100	100	100	60	80	80	80	100	100	80	100	80	100	100	100	
60	I	100	100	80	100	100	100	100	80	100	100	100	100	100	80	100	60	80	100	80
	II	40	60	60	80	100	100	100	100	80	80	80	100	80	80	60	100	100	100	
90	I	80	80	80	100	80	100	80	60	80	80	100	100	40	60	80	100	100	80	
	II	60	100	80	100	60	80	80	80	60	60	100	80	60	80	60	80	100	100	
120	I	60	80	80	100	100	80	100	80	100	80	100	100	80	100	100	100	100	100	
	II	100	80	80	100	80	100	80	100	80	100	100	80	80	80	80	80	100	80	

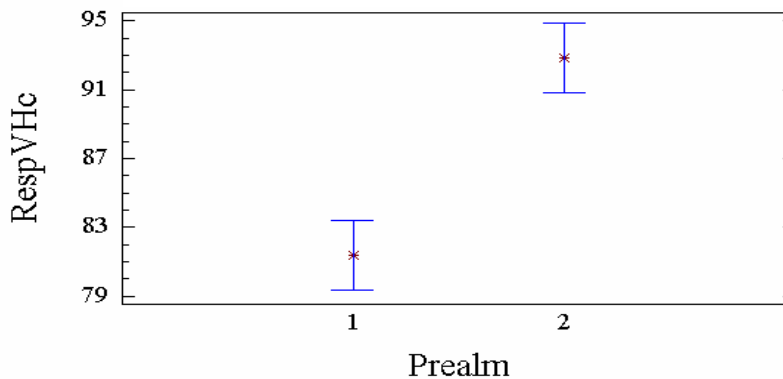
El ANOVA mostró que no hay interacción entre factores, pero si una diferencia significativa para dos factores: El prealmacenamiento y el tiempo (Tabla 9) (Figuras 29-30).

Tabla 9. ANOVA para el porcentaje de Viabilidad de *Hymenaea courbaril*.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	529.528	2	264.764	1.80	0.1721
Prealm	4695.39	1	4695.39	31.87	0.0000*
Rep	775.024	1	775.024	5.26	0.0243
Temp	16.9924	2	8.4962	0.06	0.9440
Tiem	2209.03	3	736.342	5.00	0.0031*
Emp*Prealm	64.1802	2	32.0901	0.22	0.8047
Emp*Temp	441.151	4	110.288	0.75	0.5617
Emp*Tiem	199.789	6	33.2982	0.23	0.9672
Prealm*Temp	538.867	2	269.434	1.83	0.1670
Prealm*Tiem	499.744	3	166.581	1.13	0.3415
Temp*Tiem	1692.89	6	282.149	1.92	0.0878
Emp*Prealm*Temp	959.049	4	239.762	1.63	0.1750
Emp*Prealm*Tiem	681.811	6	113.635	0.77	0.5946
Prealm*Temp*Tiem	1356.37	6	226.062	1.53	0.1771
Emp*Prealm*Temp*Tiem	2360.49	12	196.708	1.34	0.2148
Residual	12227.0	83	147.313	-	-
Total (corregido)	29288.9	143	-	-	-

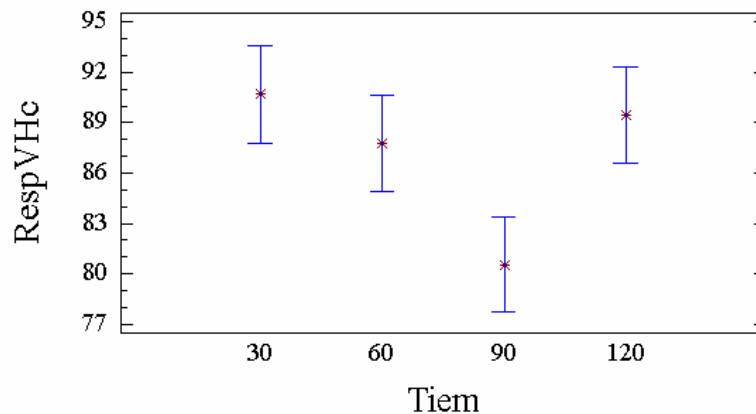
* Significativo

Figura 29. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor prealmacenamiento.



En la figura anterior se puede observar que los porcentajes de viabilidad más altos se obtuvieron para el prealmacenamiento 2 (Sin Ahumar) mientras que para el tratamiento 1(Ahumado) se obtuvo valores más bajos.

Figura 30. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Tiempo.



En la figura anterior se puede observar que los valores más bajos de viabilidad fueron para el periodo de 90 días mientras que el más alto se obtuvo a los 30 días. Los otros dos periodos de tiempo igualmente presentaron valores de viabilidad mayores.

Tabla 10. DMS para los factores significativos Prealmacenamiento y Tiempo.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	31.0
Prealmacenamiento	17.14

Tabla 11. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	91.1	↕
Tiempo 60 días	87.7	
Tiempo 90 días	80.5	
Tiempo 120 días	89.4	
5°, ahumado, vidrio	77.5	↕
5°, ahumado, bolsa	85.0	
5°, ahumado, frasco	80.0	

5°, sin ahumar, vidrio	97.5	↑ ↓
5°, sin ahumar, bolsa	90.0	
5°, sin ahumar, frasco	95.0	
-20°, ahumado, vidrio	85.0	↑ ↓
-20°, ahumado, bolsa	82.5	
-20°, ahumado, frasco	85.0	
-20°, sin ahumar, vidrio	85.0	↑ ↓
-20°, sin ahumar, bolsa	95.0	
-20°, sin ahumar, frasco	92.5	
22°, ahumado, vidrio	75.0	↑ ↓
22°, ahumado, bolsa	87.5	
22°, ahumado, frasco	75.0	
22°, sin ahumar, vidrio	92.5	↑ ↓
22°, sin ahumar, bolsa	97.5	
22°, sin ahumar, frasco	92.5	

Del análisis anterior, se deduce que:

El almacenar semillas de *Hymenaea courbaril* bajo el tratamiento de prealmacenamiento sin ahumar genera los mejores porcentajes de viabilidad, mientras que el ahumado puede reducir significativamente este porcentaje. Se puede concluir que las semillas de esta especie en todos los tiempos de almacenamiento evaluados generaron altos porcentajes de viabilidad (superiores al 80%), los valores más altos se registraron para los 30 y 120 días de almacenamiento.

7.2.1.3 Evaluación del contenido de Humedad

Para esta prueba se obtuvieron valores entre 8.75 y 11% (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentajes de Humedad obtenidos para las semillas de *Hymenaea courbaril*.

Tiempo (Días)	Rep.	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)						
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	
30	I	10	10	9	10	9,36	10	10	9,6	10	10	10	10	10	10	9,5	10	10	10	10
	II	9,5	9,62	9,3	10	9,5	10	9,61	9,8	9,9	10	9,94	10	10,02	9,33	10	9,88	11	9,83	
60	I	9,2	9,18	9,27	9,4	9,51	9,56	9,03	9	9,2	9,87	9,98	10	9,01	9,48	11,3	10	10	9,8	
	II	9,2	9	9,3	9,48	9,49	9,5	8,94	9	9,2	9,83	9,92	10,7	9,94	9,52	10,21	10	9,95	9,85	
90	I	9,38	9	9,52	9,5	9,47	9,42	8,98	9,07	9,2	9,92	9,9	10	9,78	9,5	9,86	9,71	9,7	9,75	
	II	9,41	8,9	9,48	9,47	9,44	9,4	8,9	8,97	9	9,93	9,88	9,94	9,8	9,46	9,83	9,75	9,73	9,8	
120	I	9,5	8,7	9,6	9,92	9,97	10,02	9	9,52	8,76	9,96	9,82	9,8	9	9,2	9,84	9,85	9,8	10	
	II	9,88	8,53	9,5	9,67	9,9	9,88	9,2	9,7	9	9,81	9,76	9,65	9,64	9,46	8,96	10	9,8	9,98	

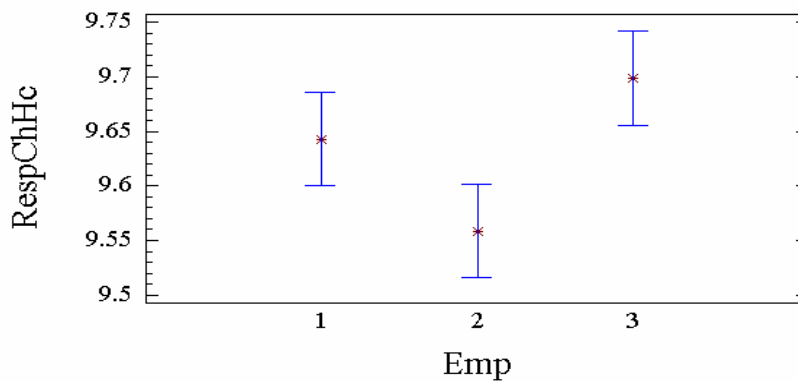
El ANOVA mostró que hay interacciones significativas entre los cuatro factores: empaques, prealmacenamiento, temperatura y tiempo (Tabla 13) (Figuras 31-38).

Tabla 13. ANOVA para el porcentaje de Contenido de Humedad de *Hymenaea courbaril*.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	0.472441	2	0.23622	5.32	0.0067*
Prealm	5.95529	1	5.95529	134.03	0.0000*
Rep	0.00234809	1	0.00234809	0.05	0.8187
Temp	2.29309	2	1.14654	25.80	0.0000*
Tiem	2.2283	3	0.742767	16.72	0.0000*
Emp*Prealm	0.290672	2	0.145336	3.27	0.0429*
Emp*Temp	0.457365	4	0.114341	2.57	0.0436*
Emp*Tiem	0.623937	6	0.103989	2.34	0.0388*
Prealm*Temp	1.15469	2	0.577346	12.99	0.0000*
Prealm*Tiem	0.595626	3	0.198542	4.47	0.0059*
Temp*Tiem	0.97652	6	0.162753	3.66	0.0028*
Emp*Prealm*Temp	0.831914	4	0.207979	4.68	0.0019*
Emp*Prealm*Tiem	0.230156	6	0.0383594	0.86	0.5254
Prealm*Temp*Tiem	1.56734	6	0.261224	5.88	0.0000*
Emp*Prealm*Temp*Tiem	2.83657	12	0.236381	5.32	0.0000*
Residual	3.6878	83	0.0444313	-	-
Total (corregido)	24.5318	143	-	-	-

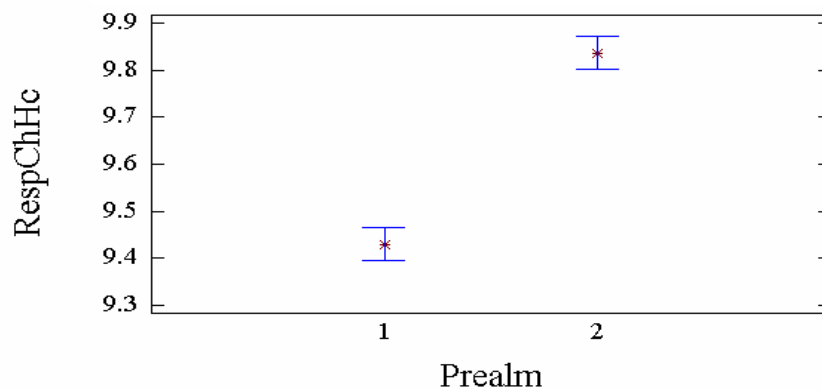
* Significativo

Figura 31. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Empaque.



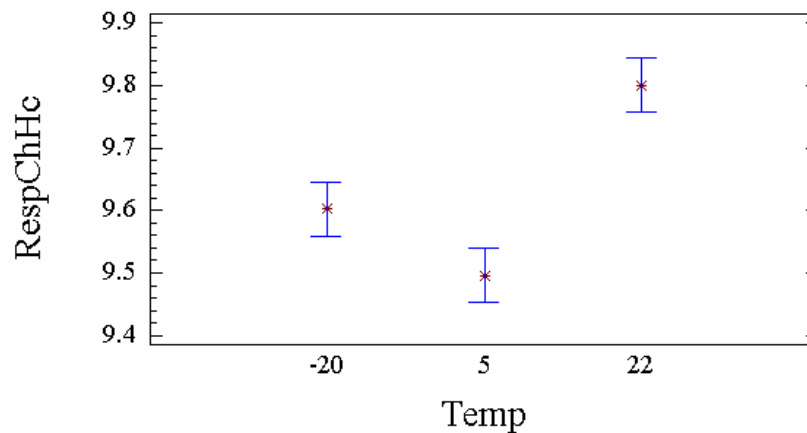
En la figura anterior se puede observar que los porcentajes de humedad de las semillas son mayores en los frascos plásticos mientras que empacando en bolsas los contenidos de humedad son más bajos.

Figura 32. Medias de los porcentajes de humedad para el factor prealmacenamiento.



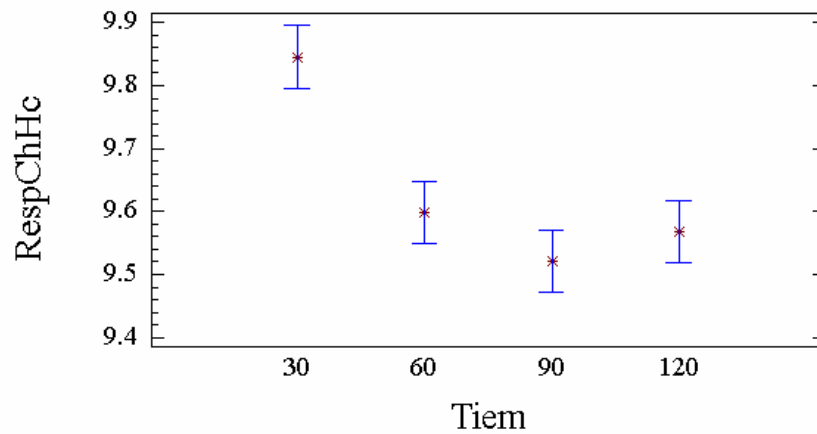
Se observa en la figura anterior que los porcentajes de humedad son mayores bajo el tratamiento 2 (Sin Ahumar) que para el tratamiento 1(Ahumado) donde son más bajos.

Figura 33. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Temperatura.



