

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

STORAGE POTENTIAL OF SEEDS OF *Genipa americana* L. IN THE DEPARTMENT OF QUINDÍO

Sandra Viviana Ramírez Morales¹ & Andrés Felipe Orozco Cardona²

¹Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ)

²Docente Programa de Biología, Investigador Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CIBUQ), Universidad del Quindío.

Fecha de recibido: Febrero 3 de 2010

Fecha de aceptado: Junio 9 de 2010

Correspondencia: Programa de Biología, Universidad del Quindío, Av. Bolívar calle 12 norte Armenia Quindío. Correo electrónico: andresorozco@uniquindio.edu.co

RESUMEN

Se evaluó la eficiencia del método de almacenamiento para la conservación de semillas de *Genipa americana* procedentes de 6 poblaciones de la zona cálida del departamento del Quindío. El estudio se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Estudios e Investigaciones de Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío (CIBUQ). Se siguió la metodología sugerida por Bioversity International para el manejo de semillas en bancos de germoplasma, con el fin de establecer un protocolo de almacenamiento para la conservación a corto plazo de semillas de la especie a través de la determinación de la temperatura y el sustrato de almacenamiento adecuado. Las pruebas iniciales revelaron 75% de viabilidad, 43% de contenido de humedad, 78% de porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación de 2 semillas por día y 23 días en tasa de germinación. El potencial germinativo de la especie puede mantenerse a corto plazo en almacenamiento a temperatura ambiente, utilizando torlita para controlar el contenido de humedad, el cual debe estar por encima del 10% para conservar su viabilidad. Los resultados obtenidos demuestran que el comportamiento de almacenamiento de las semillas de *G. americana* corresponde al de una semilla tipo intermedia.

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

ABSTRACT

A method of storage for conservation of *Genipa americana* seeds was evaluated. Seeds were from 6 populations located in the entire warm area of Quindío. The study was conducted in the laboratory of Biotechnology, Centre for Studies and Research on Biodiversity and Biotechnology at the University of Quindío (CIBUQ). A methodology suggested by Bioversity International for handling seeds in gene banks was used in order to establishing a storage protocol for short-term conservation of seeds of the species through the determination of temperature and substrate proper to storage. Initial tests revealed 75% viability, 43% moisture content, 78% germination percentage, germination speed index of 2 seeds per day and 23 days for germination rate. The potential of germination of *Genipa americana* can keep itself to short-term in storage at room temperature, using torlita to control the moisture content which should be only up to 10% for keeping its viability. The results obtained show that the storage behavior of *Genipa americana* seeds is similar to any type of intermediate seed.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la flora de los bosques tropicales del mundo está siendo destruida a un ritmo acelerado y numerosas especies están al borde de la extinción. La diversidad de especies de estos bosques se refleja en una notable variedad de semillas; las cuales presentan viabilidad variable y longevidad promedio corta⁽¹⁾. El almacenamiento de semillas permite la conservación del germoplasma de plantas valiosas y en peligro de extinción⁽²⁾. Sin embargo, los bancos de semillas almacenan en su mayoría muestras de plantas cultivadas.

Las especies forestales de los ecosistemas del Quindío,

tienen un valor socio-económico y ecológico intrínseco; sin embargo las poblaciones de varias de éstas se encuentran diezmadadas.

Entre estas especies se encuentra *Genipa americana*, conocida comúnmente como Jagua, la cual es un árbol de la familia Rubiaceae⁽³⁾ que crece en ecosistemas húmedos tropicales de Colombia⁽⁴⁾. Tiene gran valor alimenticio, medicinal, industrial y ecológico. Además, ha sido utilizada como especie promisoría en modelos de recuperación de áreas degradadas en ambientes del Estado de São Paulo⁽⁵⁾. Se distribuye desde México a través de América Central, las Antillas y norte de América del Sur hasta Paraguay y norte de Argentina. Fructifica durante todo el año y un mismo

individuo puede poseer frutos en todos los estados de crecimiento por la periodicidad en la floración y la larga durabilidad de los frutos⁽⁶⁻⁷⁾; los cuales tardan hasta un año en madurar⁽⁸⁾.

Para la especie se han realizado estudios sobre morfofisiología, distribución, usos, fenología en Colombia y algunos ensayos de germinación y almacenamiento en Brasil.

Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial de almacenamiento de semillas de *G. americana* del departamento del Quindío.

METODOLOGÍA

Área de estudio

El estudio se realizó en la zona cálida del departamento del Quindío, entre los 900 y los 1100 msnm, en el Valle del río la Vieja (Figura 1).