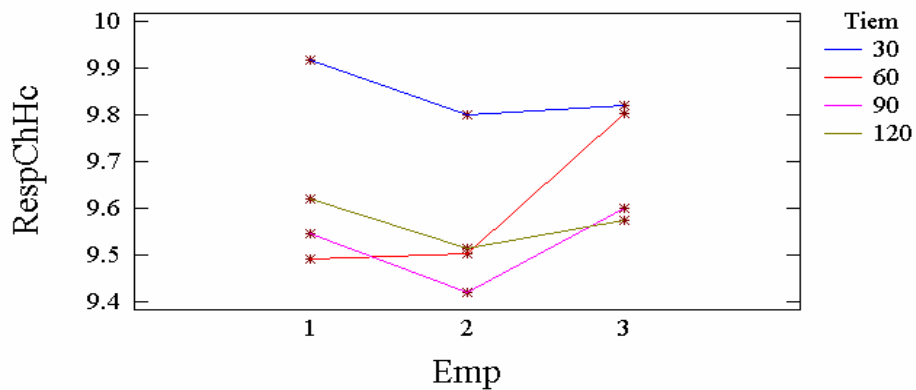
En esta figura los porcentajes de humedad mas altos fueron para el almacenamiento a 22°C mientras que los valores más bajos se registraron para la temperaturas de 5°C y – 20°C.

Figura 34. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Tiempo.



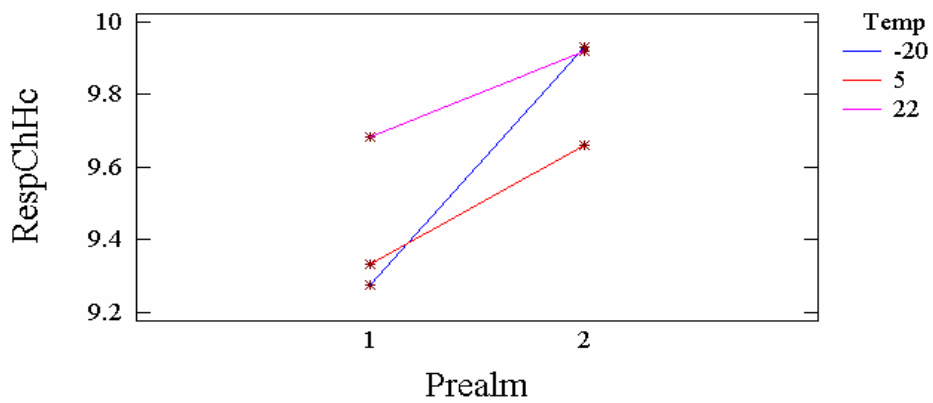
De la figura anterior se puede observar que los porcentajes de humedad mas altos se registraron para el periodo de 30 días, mientras que para los demás fueron bajos y en general se mantuvieron en un rango similar.

Figura 35. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y el tiempo.



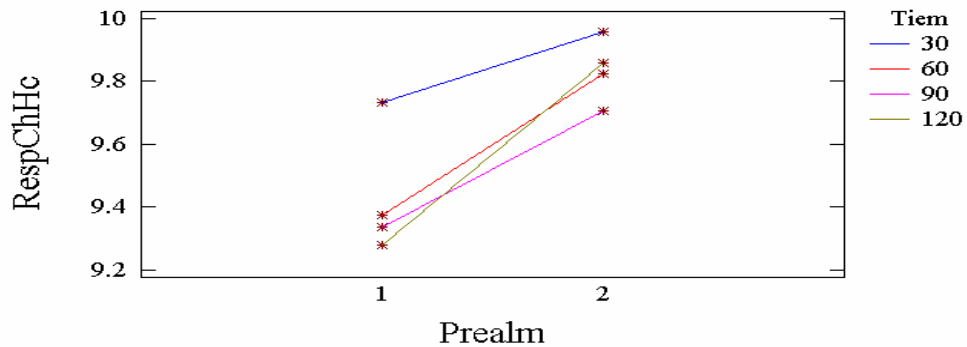
De la figura anterior se puede observar que los porcentajes de humedad mas bajos se obtuvieron almacenando las semillas en el empaque 2 (Bolsa) y a un periodo de 90 días, mientras que los más altos fueron para el empaque 1 (Vidrio) con 30 días de almacenamiento.

Figura 36. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.



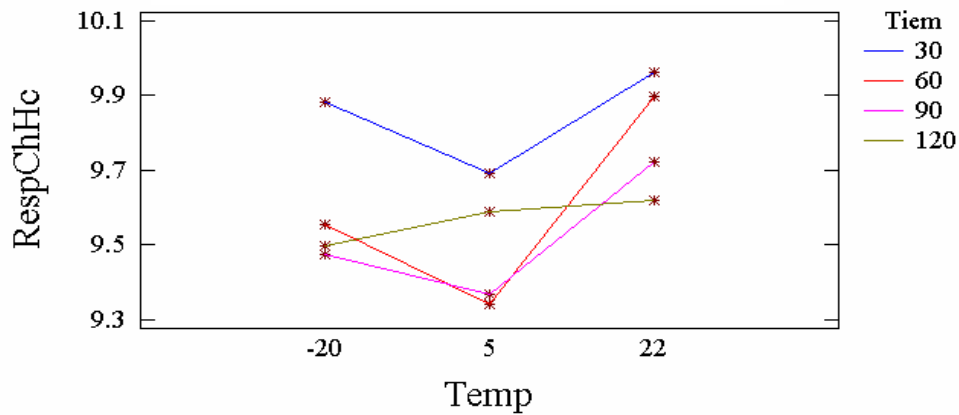
Los porcentajes de humedad son más altos para el tratamiento 2 (Sin ahumar) y a una temperatura de 22 y -20°C mientras que los más bajos se presentaron para el tratamiento prealmacenamiento 1 (Ahumado) a una temperatura de -20 y 5°C.

Figura 37. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.



Los porcentajes de humedad se presentan altos para el tratamiento prealmacenamiento 2 (Sin ahumar) en un periodo de 30 días y los más bajos en el tratamiento 1 en un tiempo de 120 días.

Figura 38. Interacción de primer orden entre dos factores: la temperatura y el tiempo.



De la figura anterior se puede observar que los valores en porcentaje de humedad se registran mas bajos en los tratamientos de 5°C a un periodo de almacenamiento de 60 días y los más altos a una temperatura de 22°C en un tiempo de -20°C.

Tabla 14. DMS para la interacción de factores.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	0.26
Temperatura	0.272
Prealmacenamiento	0.283
Empaques	0.272

Tabla 15. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	9.85	
Tiempo 60 días	9.60	
Tiempo 90 días	9.51	
Tiempo 120 días	9.57	

5°, ahumado, vidrio	9.50	↑ ↓
5°, ahumado, bolsa	9.11	
5°, ahumado, frasco	9.37	
5°, sin ahumar, vidrio	9.67	↑ ↓
5°, sin ahumar, bolsa	9.61	
5°, sin ahumar, frasco	9.72	
-20°, ahumado, vidrio	9.20	↑ ↓
-20°, ahumado, bolsa	9.33	
-20°, ahumado, frasco	9.28	
-20°, sin ahumar, vidrio	9.91	↑ ↓
-20°, sin ahumar, bolsa	9.9	
-20°, sin ahumar, frasco	10.01	
22°, ahumado, vidrio	9.64	↑ ↓
22°, ahumado, bolsa	9.43	
22°, ahumado, frasco	9.99	
22°, sin ahumar, vidrio	9.89	↑ ↓
22°, sin ahumar, bolsa	9.99	
22°, sin ahumar, frasco	9.87	

Del análisis anterior, se deduce que:

El tratamiento que ayuda a obtener valores bajos en el porcentaje de contenido de humedad para las semillas de *Hymenaea courbaril* es a 5°C, ahumarlas y empacarlas en vidrio. Podría decirse que el tratamiento que menos ayuda a bajar el Contenido de Humedad es a 22°C, ahumarlas y empacarlas en frasco plástico. Observando los resultados de las medias se puede decir que ninguno de los tratamientos es más efectivo que otro, todos en general generan el mismo efecto.

7.2.2 Enterolobium cyclocarpum

7.2.2.1 Evaluación del porcentaje de Germinación

Para esta prueba se obtuvieron valores entre 72% y 100% (Tabla 16)

Tabla 16. Porcentajes de Germinación obtenidos para las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

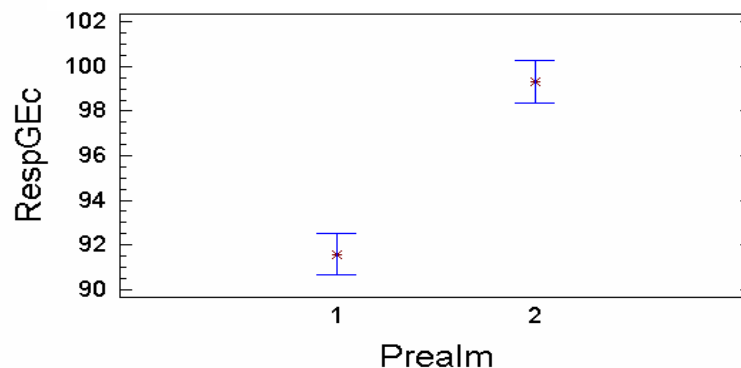
Tiempo (Días)	Rep.	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)					
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas		
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F
30	I	86	80	76	100	100	100	80	86	70	100	100	100	72	80	100	100	100	100
	II	78	84	80	100	100	100	90	92	80	100	100	100	98	84	80	100	100	100
60	I	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	100	100	100	76
	II	100	100	100	82	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100
90	I	80	80	100	100	100	100	100	80	100	100	100	100	72	80	100	100	100	100
	II	100	84	100	100	100	100	100	92	80	100	100	100	98	84	100	100	100	100
120	I	100	100	100	100	100	100	80	100	100	100	100	100	92	80	100	100	100	100
	II	80	100	100	100	100	100	92	100	100	100	100	100	98	80	100	100	100	100

El ANOVA mostró que hay dos interacciones de primer orden entre dos factores: empaque – prealmacenamiento y prealmacenamiento – tiempo. Además una interacción de segundo orden o de tres factores entre el empaque, el prealmacenamiento y la temperatura (Tabla 17) (Figura 39-41)

Tabla 17. ANOVA para el porcentaje de Germinación de *Enterolobium cyclocarpum*.

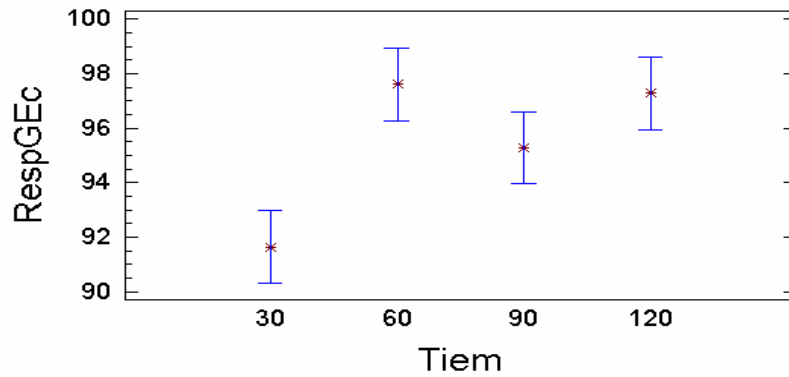
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	134.841	2	67.4203	2.12	0.1269
Prealm	2138.38	1	2138.38	67.12	0.0000*
Rep	28.8556	1	28.8556	0.91	0.3440
Temp	74.0172	2	37.0086	1.16	0.3180
Tiem	801.866	3	267.289	8.39	0.0001*
Emp*Prealm	253.124	2	126.562	3.97	0.0225*
Emp*Temp	331.948	4	82.9869	2.60	0.0416
Emp*Tiem	294.847	6	49.1411	1.54	0.1746
Prealm*Temp	24.738	2	12.369	0.39	0.6795
Prealm*Tiem	1519.59	3	506.53	15.90	0.0000*
Temp*Tiem	156.341	6	26.0568	0.82	0.5591
Emp*Prealm*Temp	487.095	4	121.774	3.82	0.0067*
Emp*Prealm*Tiem	381.338	6	63.5563	2.00	0.0755
Prealm*Temp*Tiem	131.861	6	21.9769	0.69	0.6584
Emp*Prealm*Temp*Tiem	450.0	12	37.5	1.18	0.3130
Residual	2644.13	83	31.857	-	-
Total (corregido)	9901.31	143	-	-	-

Figura 39. Medias de los porcentajes de germinación para el factor prealmacenamiento.



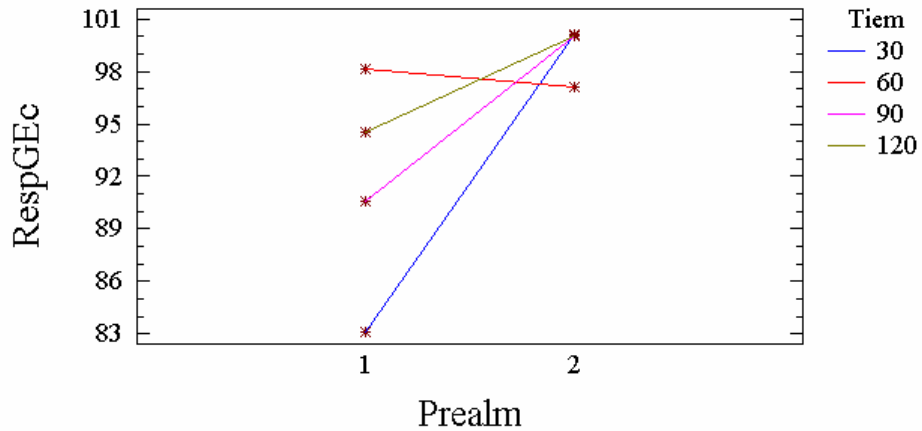
En la figura anterior los porcentajes de germinación para *Enterolobium cyclocarpum* fueron mayores bajo el tratamiento prealmacenamiento 2 (Sin ahumar) mientras que los más bajos se registraron en el tratamiento 1 (Ahumado).

Figura 40. Medias para el factor Tiempo en la variable Germinación.



En la figura anterior se puede observar que los porcentajes de germinación fueron menores en el periodo de 30 días y posteriormente aumentaron registrándose valores mayores a los 60 y 120 días.

Figura 41. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y el tiempo.



En la figura, los valores de porcentaje de germinación para *Enterolobium cyclocarpum* son mayores para el tratamiento prealmacenamiento 2 (Sin Ahumar) a periodos de 30, 90 y 120 días. El valor más bajo se registró para el tratamiento 1 (Ahumado) y a los 30 días.

Tabla 18. DMS para la interacción de factores.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	7.44
Temperatura	7.82
Prealmacenamiento	7.98
Empaques	7.82

Tabla 19. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	91.5	↕
Tiempo 60 días	97.6	
Tiempo 90 días	95.2	
Tiempo 120 días	97.2	
5°, ahumado, vidrio	90.5	↕
5°, ahumado, bolsa	91.0	
5°, ahumado, frasco	94.5	
5°, sin ahumar, vidrio	96.5	↕
5°, sin ahumar, bolsa	100	
5°, sin ahumar, frasco	100	
-20°, ahumado, vidrio	92.7	↕
-20°, ahumado, bolsa	93.7	
-20°, ahumado, frasco	91.2	
-20°, sin ahumar, vidrio	100	↕
-20°, sin ahumar, bolsa	100	
-20°, sin ahumar, frasco	100	
22°, ahumado, vidrio	91.2	↕
22°, ahumado, bolsa	81.7	
22°, ahumado, frasco	97.5	
22°, sin ahumar, vidrio	100	↕
22°, sin ahumar, bolsa	100	
22°, sin ahumar, frasco	97	

Del análisis anterior, se deduce que:

El almacenar semillas de *Enterolobium cyclocarpum* a temperatura ambiente (22° C), ahumarlas y empacarlas en vidrio, bolsa y frascos plásticos puede reducir significativamente el porcentaje de germinación, los demás métodos de almacenamiento no generan diferencias significativas en ésta variable.

De todos los métodos de almacenamiento ensayados se puede concluir que guardar semillas de esta especie en congelador a – 20 °C, sin ahumar y almacenándolas en vidrio, bolsa o frascos plásticos generan los mejores porcentajes de germinación. Igual puede afirmarse de almacenamientos en nevera a 5°C, sin ahumar y empacadas en bolsa y frascos plásticos, y a temperatura ambiente (22°C), sin ahumar y empacadas en vidrio y bolsas.

7.2.2.2 Evaluación de la viabilidad de las semillas

En esta prueba se obtuvieron valores entre el 60% y el 100% (Tabla 20).

Tabla 20. Porcentajes de Viabilidad obtenidos para las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

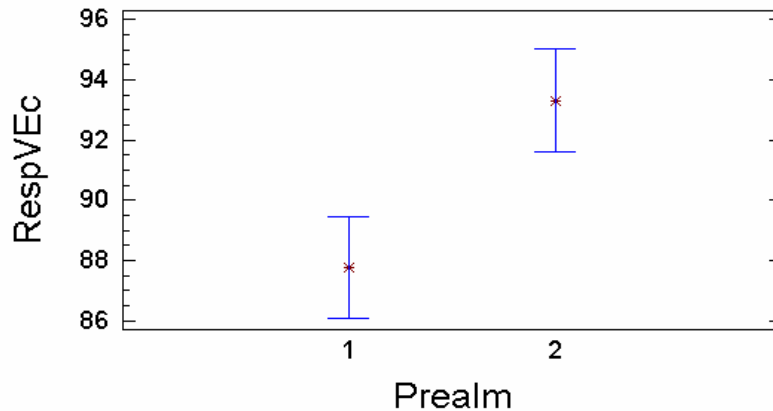
Tiempo (Días)		Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)					
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas		
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F
30	I	80	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	100	100	80	80
	II	100	80	80	100	100	100	100	80	100	100	100	100	100	100	80	100	100	100
60	I	100	100	100	100	80	100	100	100	80	80	100	100	80	80	100	100	80	100
	II	100	100	100	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	100	100	100	100
90	I	80	100	60	100	80	80	80	100	60	100	100	80	80	100	60	80	100	60
	II	100	100	80	100	60	60	60	100	80	100	100	100	80	100	80	100	100	100
120	I	60	80	80	80	80	80	80	60	80	100	100	80	60	80	60	80	80	80
	II	80	100	100	100	100	100	80	100	80	100	100	100	80	100	80	100	100	80

El ANOVA mostró que hay una interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y el tiempo (Tabla 21) (Figuras 42-44)

Tabla 21. ANOVA para el porcentaje de Viabilidad de *Enterolobium cyclocarpum*.

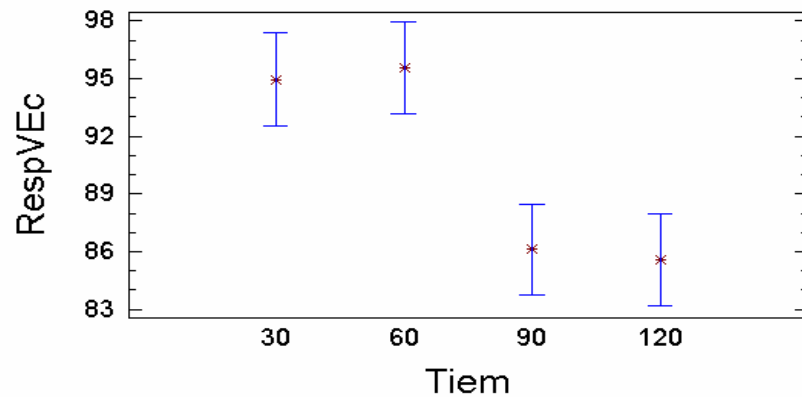
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	505.392	2	252.696	2.45	0.0927
Prealm	1097.15	1	1097.15	10.63	0.0016*
Rep	1581.56	1	1581.56	15.32	0.0002
Temp	427.991	2	213.995	2.07	0.1323
Tiem	3193.55	3	1064.52	10.31	0.0000*
Emp*Prealm	355.714	2	177.857	1.72	0.1849
Emp*Temp	168.888	4	42.2219	0.41	0.8017
Emp*Tiem	2782.14	6	463.69	4.49	0.0005*
Prealm*Temp	331.463	2	165.731	1.61	0.2070
Prealm*Tiem	555.588	3	185.196	1.79	0.1547
Temp*Tiem	291.308	6	48.5513	0.47	0.8285
Emp*Prealm*Temp	105.911	4	26.4779	0.26	0.9049
Emp*Prealm*Tiem	1303.98	6	217.329	2.11	0.0612
Prealm*Temp*Tiem	1194.15	6	199.026	1.93	0.0858
Emp*Prealm*Temp*Tiem	620.358	12	51.6965	0.50	0.9086
Residual	8568.61	83	103.236		
Total (corregido)	23155.6	143			

Figura 42. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Prealmacenamiento.



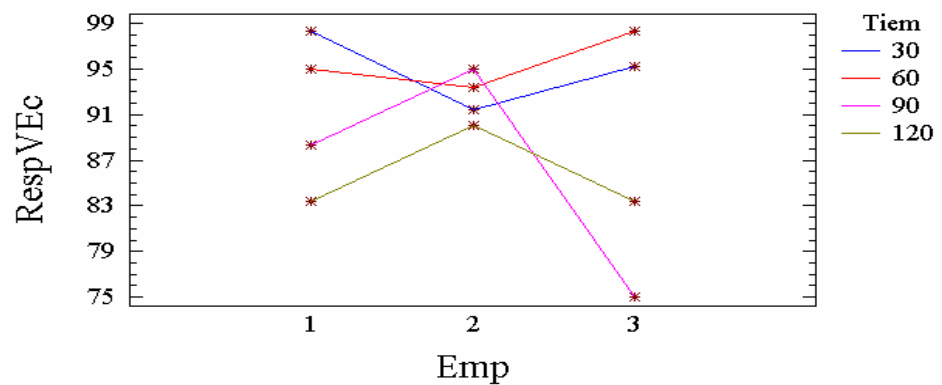
En la figura los valores en porcentaje de viabilidad fueron más bajos para el tratamiento prealmacenamiento 1 (ahumado) que los registrados para el tratamiento 2 (Sin ahumar).

Figura 43. Medias de los porcentajes de viabilidad para el factor Tiempo.



En la figura anterior se puede observar como los porcentajes de viabilidad son mayores en los periodos iniciales (30 y 60 días) y disminuyen para los 90 y 120 días respectivamente.

Figura 44. Interacción de primer orden entre dos factores: el empaque y el tiempo.



Semillas de *Enterolobium cyclocarpum* almacenadas en frascos plásticos y en un periodo de 90 días reducen considerablemente su porcentaje de viabilidad que semillas que se almacenan en empaques de vidrio e igualmente frascos pero en periodos de 30 y 60 días.

Tabla 22. DMS para la interacción de factores.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	13.42
Empaques	14.0

Tabla 23. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	95	↕
Tiempo 60 días	96.1	
Tiempo 90 días	86.1	
Tiempo 120 días	85.5	
5°, ahumado, vidrio	87.5	↕
5°, ahumado, bolsa	92.5	
5°, ahumado, frasco	87.5	
5°, sin ahumar, vidrio	95	↕
5°, sin ahumar, bolsa	87.5	
5°, sin ahumar, frasco	90	
-20°, ahumado, vidrio	87.5	↕
-20°, ahumado, bolsa	92.5	
-20°, ahumado, frasco	85	
-20°, sin ahumar, vidrio	97.5	↕
-20°, sin ahumar, bolsa	100	
-20°, sin ahumar, frasco	95	
22°, ahumado, vidrio	87.5	↕
22°, ahumado, bolsa	90	
22°, ahumado, frasco	82.5	
22°, sin ahumar, vidrio	95	↕
22°, sin ahumar, bolsa	92.5	
22°, sin ahumar, frasco	87.5	

Del análisis anterior, se deduce que:

Los métodos de almacenamiento ensayados no generan diferencias mínimas significativas en el porcentaje de viabilidad. Se puede determinar que almacenar semillas de *Enterolobium cyclocarpum* en congelador a -20° C, sin ahumar y empacadas en vidrio y bolsas generan los mejores porcentajes de viabilidad.

7.2.2.3 Evaluación del contenido de Humedad

En esta prueba se obtuvieron valores entre 5% y 8.92% de contenido de humedad (Tabla 24).

Tabla 24. Porcentajes de Humedad obtenidos para las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

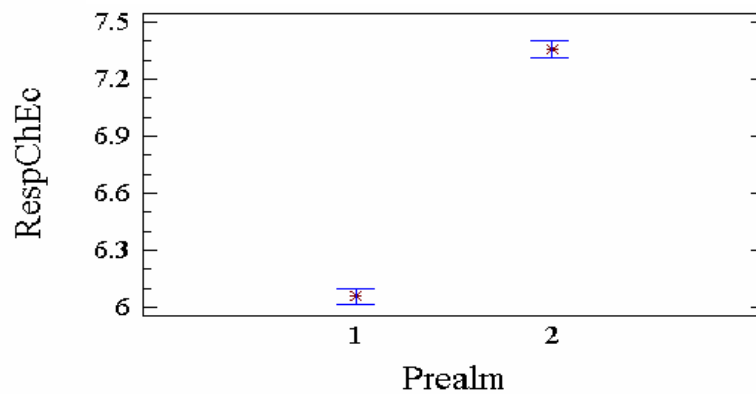
Tiempo (Días)	Rep.	Nevera 5 °C						Congelador a - 20 °C						Grupo Control - Temperatura Ambiente (22 °C)					
		Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas			Ahumadas			No Ahumadas		
		V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F	V	B	F
30	I	5,92	5,96	5,83	7	7	7	5,95	6	5,9	7	7	7	5,96	5,9	5,83	7	7	7
	II	5,95	5,92	5,85	7	7	7	5,9	5,97	5,83	7	7	7	5,9	5,94	5,86	7	7	7
60	I	5,94	5,92	5,9	7,21	7,11	7,1	6	5,96	5,85	7,21	7,3	7,1	6	6,4	6,3	7,36	7,5	7,34
	II	5,97	5,9	5,88	7,18	7,14	7,08	6	5,93	5,9	7,24	7,25	7,05	5,94	6,2	5,97	7,41	7,45	7,4
90	I	5,96	6,01	5,9	7,16	7,19	7,1	6,1	6	6,12	7,26	7,23	7,15	6,1	6,4	6,94	7,8	7,56	7,42
	II	6	6,1	5,94	7,13	7,17	7,03	6,05	6,03	6,09	7,21	7,2	7,1	6,2	6,3	6,9	7,78	7,6	7,46
120	I	5	5	6	8,92	8,77	8,92	6	6,5	5,76	6,8	7,32	7,8	6	6,72	6,9	8,21	7,9	7,6
	II	5,88	6,53	6,77	8,77	8,92	7	6,2	5,92	5	7,0	7,11	7,54	7	6,5	6,96	8	7,1	8

El ANOVA mostró que hay interacciones significativas entre los cuatro factores: empaques, prealmacenamiento, temperatura y tiempo (Tabla 25) (Figura 45-50).

Tabla 25. ANOVA para el porcentaje de Contenido de Humedad de *Enterolobium cyclocarpum*.

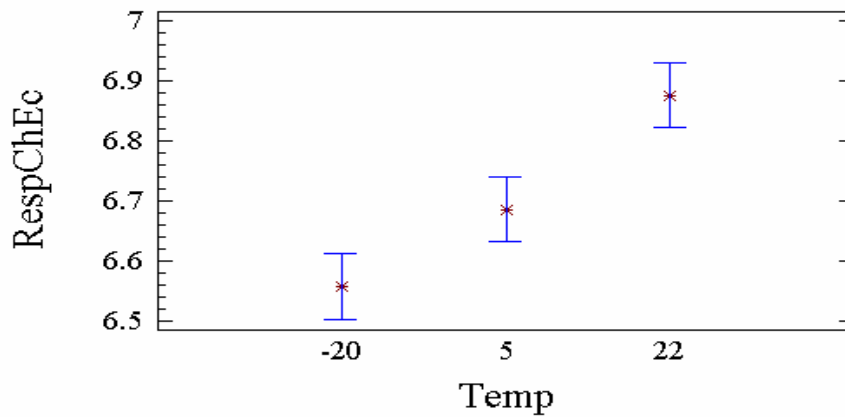
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	0.0275038	2	0.0137519	0.20	0.8210
Prealm	60.2917	1	60.2917	866.58	0.0000*
Rep	0.00496615	1	0.00496615	0.07	0.7900
Temp	2.43446	2	1.21723	17.50	0.0000*
Tiem	5.85718	3	1.95239	28.06	0.0000*
Emp*Prealm	0.239515	2	0.119758	1.72	0.1852
Emp*Temp	0.179346	4	0.0448364	0.64	0.6323
Emp*Tiem	0.0728566	6	0.0121428	0.17	0.9830
Prealm*Temp	1.0295	2	0.514749	7.40	0.0011*
Prealm*Tiem	2.29495	3	0.764984	11.00	0.0000*
Temp*Tiem	2.89051	6	0.481751	6.92	0.0000*
Emp*Prealm*Temp	0.918374	4	0.229593	3.30	0.0146*
Emp*Prealm*Tiem	0.268663	6	0.0447772	0.64	0.6950
Prealm*Temp*Tiem	3.23062	6	0.538437	7.74	0.0000*
Emp*Prealm*Temp*Tiem	2.76879	12	0.230733	3.32	0.0006*
Residual	5.77465	83	0.0695741	-	-
Total (corregido)	88.9034	143	-	-	-

Figura 45. Medias de los porcentajes de Contenido de Humedad para el factor Prealmacenamiento.



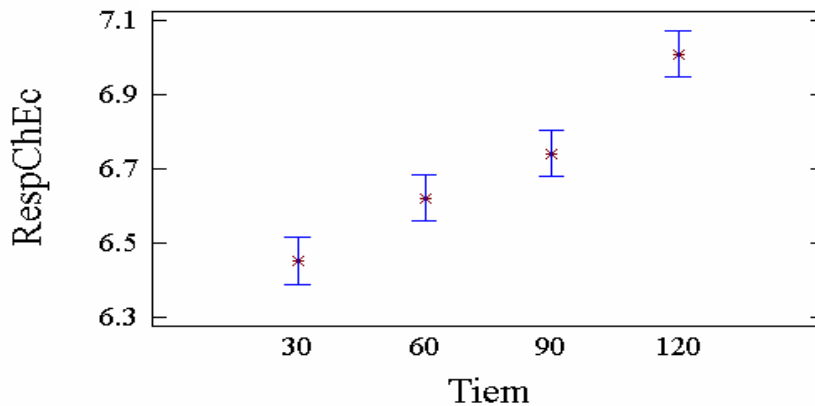
En la figura, los porcentajes de humedad de las semillas son menores bajo el tratamiento prealmacenamiento 1 (Ahumado) mientras que para el tratamiento 2 (Sin Ahumar) son los más altos.

Figura 46. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Temperatura.



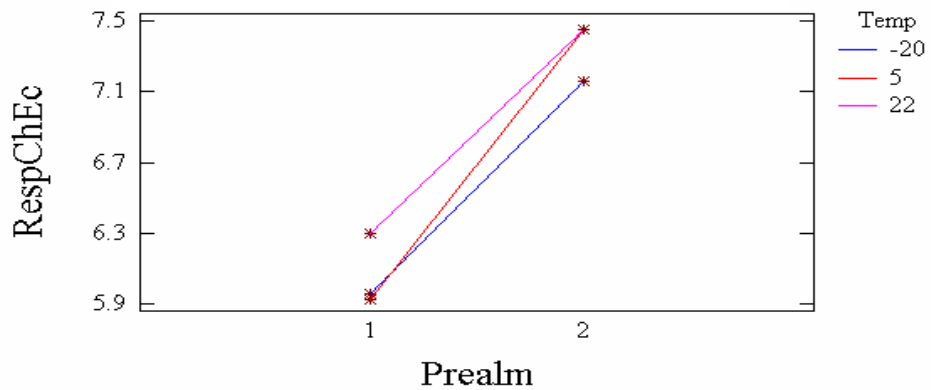
Los porcentajes de humedad de las semillas fueron menores bajo el almacenamiento a -20°C , mientras que para las otras dos temperaturas 5°C y ambiente (22°C) fueron más altos, siendo para esta última los mayores registros.

Figura 47. Medias de los porcentajes de humedad para el factor Tiempo.



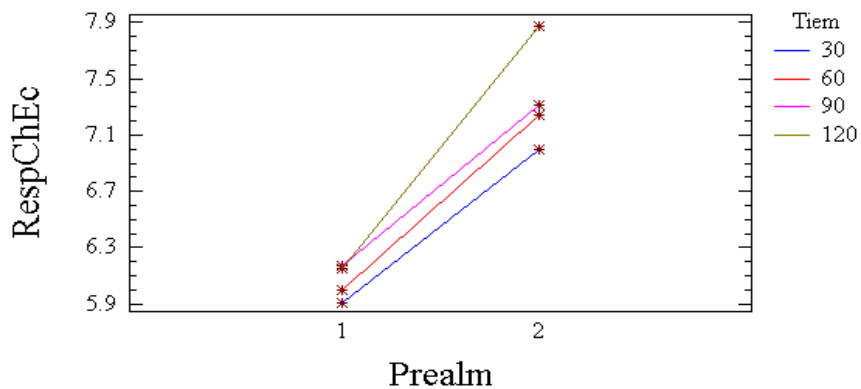
En la figura anterior se puede observar que el contenido de humedad es más bajo a los 30 días de almacenamiento y va aumentando conforme va pasando el tiempo, registrando así los mayores porcentajes a los 120 días.

Figura 48. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y la temperatura.



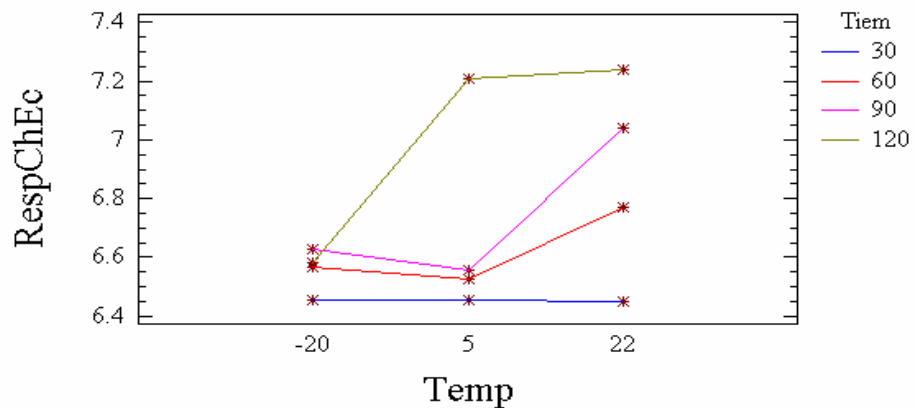
De la figura anterior se puede deducir que el contenido de humedad de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum* es menor bajo el tratamiento de ahumado y a temperaturas de -20°C y 5°C, mientras que es mayor bajo el tratamiento prealmacenamiento sin ahumar a temperaturas de 22°C y 5 °C respectivamente.

Figura 49. Interacción de primer orden entre dos factores: el prealmacenamiento y el tiempo.



Los valores de porcentaje de contenido de humedad observados en la figura anterior son más bajos para el tratamiento de Ahumado a un periodo de 30 días que los valores registrados para el tratamiento sin ahumar a los 120 días donde son más altos.

Figura 50. Interacción de primer orden entre dos factores: la temperatura y el tiempo.



En la figura, los porcentajes de Contenido de Humedad son menores para el periodo de 30 días en las tres temperaturas (-20, 5 y 22°C). Los mayores valores son para el periodo de 120 días a una temperatura de 5 y 22°C.

Tabla 26. DMS para la interacción de factores.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	0.33
Temperatura	0.34
Prealmacenamiento	0.36
Empaques	0.34

Tabla 27. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	6.45	↕
Tiempo 60 días	6.61	
Tiempo 90 días	6.73	
Tiempo 120 días	7.01	
5°, ahumado, vidrio	5.82	↕
5°, ahumado, bolsa	5.91	
5°, ahumado, frasco	6.00	
5°, sin ahumar, vidrio	7.54	↕
5°, sin ahumar, bolsa	7.53	
5°, sin ahumar, frasco	7.27	
-20°, ahumado, vidrio	6.02	↕
-20°, ahumado, bolsa	6.03	
-20°, ahumado, frasco	5.80	
-20°, sin ahumar, vidrio	7.08	↕
-20°, sin ahumar, bolsa	7.17	
-20°, sin ahumar, frasco	7.21	
22°, ahumado, vidrio	6.18	↕
22°, ahumado, bolsa	6.29	
22°, ahumado, frasco	6.45	
22°, sin ahumar, vidrio	7.56	↕
22°, sin ahumar, bolsa	7.38	
22°, sin ahumar, frasco	7.40	

Del análisis anterior, se deduce que:

Los métodos de almacenamiento ensayados no generan diferencias mínimas significativas en el porcentaje de humedad. Se puede concluir que almacenar semillas de *Enterolobium cyclocarpum* en nevera a 5°C, ahumarlas y empacadas en vidrio y bolsas generan los porcentajes de humedad mas bajos.

7.3 Velocidad de germinación

Para saber si los tratamientos tuvieron algún efecto sobre la velocidad de germinación de las especies estudiadas se tuvo en cuenta el número de semillas que germinaban por día (Anexo 6-7).

7.3.1 *Hymenaea courbaril*

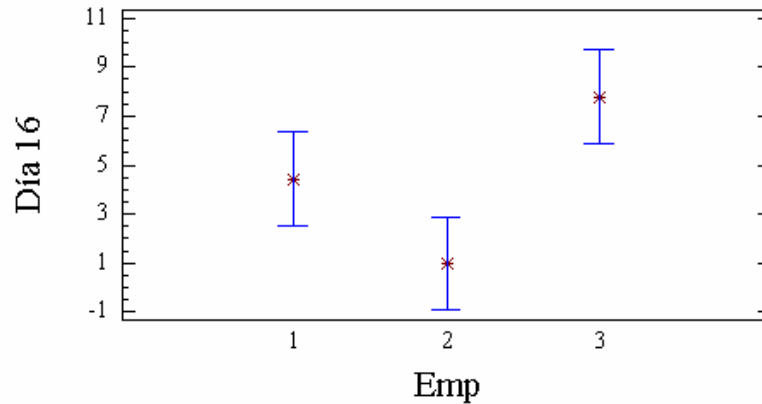
El Análisis de Varianza se realizó para los días 16, 21, 26 y 30.

El ANOVA para el día 16 mostró que no hay interacciones significativas entre factores, pero si diferencia significativa para cada uno de ellos (Tabla 28) (Figura 51-54).

Tabla 28. ANOVA para el Número de Semillas germinadas en el Día 16 para *Hymenaea courbaril*.

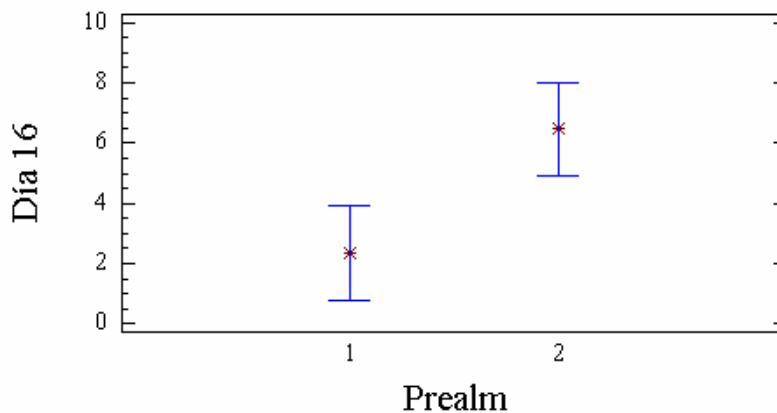
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
Emp	1113.93	2	556.965	6.28	0.0029*
Prealm	608.444	1	608.444	6.86	0.0105*
Rep	23.3611	1	23.3611	0.26	0.6090
Temp	1117.76	2	558.882	6.31	0.0028*
Tiem	884.917	3	294.972	3.33	0.0235*
Emp*Prealm	513.931	2	256.965	2.90	0.0607
Emp*Temp	735.694	4	183.924	2.08	0.0914
Emp*Tiem	699.792	6	116.632	1.32	0.2593
Prealm*Temp	297.681	2	148.84	1.68	0.1928
Prealm*Tiem	574.722	3	191.574	2.16	0.0987
Temp*Tiem	744.958	6	124.16	1.40	0.2241
Emp*Prealm*Temp	184.944	4	46.2361	0.52	0.7201
Emp*Prealm*Tiem	596.236	6	99.3727	1.12	0.3572
Prealm*Temp*Tiem	1824.82	6	304.137	3.43	0.0045*
Emp*Prealm*Temp*Tiem	2548.72	12	212.394	2.40	0.0103*
Residual	7356.72	83	88.6352	-	-
Total (corregido)	19826.6	143	-	-	-

Figura 51. Medias del número de semillas de *Hymenaea courbaril* germinadas en el día 16 para el factor Empaque.



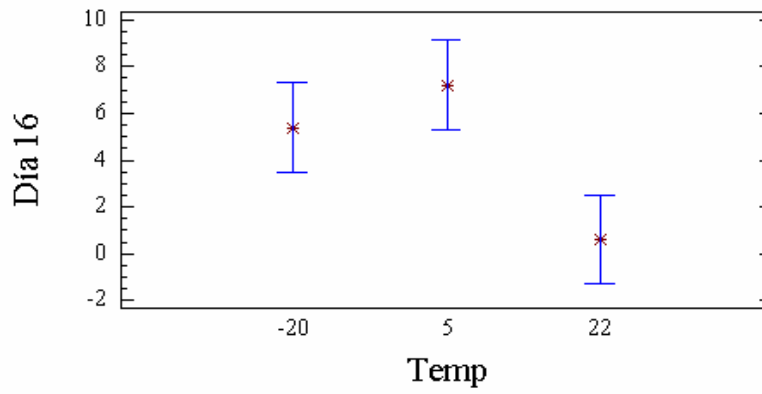
En la figura anterior, se puede observar que el mayor número de semillas que germinaron en el día 16 fue para aquellas que se empacaron en frascos plásticos. Los valores más bajos fueron para el empaque 2 (Bolsa).

Figura 52. Medias del número de semillas de *Hymenaea courbaril* germinadas en el día 16 para el factor Prealmacenamiento.



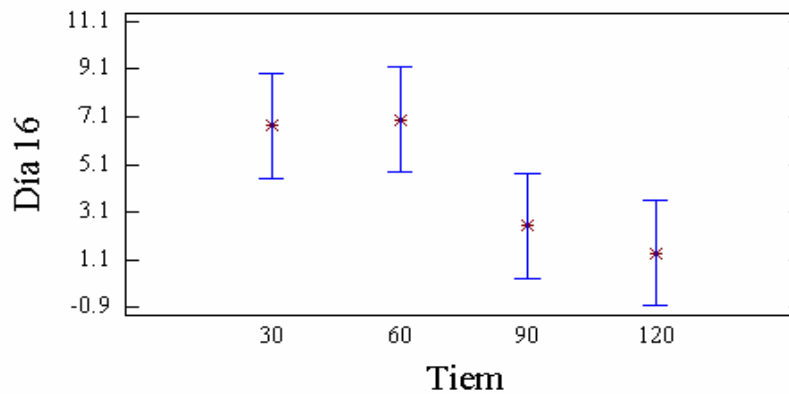
Se puede decir que las semillas bajo el tratamiento de prealmacenamiento 1 (Ahumado) germinan en menor número que las semillas que no han sido tratadas.

Figura 53. Medias del número de semillas de *Hymenaea courbaril* germinadas en el día 16 para el factor Temperatura.



Las semillas germinan en mayor número si se almacenan a temperaturas de 5 y -20°C, contrario a lo que pasa con una temperatura ambiente (22°C) donde el número es más bajo.

Figura 54. Medias del número de semillas de *Hymenaea courbaril* germinadas en el día 16 para el factor Tiempo.



El número de semillas germinadas es mayor en los dos primeros periodos de almacenamiento (30 y 60 días) mientras que para los dos periodos siguientes el número es menor.

Tabla 29. DMS para interacción de factores.

Factor	DMS
Tiempo almacenamiento	12.41
Temperatura	13.0
Prealmacenamiento	13.3
Empaques	13.0

Tabla 30. Medias Generales para cada uno de los tratamientos y la Prueba obtenida de Tukey.

Factores/Tratamientos	Media General	Prueba de Tukey
Tiempo 30 días	6.72	↑ ↓
Tiempo 60 días	6.97	
Tiempo 90 días	2.52	
Tiempo 120 días	1.38	
5°, ahumado, vidrio	1.75	↑ ↓
5°, ahumado, bolsa	0	
5°, ahumado, frasco	8.5	
5°, sin ahumar, vidrio	13.3	↑ ↓ ↕
5°, sin ahumar, bolsa	0	
5°, sin ahumar, frasco	19.6	
-20°, ahumado, vidrio	0.75	↑ ↓
-20°, ahumado, bolsa	3.75	
-20°, ahumado, frasco	5.37	
-20°, sin ahumar, vidrio	10.75	↑ ↓
-20°, sin ahumar, bolsa	1.12	
-20°, sin ahumar, frasco	10.62	
22°, ahumado, vidrio	0	↑ ↓
22°, ahumado, bolsa	1	
22°, ahumado, frasco	0	
22°, sin ahumar, vidrio	0	↑ ↓
22°, sin ahumar, bolsa	0	
22°, sin ahumar, frasco	2.62	

Del análisis anterior, se deduce que:

Las semillas almacenadas a una temperatura de 5°C, sin ahumar y empaçadas en vidrio, bolsas y frascos plásticos germinan en mayor número que las almacenadas bajo los otros tratamientos en el día 16.

Para el **Día 21** se realizó un análisis similar al anterior y los resultados fueron:

El Análisis de Varianza mostró tres interacciones de primer orden entre factores: Empaque - Temperatura, prealmacenamiento - temperatura y prealmacenamiento - tiempo.

Según la prueba de Tukey, las semillas almacenadas de *Hymenaea courbaril* a 5°C, sin ahumar y empacadas en vidrio germinan en mayor número al día 21 de la prueba de germinación. Para los demás tratamientos el número es menor.

Día 26.

Se encontraron en el ANOVA, cuatro interacciones de primer orden entre factores: Empaque – prealmacenamiento, Empaque – Temperatura, Prealmacenamiento – Tiempo y Temperatura – Tiempo.

Según la prueba de Tukey, el número de semillas germinadas a los 26 días de las pruebas es menor si se almacenan a 22°C (Temperatura Ambiente), se ahuman y se empacan en vidrio. Los mayores valores de semillas germinadas son para las que se almacenan a 5°C, sin ahumar y empacadas en vidrio.

Día 30.

El ANOVA mostró dos interacciones de primer orden entre factores: Empaque – Temperatura y Prealmacenamiento – Tiempo.

De la prueba de Tukey se deduce que los métodos de almacenamiento ensayados no generan diferencias mínimas significativas en el número de semillas germinadas a los 30 días de las pruebas. Se puede concluir que germinan en mayor número a temperaturas de 5 y -20°C, sin ahumar y empacadas en frascos plásticos.

7.3.2 Enterolobium cyclocarpum

Para esta especie se realizó el mismo análisis empleado con *Hymenaea courbaril*. El Análisis de Varianza se llevó a cabo para los días 6, 11, 16 y 20.

Los resultados obtenidos para estos días fueron:

Día 6.

En el ANOVA se encontró dos interacciones de primer orden entre factores: Prealmacenamiento – Tiempo y Temperatura - Tiempo.

Del análisis de Tukey se deduce que los métodos de almacenamiento ensayados no generan diferencias mínimas significativas en el número de semillas germinadas a los 6 días de la prueba. Se puede concluir que a -20°C, ahumadas y en los tres empaques las semillas no han germinado para esta fecha, mientras que para los demás tratamientos el número de semillas germinado es mayor especialmente para aquellos ubicados a una temperatura de 5°C.

Día 11.

Se encontraron en el ANOVA, interacciones entre los cuatro factores: Empaques, prealmacenamiento, temperatura y tiempo.

Del análisis de Tukey se deduce que Ahumar semillas, almacenarlas a 22°C y empacarlas en frascos plásticos es el tratamiento que genera un bajo número de semillas germinadas mientras que en el tratamiento a 5°C, sin ahumar y en vidrio las semillas germinan en mayor cantidad. En general el tratamiento de ahumado es el que genera los más bajos valores de semillas germinadas para el día 11 en las pruebas de germinación.

Día 16.

Se deduce que hay interacciones entre los cuatro factores: Empaques, prealmacenamiento, temperatura y tiempo.

Según la prueba de Tukey, el número de semillas germinadas para el día 16 es menor si se almacena a una temperatura de 22°C, se ahuma y se empaca en frascos plásticos. En los demás tratamientos el número es mayor, pero se puede observar claramente que bajo el ahumado siguen siendo menores estos valores.

Día 20.

Se encontraron interacciones entre los cuatro factores: Empaques, prealmacenamiento, temperatura y tiempo.

Según el análisis de Tukey, bajo el tratamiento de 22°C (Temperatura ambiente), ahumado y en empaques de vidrio, bolsas y frascos plásticos, el número de semillas que germina para el día 20 en las pruebas de germinación es muy bajo con respecto a los demás tratamientos.

7.4 Cartilla

La cartilla diseñada quedó conformada por tres temas principales:

- Generalidades de las semillas
- Recolección de frutos y semillas
- Almacenamiento de semillas

Cada uno de estos puntos está desarrollado a su vez por subtemas básicos que ayudan a tener un conocimiento general al respecto. Se desarrolla en 19 páginas a color, y además posee figuras que ayudan a ilustrar cada uno de los temas (Anexo 5).

8. DISCUSIÓN

8.1 Tratamientos adecuados para el almacenamiento de semillas

Para Niembro (1990) y Cordero & Oliveros (1983), 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.

El propósito fundamental consiste en asegurar la disponibilidad de semillas viables en el momento que sean demandadas (Bonner *et al.*, 1994), esto concuerda con lo expuesto por Willan (1991) quien reporta que el objetivo principal del almacenamiento de semillas es mantener una cantidad de semillas viables desde que son recolectadas hasta el momento en que serán requeridas para la siembra; para Jacobsen & Mujica (1998), el objetivo es asegurar que las semillas mantengan su germinación y vigor. Según Besnier (1989), el almacenamiento ha de hacerse en condiciones tales que la capacidad germinativa de las semillas se conserve en un buen nivel durante el mayor tiempo posible. Por tanto, el almacenamiento puede definirse como la conservación de la semilla “viva” desde la época de recolección hasta cuando se requiere para su siembra y sus principales objetivos están dirigidos a conservar las semillas en las condiciones que mejor protejan su capacidad germinativa, entre el periodo de recolección y la fecha de siembra; proteger la semilla contra la destrucción de roedores, aves, insectos o ataques de agentes patógenos y así mismo, la conservación durante la época de alta producción de frutos y semillas con miras a tener reservas para períodos de producción reducida o nula.

Existen tres factores principales que influyen de manera decidida en la germinación de la semilla; la humedad, la temperatura y los gases (oxígeno); en menor proporción la luz y en ellos se basa la práctica del almacenamiento. Su control o regulación, permitieron en este trabajo la conservación efectiva de las semillas sin que se activara el mecanismo de la germinación.

8.1.1 Temperatura

Según Mayer & Poljakoff-Mayber (1989), 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 respecto a las temperaturas -20° y 22°C (temperatura ambiente) se obtuvo porcentajes dentro de los rangos establecidos como óptimos (80-100%); sin embargo, con ayuda del análisis de varianza y de la prueba de Tukey se encontró que la temperatura más adecuada para mantener la capacidad germinativa y viabilidad de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* es a 5°C .

Lo anterior concuerda con lo planteado por Trujillo (2002), quien para las mismas especies reporta un almacenamiento efectivo a esta misma temperatura e indica que el nivel ideal se encuentra en el rango de 0° - 5°C , ya que las bajas temperaturas prolongan la vida de las semillas debido a que se reduce la actividad fisiológica al mínimo sin producir la muerte y haciendo que el almacenamiento sea efectivo y que se inhiba el desarrollo de insectos, hongos, bacterias u otros agentes que las dañen. Esta afirmación no es de carácter general ya que otras investigaciones han determinado que la temperatura ideal para almacenar algunas especies tropicales como *Tabebuia sp*, *Cordia sp* entre otras similares es de $17^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$; 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.

Estudios como los de Cabello & Wiberg (1999), Jacobsen & Mujica (1998), Sandoval (2000), Francis (1988), Quirós & Arce (1998), Correa (1997), Salazar & González (1998) y Besnier (1989) coinciden en afirmar que las semillas en general mantienen mejor su viabilidad cuando se conservan a temperaturas cercanas a 5°C.

Otros autores según Vázquez-Yanez *et al.* (1997), plantean que las temperaturas de almacenamiento más adecuadas para almacenar semillas se encuentran, en general, entre 0 y 10°C. Sólo si el contenido de humedad es muy reducido, la temperatura puede bajar de cero grados; si no, no es posible ya que el agua libre contenida en la semilla se puede congelar rompiendo los tejidos.

Recientes estudios sobre almacenamiento de semillas han indicado el potencial de almacenamiento y viabilidad para muchas semillas de especies cultivadas por varios años con contenidos de humedad de alrededor de 5% bajo una temperatura de almacenamiento de 5°C. Este almacenamiento es considerado aceptable para conservación de germoplasma (Vázquez-Yanez *et al.*, 1997).

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).

Barton (1961), Delouche (1968) y Owen (1983) plantean que la temperatura de almacenamiento y la humedad son los factores más importantes que afectan el mantenimiento de la calidad de la semilla. La viabilidad y el vigor de la semilla se reducen cuando la temperatura y el contenido de humedad se incrementan.

En general, las semillas se conservan mejor a temperaturas relativamente bajas que a temperaturas altas. Existe una interacción entre esta 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.

8.1.2 Empaques

Para el almacenamiento de semillas ortodoxas como las de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*, se recomiendan materiales herméticos; entre estos se encuentran latas o tambores de estaño o aluminio, cubetas de plástico, frascos de vidrio y bolsas de polietileno; aunque estas últimas no son completamente impermeables, por lo que se sugiere combinarlas con otros, por ejemplo bolsas con tarros.

Los tres empaques ensayados (vidrio, bolsa y frasco plástico) conservaron en gran porcentaje (80-100%) la capacidad germinativa de las semillas. Estos corresponden a recipientes herméticamente cerrados (Besnier, 1989). Al ser herméticos no se permite el intercambio de oxígeno, ni la entrada de la humedad y la luz se restringe por ser materiales opacos; de esta manera se pudo conservar al máximo la calidad de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.

Quirós & Arce (1998), recomiendan utilizar bolsas plásticas de polietileno selladas con extracción parcial de aire ya que la actividad fisiológica de la semilla se reduce considerablemente al extraer parcialmente el oxígeno de la bolsas y además son un tipo especial de almacenamiento hermético y poseen cierto grado de permeabilidad.

Los recipientes utilizados para almacenar semillas pueden ser de diversos tipos (Willan, 1991). Materiales completamente permeables, bolsas de algodón o de papel pueden ser utilizados sólo si se trata de cortos períodos, ya que las semillas son susceptibles a ataques de insectos y al intercambio de vapor de agua y otros gases. Si es el caso de almacenar semillas por largos periodos de tiempo los tres empaques utilizados en este estudio pueden conservar en gran medida la calidad de las semillas.

8.1.3 Tratamientos prealmacenamiento

El tratamiento prealmacenamiento sin ahumar fue el que mejor resultado generó para las variables germinación y viabilidad (85-100%). Aunque bajo este tratamiento el contenido de humedad fue mayor comparado con el obtenido en el tratamiento de ahumado, el rango se mantuvo en los valores apropiados (8.5-10%). Bajo el tratamiento de ahumado se obtienen valores más bajos para las tres variables, pero igualmente estos porcentajes se ubican en rangos óptimos (80-90% para germinación y viabilidad; 7-9% de contenido de humedad).

La velocidad de germinación se tarda, bajo el tratamiento de ahumado, alrededor de ocho días más que aquellas sin ahumar, al estar expuestas por más tiempo al ambiente se favorece la proliferación de organismos patógenos, a pesar de haberse desinfectado con Vitavax 300, lo que permite en algunos casos la disminución del porcentaje de germinación y por consiguiente el vigor.

Se puede deducir que posiblemente el ahumado crea una capa impermeable sobre la testa de la semilla que impide de alguna manera el paso de los factores necesarios para propiciar la germinación y que induzca o se asocie con una latencia exógena o física como lo expresan Hartmann & Kester (1988)

y Willan (1991). A esta latencia física se le llama también forzada y corresponde a una condición morfológica, que impide la germinación de las semillas; normalmente se relaciona con la conformación de la cubierta, manifestándose en ocasiones tan dura, que no permite el desarrollo del embrión o bien que tiene una condición restrictiva impermeable al paso de la humedad y los gases, indispensables para el inicio de la germinación (Trujillo 1991). Esto es característico de un gran número de especies de plantas, en las cuales la testa o secciones endurecidas de otras cubiertas de la semilla son impermeables.

Se desconoce la práctica del ahumado como tratamiento de prealmacenamiento para conservar semillas; no obstante, esta técnica ha sido frecuentemente empleada para la conservación de cárnicos. Es una de las técnicas de conservación de los alimentos más antigua, la cual descubre el hombre cuando se vuelve sedentario y domina el fuego, observando que los alimentos expuestos al humo de sus hogares, no solo duraban más tiempo sin descomponerse, sino que además mejoraban su sabor (Bertullo, 1996).

El ahumado se realiza al quitar agua a los organismos por la acción del humo y de la corriente de aire seco por él provocada. Con la técnica de ahumado se logran dos objetivos: la deshidratación para la conservación y la adición de determinadas sustancias que se desprenden de las maderas de tipo oloroso y les dan un sabor especial a los productos así conservados (Bertullo, 1996). El ahumado favorece la conservación de los alimentos por impregnación de sustancias químicas conservadoras presentes en el humo de las maderas, es este caso se usó el capacho de coco, que es el más frecuentemente utilizado, por lo que sería interesante realizar ensayos con otro tipo de maderas para analizar el comportamiento fisiológico bajo este tratamiento.

Para efectos de reducir el contenido de humedad el ahumado es un método apropiado, posiblemente pueda ser utilizado como un mecanismo de secado, sin embargo, este tratamiento no es el óptimo para efectos de obtener porcentajes de germinación y viabilidad altos.

8.2 Evaluación de calidad de las semillas

Los análisis y ensayos de semillas, en términos generales, permiten obtener información básica para conocer la calidad de un lote de semillas; estos son útiles además, para evaluar futuros métodos de recolección, control de enfermedades y plagas, manejo adecuado para almacenamiento, tratamientos pregerminativos y siembra. De este modo son considerados una muy buena herramienta, que permite optimizar los procesos de manipulación de semillas y disminuir las pérdidas en la producción de plantas. Con los análisis y ensayos realizados en este trabajo se pudo determinar el comportamiento de las semillas de ambas especies bajo factores que pudieran influir en la capacidad germinativa, en la viabilidad y en el contenido de humedad, variables que se analizaron periódicamente para determinar su comportamiento durante el almacenamiento.

8.2.1 Germinación y viabilidad

El objetivo de todo análisis de germinación y viabilidad en laboratorios consiste en estimar el número máximo de semillas que germinan en condiciones óptimas y que son viables; así se obtiene información acerca del valor de la semilla desde el punto de vista de su siembra en el terreno y también permite comparar el valor germinativo de los diferentes lotes de semillas (Correa, 1997). En este análisis se controlan algunas o todas las condiciones externas, tratando de obtener una germinación regular y completa. El porcentaje de germinación o capacidad germinativa indica la proporción de semillas puras

que son capaces de germinar en un tiempo determinado. Este elemento es el que realmente demuestra la calidad de la semilla. (Sandoval, 2000).

Las pruebas de germinación realizadas para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* registraron en general altos porcentajes (80-100%), independientemente de los tratamientos aplicados (temperaturas, empaques y tratamientos prealmacenamiento). Trujillo (1991) reporta para *E. cyclocarpum* porcentajes de germinación de 56-100% y para *H. courbaril* de 51-58%, mientras que Francis (1988), reporta porcentajes en un rango de 50-85% para *E. cyclocarpum* y 30-93% para *H. courbaril*. Ambos autores realizaron procesos de germinación en condiciones normales de humedad, luz y temperatura, además utilizaron un substrato de tierra y arena y las semillas no fueron escarificadas, para estos dos trabajos los porcentajes de germinación se encontraron en un rango mas amplio comparado con el rango de germinación de este estudio que fue del 80-100%, estos resultados fueron óptimos manejando procesos de germinación en cajas de petri con substrato de papel absorbente y realizando procesos de escarificación. Cabe aclarar que inicialmente se realizaron algunos ensayos de germinación sin el proceso de escarificación, obteniendo porcentajes igualmente altos pero este proceso era muy lento (germinación se obtenía en ocho días después), para agilizar la germinación, se aplicó la escarificación mecánica. Es posible que en condiciones normales la testa por ser muy dura, resistente e impermeable retarde los procesos de germinación mientras que con escarificación se permite el paso de la humedad con mayor facilidad permitiendo en menor tiempo porcentajes altos.

El substrato también presenta influencia en las pruebas de germinación, ya que factores como aireación, estructura, capacidad de retención de agua, grado de infestación de patógenos, entre otros, pueden variar de acuerdo con el tipo de material utilizado (Popinigis, 1985). En este caso el papel absorbente empleado fue óptimo para el adecuado desarrollo de las pruebas de germinación de las

semillas de ambas especies ya que los factores anteriormente mencionados fueron adecuados en este tipo de material y por lo tanto las semillas encontraron el medio propicio para germinar lo que se evidenció en los porcentajes de germinación que fueron altos en la mayoría de los casos. El substrato debe mantener una proporción adecuada entre la disponibilidad de agua y aireación, no debiendo ser humedecido en exceso para evitar que la película de agua envuelva completamente la semilla, restringiendo la entrada y absorción de oxígeno (Villagomez *et al.*, 1979).

Por otro lado, los análisis de viabilidad empleando la técnica de tinción con Tetrazolio arrojaron igualmente porcentajes muy altos lo que ayudó a suministrar una estimación del grado de viabilidad de la semilla y del poder germinativo y por lo tanto, a complementar los porcentajes obtenidos de germinación. Al ser una técnica relativamente fácil de realizar, si es conveniente adquirir mayor experiencia en la estimación de la coloración de los tejidos para poder asegurar la viabilidad de las semillas.

8.2.2 Contenido de humedad

Para Trujillo (1991), la medida de la cantidad de agua libre o contenido de humedad de la semilla, es importante ya que su exceso puede influir en la pérdida de viabilidad de la misma, al ser utilizada por ésta para estimular el proceso de germinación sin existir las condiciones adecuadas, por lo que la determinación de este factor al término del procesamiento es esencial para determinar si es necesario acondicionarla en el momento previo al almacenamiento, como lo exponen Cabello & Wiberg (1999); y además es un aspecto importante, puesto que indica el estado de conservación de la semilla (Sandoval, 2000).

Según el contenido de humedad inicial obtenido para las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*, estas semillas son

ortodoxas. Según Roberts (1973) las semillas ubicadas en esta categoría pueden almacenarse fácilmente por varios años a baja temperatura (entre 5°C y 8°C o menos, a varios grados bajo cero o incluso en nitrógeno líquido) y con un contenido de humedad residual de 5 a 10% sin que muestren una disminución significativa de su viabilidad. Sandoval (2000) reporta que este tipo de semillas pueden conservar su viabilidad por muchos años, por lo que no tienen problemas en el almacenamiento. La condición de ortodoxas permitió entonces establecer que las pruebas de almacenamiento en este trabajo se iban a facilitar por los antecedentes registrados.

El contenido promedio de agua de *Hymenaea courbaril* luego del procesamiento, alcanzó aproximadamente el 10% y el de *Enterolobium cyclocarpum* el 7.5%, lo cual concuerda con la afirmación de Trujillo (1991), 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 no existe una alta sensibilidad a bajos contenidos de humedad y que pueden tolerar satisfactoriamente la desecación sin perder la viabilidad, lo que pone en evidencia una vez más, características atribuidas a semillas ortodoxas.

Las semillas ortodoxas, como las de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* según lo expone Trujillo (2002), se desprenden de las plantas con un bajo contenido de humedad que puede disminuirse aún más con secado artificial hasta valores cercanos al 5% o menores, sin pérdida de la viabilidad. Su longevidad se incrementa al disminuir el contenido de agua y la temperatura a la que se conservan pudiendo establecerse una relación cuantitativa entre longevidad y ambos factores cuando estos se mantienen constantes (Maroder *et al.*, 2004), esto concuerda con las reglas descritas por Harrington (1972) quien menciona que por cada disminución del 1% en el contenido de humedad

y de 5°C en la temperatura, la vida de la semilla se duplica. Estas reglas se aplican cuando el contenido de humedad de la semilla está entre 5 y 14% y dentro del rango de 0 a 50°C de temperatura. Es posible admitir un aumento en el contenido de humedad, pero sólo si va acompañado de una reducción en la temperatura.

El contenido de humedad de la semilla determinará entonces la duración del almacenamiento, la mayoría de las semillas de vida media y larga son tolerantes a la desecación (ortodoxas) y deben secarse hasta un 4 a 6 % para almacenarse por períodos prolongados (Hartmann & Kester, 1988). Por otro lado Bonner *et al.* (1994), reportan que un contenido de humedad entre 6 y 10% es un rango aceptable o ideal para muchas de las especies ortodoxas, ya que entre 10 y 18% se favorece el crecimiento de hongos e insectos, entre el 18 y 30% hay un aumento en el gradiente de respiración, descomposición de glucosa y proteína por incremento de la fermentación y actividad bacteriana y a más de 45-60% se inicia la germinación. Según Besnier (1989), desde 1974, para conservar los recursos genéticos a largo plazo, se recomienda almacenar semillas con un contenido de humedad del $6\% \pm 1\%$. Estos rangos son muy similares a los obtenidos en este estudio, lo que puede indicar que si se reduce un poco más el contenido de humedad de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* se puede lograr un almacenamiento satisfactorio a largo plazo.

Una forma que se usa en muchos países para conservar latentes por mucho tiempo semillas ortodoxas consiste en colocarlas en alguna condición que sea desfavorable para la reactivación metabólica del embrión y la germinación, pero adecuada para mantenerlo vivo y sin daño. Esto puede lograrse, según Rodríguez & Vazquez-Yanez (1992), bajando el contenido de humedad a niveles menores que los que las semillas tienen cuando son diseminadas, deshidratándolas cuidadosamente en atmósferas secas hasta lograr que

prácticamente no quede agua libre en la semilla, sino sólo aquella que está más o menos integrada a su estructura molecular.

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.

Finalmente, al determinar que el tratamiento y el método de almacenamiento más adecuado para conservar las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* es a una temperatura de 5°C, en empaques herméticos (vidrio, bolsas y frascos plásticos) y sin ningún tratamiento de prealmacenamiento, se adquiere gran ayuda para iniciar la implementación de estrategias de conservación para estas especies y como base para investigaciones futuras con especies de importancia ecológica y que se encuentren en vía o amenazadas de extinción en la región.

Esto hace parte de una estrategia de conservación como lo exponen Rodríguez & Vazquez- Yanez (1992), quienes mencionan que la conservación de semillas vivas de especies vegetales, deshidratadas y a bajas temperaturas puede ser una forma relativamente sencilla de preservar el germoplasma vegetal *ex situ*. Estos sistemas de conservación surgen como una medida complementaria a los mecanismos de conservación *in situ*, orientados principalmente a resguardar el material genético de las especies de importancia para el mejoramiento genético, la industria alimenticia, farmacéutica, maderera, etc., permitiendo la conservación de especies vulnerables a procesos de erosión genética. Este almacenamiento o Bancos de semillas, conjuntamente con las

reservas de la naturaleza, el mantenimiento de áreas seminaturales bien manejadas, la creación de viveros para el redoblamiento con especies explotadas comercialmente y otras estrategias de conservación de la biodiversidad, pueden contribuir a evitar la extinción de especies vegetales amenazadas. Sin embargo, a pesar que en algunas partes del mundo desarrollado existen estos almacenes, en los trópicos y en general en los países de poco desarrollo científico, esta alternativa está poco explorada (Rodríguez & Vazquez- Yanez, 1992).

La gran mayoría de investigaciones realizadas en esta temática han sido desarrolladas para especies de importancia agroalimentaria; más bien son pocos los estudios concernientes a especies forestales, por lo tanto se desconoce en gran medida el manejo y los métodos de almacenamiento para conservar estas especies que son de vital importancia para la conservación de los relictos selváticos. Por tanto, la inexistencia de una práctica establecida y reglamentada de recolecta y almacenamiento de semillas de especies silvestres en condiciones adecuadas, ha tenido consecuencias negativas en muchos países, pues ha contribuido al empobrecimiento de la diversidad biológica. Igualmente, en el campo forestal, no se consideraba necesario almacenar semillas ya que el hombre dependía de los bosques naturales para la producción de madera y cuando se empezaron a establecer plantaciones, surgió la necesidad de tener a disposición semilla en la cantidad, calidad y momento necesario de las especies usadas y al escasear se evidenció la necesidad de tener semilla almacenada. Ante esta evidencia se ha desarrollado toda una serie de estrategias de almacenamiento. Sin embargo, como lo expone Trujillo (1991), mientras que muchas de las semillas de especies forestales demuestran buen comportamiento en condiciones de almacenamiento, otras por el contrario se deterioran rápidamente bajo las mismas condiciones evidenciando que, aún el estado del conocimiento no ha logrado encontrar una técnica de almacenamiento adecuada para ciertas

especies forestales tropicales valiosas, cuyas semillas pierden rápidamente la viabilidad. Así mismo, algunas de las características de muchas de las especies de semillas de las regiones tropicales húmedas, por ejemplo, viabilidad corta, respiración ininterrumpida y alto contenido de humedad, dificultan el almacenamiento, por lo tanto, estos problemas deberían ser también objeto de investigación.

Para Vázquez *et al.* (1997), la mayoría de los ecosistemas tropicales y subtropicales del mundo están siendo destruidos a velocidad alarmante y muchas de sus especies están al borde de la extinción. Por esto es esencial tener conocimientos acerca de las semillas y de otras formas de propagación de las plantas, tanto para los científicos como para los técnicos que trabajen en aspectos de conservación, ecología y manejo. Como parte del estudio de las plantas es necesario intensificar la investigación de las semillas, sus características fisiológicas, sus mecanismos de latencia y germinación, su longevidad (ecológica y potencial) y su posible uso para la propagación y conservación de las plantas.

Según la propuesta técnica para el desarrollo del programa de biodiversidad para el Quindío CRQ (2003), se establece la necesidad de adoptar medidas para la conservación *ex situ* de los componentes de la diversidad biológica, estableciendo y manteniendo las instalaciones adecuadas para su conservación, así como la investigación requerida para su correcto desarrollo y el suministro de apoyo financiero o de otra naturaleza que la misma requiera.

La existencia de almacenes de semillas viables provistas de equipos confiables de refrigeración podría estar ligada a instituciones tales como institutos de investigación, jardines botánicos, reservas biológicas, campos de investigación forestal, etc. (Vázquez -Yanes *et al.*, 1997). De esta manera, formarían parte del conjunto de mecanismos destinados a asegurar la preservación de las especies y servirían de fuente de aprovisionamiento e intercambio de semillas

de plantas cuya presencia en el medio natural, por diversas razones, se desea promover; también serían fuentes de material para proyectos futuros proyectos de investigación en muchos campos.

Se espera que en el futuro, los extensos bosques tropicales de nuestro continente no vean su enorme diversidad de árboles sustituida por un puñado de especies ajenas a la región sólo por la falta de semillas de especies nativas que pueden ser conservadas a través de procesos investigativos de este tipo, donde se estudian los métodos y tratamientos más adecuados para almacenar las semillas sin que estas pierdan su viabilidad rápidamente (Vázquez -Yanes *et al.*, 1997).

9. CONCLUSIONES

- *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* en el análisis de calidad inicial presentaron porcentajes de germinación y viabilidad superiores al 85% y para el contenido de humedad valores entre 5 - 10%, adecuados para la realización de los ensayos posteriores.
- El tratamiento de ahumado reduce el contenido de humedad de las semillas e igualmente disminuye los porcentajes de germinación y viabilidad, mientras que bajo el tratamiento sin ahumar se obtienen porcentajes de humedad, germinación y viabilidad mayores.
- Los tratamientos físicos y los métodos de almacenamiento más adecuados para conservar las semillas de *Hymenaea courbaril* y que ayudan a mantener en un alto porcentaje la capacidad de germinación y viabilidad son el tratamiento prealmacenamiento sin ahumar, almacenamiento en nevera a 5°C y en frascos plásticos.
- Para la especie *Enterolobium cyclocarpum*, los tratamientos físicos y los métodos de almacenamiento más adecuado que ayudan a conservar y a mantener en un alto porcentaje la capacidad germinativa y de viabilidad son el tratamiento sin ahumar, almacenando a una temperatura de 5°C y en empaques de vidrio, bolsas y frascos plásticos.
- Aunque la temperatura que mejor conserva las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* es a 5°C, el almacenamiento a una temperatura de - 20°C también puede emplearse debido a que se obtienen porcentajes de germinación y viabilidad superiores al 85% que siguen siendo óptimos para conservar semillas.

- La cartilla diseñada se convierte en una herramienta importante para estudiantes de pregrado de Biología y áreas afines interesados en el conocimiento sobre aspectos básicos, manejo y almacenamiento de semillas forestales.

10. RECOMENDACIONES

- Realizar actividades rutinarias de monitoreo que permitan continuar con la evaluación de calidad de las semillas almacenadas y poder seguir conservando en gran medida la capacidad germinativa de las semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum*.
- Fortalecer el Banco de Semillas del Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad (CIBUQ) almacenando mayor cantidad de semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* bajo los tratamientos identificados como óptimos.
- Realizar evaluaciones de la diversidad genética de las especies con el fin de asegurar que las semillas almacenadas contengan una muestra representativa que garantice la conservación de las mismas.
- Seleccionar las especies reportadas en vía o amenazadas de extinción que puedan ser conservadas *ex situ* en bancos de semillas y continuar con investigaciones de este tipo para estandarizar protocolos de almacenamiento y conservación para las mismas.
- Iniciar programas de multiplicación y regeneración en viveros para las especies almacenadas antes de que los niveles de viabilidad lleguen a límites que causen erosión genética irreversible.
- Promover la investigación científica en nuevos métodos y técnicas de conservación *ex situ*, a través de bancos de semillas.
- Se deben generar líneas de investigación que aseguren los conocimientos necesarios para que las especies conservadas sean adecuadamente

multiplicadas o regeneradas, manteniendo la representatividad de la variabilidad existente en las poblaciones naturales.

- Incentivar la creación de semilleros de investigación en esta temática.
- Aplicar la cartilla diseñada con estudiantes de pregrado de Biología y áreas afines, para que obtengan un conocimiento sobre aspectos básicos, manejo y almacenamiento de semillas forestales.

11. GLOSARIO

SEMILLAS: Son unidades de diseminación y reproducción sexual de las plantas, procedentes del desarrollo de los óvulos de sus flores. Están compuestas de uno o varios embriones, reservas nutritivas y una o varias capas protectoras originadas a partir de los tegumentos del ovulo, del ovario, de los tejidos de otras partes de la flor e, incluso, de la inflorescencia.

VIABILIDAD: Se entiende el definir si una semilla está viva y con capacidad para germinar. La viabilidad puede ser determinada con pruebas de germinación bajo condiciones óptimas o análisis bioquímico. Cuando nos referimos a viabilidad en semillas debe tenerse en cuenta que se trata de un valor “promedio” de un lote o sea que no se están deteriorando todas las semillas a la vez con igual intensidad y que el deterioro del lote es la consecuencia de la muerte de semillas individuales con el transcurso del tiempo.

GERMINACIÓN: Reanudación del crecimiento activo en el embrión de una semilla que se manifiesta en la aparición de la radícula.

LATENCIA: Se define como la falla de la semilla viva para germinar dentro de un rango de condiciones que son favorables para dicha semilla.

CONTENIDO DE HUMEDAD: Cantidad de agua presente en un material

ESCARIFICACIÓN: Método que consiste en raspar una parte de la semilla, con el fin de acelerar el proceso de germinación

GERMOPLASMA: Órgano, estructura, parte o segmento de una planta, capaz de originar un nuevo individuo mediante la reproducción sexual a través de

semillas o asexual que incluye estacas, estaquillas, yemas, hijuelos, esquejes, bulbos y meritemos, entre otros.

PRUEBA TZ: Consiste en distinguir las semillas vivas de las muertas estudiando la coloración que se produce en los embriones al embeber las semillas en una solución de sal de tetrazolio.

SEMILLA ORTODOXA: Aquella semilla que puede desecarse hasta un contenido de humedad de alrededor del 5% y puede almacenarse satisfactoriamente durante largos períodos a temperaturas bajas o inferiores a 0° C.

SEMILLA RECALCITRANTE: Aquella semilla que muere si se le seca por debajo de un contenido de humedad relativamente alto y no pueden almacenarse satisfactoriamente durante largos periodos.

TESTA: Revestimiento externo de una semilla; por lo general duro y resistente

ALMACENAMIENTO: Se constituye en el método de preservar la diversidad genética de numerosas especies de valor actual y potencial, así como de aquellas que se encuentran amenazadas ó en peligro de extinción

ÁRBOL SEMILLERO: Árbol que según el objetivo de uso, reúne características mínimas deseables para la obtención de semilla.

EMBRIÓN: Planta rudimentaria que se encuentra en el interior de la semilla. Algunas veces se le llama germen.

LOTE DE SEMILLAS: Una cantidad específica de semilla cuyo origen y calidad son relativamente uniformes.

PROCEDENCIA: Zona geográfica y ambiental donde crece una población de árboles con una base genética amplia.

LONGEVIDAD DE LA SEMILLA: Es el tiempo que una muestra de semillas mantiene su viabilidad (o capacidad para germinar) en estado latente. Algunos efectos ambientales como temperatura, agua, nutrientes, depredación, infecciones, estado de madurez y tamaño de la semilla pueden reducir la longevidad de las semillas.

MÉTODO COLORIMÉTRICO: Es un tipo de análisis para la calidad de las semillas, basado en la coloración química diferencial de los tejidos fuertes, débiles y muertos. Con esto si un embrión está vivo y respira, al ponerlo en contacto con el indicador, éste cambiará de color. Entre los colorantes se encuentran: Biselenito Sódico, Carbonato de Sodio, el Indigo de Carmín y el Tetrazolio.

12. BIBLIOGRAFÍA

AGUDELO, C & GÓMEZ, G. Estudios de la flora del Departamento del Quindío. Fenología de especies forestales de la montaña del Ocaso, Quimbaya, Q. Universidad del Quindío. 107 Págs. 2001.

BARTON, L.V. Seed preservation and longevity. Leonard Hill Ltd., London. 1961.

BERTULLO, V. El ahumado. Instituto de investigaciones pesqueras. Universidad de la republica. Facultad de veterinaria. Montevideo, Uruguay. 1996.

BESNIER, F. Semillas, biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 págs. 1989.

BONGCAM, E. Plantaciones forestales por el método de siembra directa de semillas pretratadas con hormonas é hidroretenedores con aplicación a la agroforesteria. Colombia forestal. Vol. 5 No 11. 1998.

BONNER F.T.; VOZZO J.A. Storing tropical forest tree seeds. Memorias seminario taller sobre investigaciones en semillas forestales tropicales. Bogotá, Colombia. 1994.

BEWLEY, D. & BLACK, M. Seeds: Physiology of development and germination. New York. 1994.

CABELLO, A. & WIBERG, S. Factores que influyen en la germinación y producción de plantas de Quillay (*Quillaja saponaria*). Centro de semillas y

árboles forestales. CESAF-CHILE. No. 8. Facultad de ciencias forestales. Universidad de Chile. 1999.

CAMACHO, F. Identificación del mecanismo que inhibe la germinación en *Schinus molle* L. y forma de eliminarlo. Revista Ciencia Forestal No 55 Vol. 10. 1985.

CAMACHO, F. Dormición de semillas: causas y tratamientos. Editorial Trillas, 125 Págs. 1994.

CIAT. Protocolo para el manejo de germoplasma de frijoles y forrajeras tropicales. Pasantía en conservación de semillas. Unidad de recursos genéticos. Centro Internacional de Agricultura Tropical (2004).

CORANTIOQUIA. Cartilla para el manejo de semillas forestales. Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia. 1 Edición. Medellín. 24 Págs. 2001.

CORDERO, J. & OLIVEROS, M. Efecto de varias condiciones de almacenamiento sobre la germinación de semillas de *Andropogonon gayanus*. Agronomía Tropical. 33 (1-6): 177-189. 1983.

CRQ. Conocimiento, conservación y uso sustentable de la diversidad biológica. Propuesta técnica para el desarrollo del programa de biodiversidad para el Quindío 2003-2012. Edición OPTIGRAF.158 Págs. (2003).

CORREA, J. Propiedades fisiológicas de las semillas de seis especies forestales de clima frío. Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe. 1997.

CORREA, J. E & BERNAL, H. Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello. Tomo III. Ciencia y Tecnología No. 14. Convenio

Andrés Bello. Secretaría Ejecutiva SECAB. Ministerio de Educación y Educación ESPAÑA. Corporación Andina de Fomento CAF. Editora Guadalupe LTDA. Bogotá D.C. 485 Págs. 1990.

CORREA, J. E & BERNAL, H. Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello. Tomo XI. Ciencia y Tecnología No. 54. Convenio Andrés Bello. Secretaría Ejecutiva SECAB. Ministerio de Educación y Educación ESPAÑA. Corporación Andina de Fomento CAF. Editora Guadalupe LTDA. Bogotá D.C. 516 Págs. 1995.

DANIEL, W. Bioestadística. Editorial Limusa, S.A. de C.V, 667 Págs. México, D.F. 1990.

DELOUCHE, J.C. Precepts for seed storage. Proceedings Mississippi short course for seedsmen. Seed Technology laboratory, Mississippi State University. 1968.

ECHAVARRIA, C. L. Efecto de diferentes tratamientos físicos y químicos en la ruptura del periodo de reposo en las semillas de anís (*Pimpinella anisum* L.). Tesis. Programa de Biología. Universidad de Antioquia. 1983.

EIB. B.; MENDEZ R.; DI STASI M.; SOSA G.; BOHREN A.; ROBLEDO F. Selección de árboles semilleros en propiedades y reservas de la selva Misionera. Novenas Jornadas Técnicas Forestales. INTA-FCF-MEYRNRYT-EI Dorado, Misiones Argentina. 1994.

FARIA *et al.* Efecto de métodos químicos de escarificación sobre la germinación de seis gramíneas forrajeras tropicales. Revista Facultad de Agronomía (LUZ). 13: 387–393. 1996.

FLORES, Z. Efecto del almacenamiento sobre la calidad de semillas de *Bachiaría dictyoneura*. Zootecnia Tropical, Vol. 14(2): 113-131. 1996.

FRANCIS, J. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. Guanacaste, earpod-tree. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 4 p. 1988.

GONZÁLEZ, E. Recolección y germinación de semillas de 26 especies arbóreas del bosque húmedo tropical. Revista Biología Tropical. 39 (1): 47 – 51. 1991.

GUARIGUATA, M. Consideraciones ecológicas sobre la regeneración natural aplicada al manejo forestal. CATIE, publicación No 14. 1998.

GUARIGUATA, M. Biología de semillas y plántulas de nueve especies arbóreas comunes en bosques secundarios de bajura en Costa Rica. CATIE, publicación No 16. 1999.

HARTMANN, H. y KESTER, D. Propagación de Plantas. México D.F. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1988.

HARRINGTON, J. Seed longevity. Seed Biology. Vol. III. Londres. N. Y. 1972.

ICONTEC. Compendio Tesis y otros trabajos de grado. Normas técnicas colombianas sobre documentación. Edición actualizada. Instituto de Normas Técnicas y Certificación. Bogotá D.C 23 pág. 2004 – 2005.

I.S.T.A. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Ministerio de Agricultura. Madrid, artes gráficas Danubio, 121 Págs.1976.

JACOBSEN, S. & MUJICA, A. Almacenamiento de la semilla de Quinua. Seed Science and Technology 26. 515-523. 1998.

LÓPEZ, J. *et al.* Estudio preliminar de semillas y nutrientes minerales en plántulas de *Escallonia pendula*. Colombia Forestal. Vol. 4 No 10. 1996.

MARODER, H.; MALDONADO, S.; PREGO I. Aspectos fisiológicos, químicos y ultraestructurales asociados a la conservación de semillas de Salicáceas. Memorias Octavo Congreso Latinoamericano y Segundo Colombiano de Botánica. Bogotá. 2004.

MAYER, A. & POLJAKOFF-MAYBER, A. The germination of seeds. New York: The McMillan Company. 1989.

MINISTERIO DE AGRICULTURA – INDERENA. Comunicación participativa. Sin fecha.

MORENO P. Vida y obra de granos y semillas. Fondo de cultura económica. Primera edición, México, D.F. 1996.

NIEMBRO, A. La composición química de las semillas y su efecto en su conservación. Memorias seminario taller sobre investigaciones en semillas forestales tropicales. CONIF. Serie 18. Bogotá, Colombia. 1990.

OWEN, E.B. The storage of seed maintenance of viability. Bulletin 43. Commonwealth Agricultural Bordeaux, Farnham Royal. England. 1983.

PINTO, G. & SIERRA, R. Estado actual de la oferta y demanda de semillas forestales en Colombia. Identificación, selección y manejo de fuentes semilleros. Programa de investigación en semillas de especies forestales nativas (INSEFOR). Serie técnica 32. Santa Fé de Bogotá. 1995.

POPINIGIS, F. Fisiología de sementes. Brasilia: Agiplan. 1985.

QUIRÓS L. & ARCE J. Influencia del secado de la semilla de encino (*Quercus costaricensis* Lieb.) en la germinación y el almacenado. Revista Forestal Centroamericana No 24, Año 7. 1998.

ROBERTS E. H. Loss of viability. Ultrastructural and physiological aspects. Seed Science and Technol. 1: 29-4. 1973.

RODRÍGUEZ, P. Fundamentos de silvicultura. Universidad Santo Tomás. Ediciones USTA. Santa Fé de Bogotá. 300 Págs. 2000.

RODRIGUEZ, M. & VAZQUEZ, Y. C. La conservación de plantas en peligro de extinción a través del almacenamiento a largo plazo de semillas. Interciencia. Vol. 17 NO 5. 1992.

ROMERO & RODRÍGUEZ, M. Investigación en semillas forestal nativas. Serie técnica No 43. Santa Fé de Bogotá. 1999.

SANDOVAL, A. Almacenamiento de semillas. Centro de semillas y árboles forestales. CESAF-CHILE. No. 14. Facultad de ciencias forestales. Universidad de Chile. 2000.

STEEL, R.G.D.; & TORRIE, J.H. Bioestadística: principios y procedimientos. Segunda edición. Mc Graw Hill. 1985.

TOKURA *et al.* Especies Forestales del Valle del Cauca. 1996.

TRIVIÑO D.; ACOSTA R.; CASTILLO A. Mejoramiento de semillas y fuentes semilleras en Colombia, técnicas de manejo de semillas para algunas especies forestales neotropicales en Colombia. CONIF – INDERENA – CIIB. Serie técnica No 19. Santa Fé de Bogotá, Colombia. 91 Págs. 1990.

TRIVIÑO, T. Técnicas de manejo de semillas para algunas especies forestales neotropicales en Colombia. CONIF. Serie No. 19. Bogotá. 1989.

TRUJILLO, E. Manejo de semillas, viveros y plantación inicial. Editado por Centro de Estudios del Trabajo-CEDETRABAJO, Colombia. 151 Págs. 1991.

TRUJILLO, E. Manual de árboles. Primera edición. Impresión DAYBER. 250 Págs. 2002.

VAZQUEZ,; Y. C. OROZCO A.; ROJAS M.; SANCHEZ M. E.; CERVANTES V.; La Reproducción de las Plantas: Semillas y Meristemos. La Ciencia para Todos, N° 157. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. Primera Edición, 166 pág. 1997.

VILLAGOMEZ, A.Y.; VILLASEÑOR, R.R.; SALINAS, M.J.R. Lineamiento para el funcionamiento de un laboratorio de semillas. México: INIA. 1979.

WILLAN, R. L. Guía para la manipulación de semillas forestales, estudio con especial referencia a los trópicos. FAO Montes 20/2. 1991.

13. ANEXOS

Anexo 1. Formato para registro de colección en campo de semillas de especies forestales – CIBUQ.
Hoja de registro No. 1

Familia	Nombre de la especie	Nombre común	No. árbol semillero	Fecha de colecta	Localidad (Municipio, Vereda, Finca)	Altitud msnm	Coordenadas Geográficas

Anexo 2. Formato para registro de colección en campo de semillas de especies forestales – CIBUQ.
 Hoja de registro No. 2

Tipo de Suelo	Precipitación Pluvial	Vegetación Aledaña	Descripción Características Morfológicas Árbol Semillero	Descripción Morfológica de Frutos	No. De Frutos Colectados	Estado de Madurez de los frutos	Estado Fitosanitario

Anexo 3. Formato de registro de entrada de material vegetal al laboratorio – CIBUQ

Nombre de la Especie	Nombre Común	Número de Entrada	Número de Colección	Número de Registro	Procedencia	Fecha de Colección	Fecha de Entrada
Tipo de Material	Cantidad de semilla recibida	% pureza	Causa de pérdida o eliminación	Cantidad de semilla eliminada	CH	Empaque	Cantidad Almacenada

Anexo 4. Formato de registro para pruebas de germinación y viabilidad (TZ) de semillas

Responsable: _____
 No. BSF – CIBUQ: _____ Familia: _____ Especie: _____
 Procedencia: _____ Fecha Inicio Prueba: _____ Fecha Final prueba: _____
 Substrato: _____ Pretratamiento: _____ No. Semillas Sembradas: _____

Prueba de Germinación:

Conteos	I										II										TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Semillas Germinadas																					
Semillas Duras o Firmes																					
Anormales																					
Total																					
% Germinación																					

Fecha:

	VIABILIDAD (ZT)		
	No. Semillas	Vivas	Muertas
I			
II			
III			
IV			
TOTAL			
%			

OBSERVACIONES

Anexo 5. Cartilla

Anexo 6. Número de semillas germinadas por día de *Hymenaea courbaril* para cada uno de los periodos y tratamientos

Período	Tratamiento	Rep.	Número de Semillas Germinadas por Día																															
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
30	AMB V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	19	21	24	27	29	32	38	45	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	30	36	43	50	
	AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	9	10	11	10	13	21	38	47	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	30	34	36	41	41	
	AMB B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11	11	18	21	25	27	31	38	41	44	44	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	15	19	23	24	31	35	38	40	40	45	48	
	AMB B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	41	41	44	47	49	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	31	38	42	46	49	50	50	50	50	50	50	
	AMB F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	35	37	40	43	44	44	44	46	48	48	48	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	8	8	11	13	17	21	24	26	26	30	32	35	37	39	39	41	46	49	50	50		
	AMB F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	29	30	34	34	40	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	20	23	27	30	35	38	40	41	42	42		
	5 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	28	34	37	41	41	41	45	47	49	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	12	19	25	28	36	38	41	45	48	48	48	48	48	48	48	48	48		
	5 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	21	26	30	38	40	40	42	42	42	42	42	42	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	40	43	43	47	47	47	47	
	5 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	32	39	41	44	44	44	44	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	37	41	41	41	45	48	48	49	50	50	50		
	5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	37	39	40	40	40	40	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	34	37	39	39	39	40	42	44	45	46	46	46		
	5 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	39	39	40	41	42	42	45	48	48	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	36	39	40	43	43	43	43	
	5 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	30	34	38	37	41	43	46	47	49	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	40	40	40	40	40	40	44	45	46	46	46	46	46	
	- 20 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	24	25	27	30	30	31	34	34	34	35	41	44	46
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	30	30	32	34	34	39	42	43	

	- 20 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	10	15	21	23	25	29	32	35	38	40	41	42	42	42	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	35	35	35	35	35	35	35	38	40
	- 20 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	30	32	36	39	40	41	44	47	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11	16	21	28	28	30	32	35	35	35	37	38	42	44
	- 20 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	24	27	30	34	36	37	40	42	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	30	30	31	33	34	34	37	39	40	40	40	41	44	45
	- 20 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	20	24	29	32	35	39	42	46	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	39	43	43	48	48	48	50	50	50	50	50	50	50	
	- 20 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	14	14	14	21	24	27	34	38	41	42	45	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	33	35	39	39	40	42	44	44	
	60	AMB V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	32	45	50	50	50	50	50	50	50	50
			II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	35	41	50	50	50	50	50	50
AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	19	23	23	27	27	32	36	38	40	45	
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	25	28	30	38	43		
AMB B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	19	26	33	42	47	50			
AMB B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	13	17	17	18	22	31	36	39	41		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	11	14	19	19	19	21	23	27	34	37	39	43	48	
AMB F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	25	38	46	50	50	50	50		
AMB F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	25	28	28	32	39	43			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	21	24	25	29	31	34	38	40	41	
5 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	28	32	35	40	45	45	47	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50			
5 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	29	31	33	35	35	38	40	41	42	42
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	38	40	41	42	42	44	44	44	44	44	
5 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	18	23	25	29	35	39	43	48	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	28	34	37	38	40	40	44	47	49	49	50						
5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	40	42	42	42		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	28	34	37	40	41	41	41	43	44	44	
5 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	36	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	28	32	35	43	45	46	49	49	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		

	5 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	15	19	24	24	25	26	26	60	34	36			
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	28	31	31	38	40	44	47			
	- 20 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	43	50	50	50	50	50	50	50	50			
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50			
	- 20 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	22	29	34	37	37	40	42	43	45	45		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	32	39	39	39	42	43	45	46	46	46		
	- 20 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	46	50	50	50	50	50	50	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	- 20 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	31	35	37	37	40	41	41	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	20	23	25	30	31	33	36	38	38	40	40	42
	- 20 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	42	48	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	- 20 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	31	35	36	36	38	39	39	39	40	40	40	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	31	33	36	37	40	42	42	42	42	42	
	90	AMB V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	18	35	48	50	50	50	50	50	50	50		
			II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	37	41	44	44	46	46	46	
		AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	17	25	29	30	30	32	36	35	43	46	
			II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	28	31	40	40	40	
AMB B SAH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	34	45	50	50	50	50	50	50	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	17	19	29	38	42	45	45	45		
AMB B AH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	11	17	17	25	28	31	36	41	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	16	20	20	24	27	27	30	35	37	40	42	46
AMB F SAH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	15	19	22	28	31	35	38	40	40	40		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	21	24	27	38	44	46	50	50	50		
AMB F AH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	14	19	20	26	31	35	37		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	12	15	19	21	24	29	29	34	36	38	40
5 V SAH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34	40	43	47	47	47	48	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	39	43	45	48	48	48	48	48	48	48	48	
5 V AH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	13	19	21	24	28	31	35	38	38			
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	23	29	31	34	34	36	39	40				
5 B SAH		I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	12	18	21	23	25	29	36	40	43	43	45	45
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	28	28	34	37	38	43	44	44	47	49	50	50

	5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	21	30	31	32	37	39	42	42	45	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	15	23	30	34	36	36	
	5 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	41	45	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	26	30	35	37	41	44	48	48	48	49	50	50	50	50	50	
	5 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	19	26	29	35	41	46	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	24	28	31	31	37	40	44	45	
	- 20 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	38	43	45	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	23	28	28	31	34	39	42	42	45	45	45	45	45	45	
	20 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	20	22	24	31	33	37	38	38	38	38	38	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	15	17	20	25	28	29	32	32	36	40	40		
	- 20 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	40	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	42	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	- 20 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	35	35	40	43	44	45	45		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	25	28	30	33	33	37	40	40	40	40	41	
	- 20 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	37	37	37	40	43	46	48	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	45	48	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	20 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	12	14	17	18	23	25	29	33	33	37	40	42	42		
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	21	24	25	28	32	32	35	35	35	35		
	120	AMB V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	30	30	30	36	40	41	45	48	48	48	
			II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	30	33	34	35	41	43	44	46	
AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	12	12	17	20	22	27	32	36	36	38	40			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	9	14	18	30	34	39	39	41					
AMB B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41	50	50	50	50	50	50	50	50			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	40	40	42	44	45	45	45				
AMB B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	11	13	18	23	28	32	35	35	37	38	40	40				
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	24	29	31	31	37	40	42	46	47	47	49	50				
AMB F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	26	31	35	38	41	45	45	45	45	45			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	34	36	42	44	44	44					
AMB F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	20	26	34	34	37	39	39	40			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	16	22	25	30	35	39	39	39	41	42	42			
5 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	36	45	49	50	50	50	50	50	50	50	50	50			
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	34	42	45	47	47	47	47	47	47	47			

5 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	23	27	29	29	33	33	36	38	39	40	40	40	40
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	28	30	35	37	40	41	44	44	45	45	46
5 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	16	20	27	30	36	42	43	48	50	50	
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	23	26	30	31	36	39	39	40		
5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	22	27	34	38	42	42	42		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	16	20	21	26	30	34	37	41	45	47	47	
5 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
5 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	34	34	41	46	48	48	48	48		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	25	31	36	38	40	42	42	46	50		
- 20 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	31	35	39	42	47	48		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
- 20 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	21	24	29	32	36	40		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	31	33	38	40	40	42	42	42	
- 20 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	31	36	42	47	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	41	46	50	50	50	50	50	50	50		
- 20 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	23	25	29	29	31	35	39	46	48	48	
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	10	16	22	27	33	39	39	39	40	40	
- 20 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	34	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	17	18	20	27	32	36	41	45	47	47	47	
- 20 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	26	29	31	35	40	40	43	44		
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	21	26	32	32	38	40			

AMB = temperatura ambiente, 5 = 5°C, -20 = -20°C, B = bolsa plástica, F = frasco plástico, V = vidrio, AH = ahumado, SAH = sin ahumar.

Anexo 7. Número de semillas germinadas por día de *Enterolobium cyclocarpum* para cada uno de los periodos y tratamientos.

Periodo	Tratamiento	Repetición	Número de Semillas Germinadas por Día																				
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
30	AMB V SAH	I	0	0	0	0	5	10	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	5	15	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	36	36	36	36	36	36
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	9	9	11	19	23	49	49	49	49	49
	AMB B SAH	I	0	0	0	0	10	15	40	46	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	10	30	37	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	AMB B AH	I	0	0	0	0	5	5	25	31	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
		II	0	0	0	0	0	0	10	16	25	25	25	25	25	25	28	31	33	38	42	42	42
	AMB F SAH	I	0	0	0	0	0	15	30	41	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	5	30	36	45	48	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	AMB F AH	I	0	0	0	0	0	0	30	38	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	0	10	32	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	5 V SAH	I	0	0	0	0	0	30	41	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	10	15	22	38	46	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	5 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	26	31	35	40	41	43	43	43	43	43	43
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	30	32	33	35	39	39	39	39	39	39	39
	5 B SAH	I	0	0	0	0	0	11	24	40	42	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	20	39	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
		II	0	0	0	0	0	35	37	39	39	39	40	40	42	42	42	42	42	42	42	42	42
5 F SAH	I	0	0	0	0	0	10	29	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	II	0	0	0	0	0	30	35	40	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
5 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	13	20	29	29	30	32	35	35	38	38	38	38	38	38	
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	37	37	38	39	39	40	40	40	40	40	40	
20 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	30	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	

		II	0	0	0	0	0	0	0	30	45	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50							
	20 V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	20	32	35	40	40	40																					
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	27	29	34	36	45	45	45	45																						
	20 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	35	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50			
		II	0	0	0	0	0	0	0	25	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
	20 B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	30	38	40	43	43	43																					
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	28	30	36	40	42	42	46	46																						
	20 F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	23	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	20	42	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	20 F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	12	16	16	27	30	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	
		II	0	0	0	0	0	0	0	23	27	27	31	33	35	38	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
60	AMB V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
		II	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	AMB V AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	30	30	30	46	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	39	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	AMB B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	30	44	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	AMB B AH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	38	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	30	34	40	42	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
	AMB F SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	31	32	35	37	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38
		II	0	0	0	0	0	0	0	13	35	40	40	43	48	48	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	AMB F AH	I	0	0	0	0	0	0	0	30	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		II	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	5 V SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	28	31	37	40	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	39	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
5 V AH	I	0	0	0	0	0	0	30	41	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	II	0	0	0	0	0	40	46	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
5 B SAH	I	0	0	0	0	0	0	0	40	44	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	II	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5 B AH	I	0	0	0	0	0	0	10	13	20	20	20	20	20	20	20	20	26	34	40	43	48	50																						

	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	21	25	27	30	32	35	36	36	38	40	40
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	38	40	43	47	47	49	50	50	50
AMB F SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	32	45	48	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	39	46	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
AMB F AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	10	17	22	27	30	31	35	38	42	48	50	50	50
5 V SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	39	40	43	47	48	48	49	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5 V AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	32	38	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	I	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5 B SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	38	43	43	47	48	50	50	50	50	50	50	50	50
5 B AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5 F SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	39	47	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5 F AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
20 V SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	12	19	20	23	25	28	32	32	34	36	36	39	40	40
20 V AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	21	26	30	32	37	41	44	46	46	46	46
	I	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
20 B SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	46	50	50	50	50	50	50	50	50
20 B AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
20 F SAH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	42	50	50	50	50	50	50	50	50
20 F AH	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50	50	50	50