Figura 1. Sitios de muestreo de *Genipa americana* en el departamento del Quindío representados por cuadros de color azul (9)

Los sitios de muestreo correspondieron a: Reserva La Montaña del Ocaso, Vereda El Laurel y Vereda Puerto Alejandría, en el municipio de Quimbaya; Vereda Puerto Samaria y Vereda San Pablo, en el municipio de Montenegro; Vereda La Moravita en el municipio de Pijao y un último sitio localizado en la Vereda El Verdún, municipio de Caicedonia, Valle del Cauca. La precipitación pluvial anual de la zona está entre los 1000-2000msnm y la temperatura media anual entre 18-24°C.

Procedimientos

El trabajo se llevó a cabo en dos fases:

Fase de Campo:

Previo a la colecta de los frutos se revisó el material del Herbario Universidad del Quindío (HUQ), para ubicar los sitios de muestreo en el departamento; luego se hizo un pre-muestreo para identificar fuentes semilleras y realizar un seguimiento del estado de madurez de los frutos a colectar.

Se colectaron frutos maduros de individuos de la especie, que estuviesen en fructificación, entre febrero y abril de 2009. De cada procedencia se colectaron 20 frutos maduros que no presentaran señales de deterioro. La colecta se hizo directamente del árbol con un cortarramas; de cada sitio se muestrearon 1 o 2 individuos, por encontrarse pocos árboles semilleros y la mayoría con frutos inmaduros. Para cada individuo se registró el diámetro y la altura y se tomaron las coordenadas geográficas del sitio de muestreo con un GPS para tener ubicados los árboles semilleros.

Para el transporte del material colectado al sitio de procesamiento se utilizaron bolsas plásticas con aberturas laterales, para permitir una buena ventilación de los frutos.

Fase de laboratorio

● Presecado y limpieza

El material se ingresó al laboratorio de Biotecnología de la Universidad del Quindío, donde se extrajeron las semillas y se realizó su limpieza, retirando el material que no hiciera parte de éstas e inspeccionándolas para detectar lesiones internas y excluir las infestadas o deterioradas. Posteriormente se secaron por 3 horas a la sombra, sobre papel absorbente, donde circulara el aire y evitando el calor (10).

● Evaluación inicial de la calidad

Las pruebas de calidad se realizaron de acuerdo a los protocolos establecidos por Rao et al. (2007) que se mencionan a continuación:

Valoración del contenido de humedad

Para esta prueba se tomaron 40 semillas de cada procedencia, cada grupo de 40 semillas se dividió en dos partes iguales, las cuales fueron secadas por dos métodos diferentes: Sílica gel y torlita. Las semillas se introdujeron en frascos de vidrio con selle hermético que contenían en el fondo sílica gel autoindicador azul o torlita, según el caso. El peso del gel de sílice utilizado fue igual al de las semillas (10) y la cantidad de torlita correspondió al volumen que ocuparon las semillas.

El contenido de humedad (CH) se determinó pesando las semillas en una balanza digital Professional-Scale LT Series con una precisión de 0.1 g y capacidad de 500g. Se tomaron datos de peso desde 0 hasta 72 horas.

Viabilidad

La estimación del porcentaje de viabilidad (PV) de las

semillas de *G. americana* se realizó con muestras de 30 semillas de cada sitio de procedencia. Se utilizó la prueba topográfica de tetrazolio al 1% en oscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas; previamente las semillas se hidrataron durante 48 horas. Para facilitar la interpretación de la tinción, las semillas se clasificaron en tres categorías (Tabla 1).

Tabla 1. Categorías de viabilidad de las semillas de *G. americana* según el patrón de tinción

Categoría	Color	Porcentaje de Viabilidad
I. Semillas totalmente teñidas que son viables.		=75%
II. Semillas parcialmente viables.		50-74%
III. Semillas libres de coloración que no son viables.		<50%

Germinación

Se tomó al azar una muestra de 60 semillas de cada procedencia. Previo a la germinación las semillas se desinfectaron con Tween 20-alcohol comercial-hipoclorito de sodio comercial y se sembraron en cajas petri sobre papel secante humedecido con agua destilada. Se mantuvieron a temperatura ambiente con 12 horas luz durante 33 días. Cada 3 o 4 días el sustrato se roció con 12 gotas de agua destilada y se hicieron los respectivos conteos del número de semillas germinadas por día, basado en una longitud de la radícula superior a 0.5 cm. Se calculó el porcentaje de germinación (PG), la tasa de germinación (TG) y el índice de velocidad de germinación (IVG)⁽¹¹⁾.

Secado de las semillas y almacenamiento

Previo al almacenamiento, las semillas se dispusieron sobre papel secante al interior de una cabina desecadora con sílica gel como agente absorbente durante un periodo de 48 horas, lapso de tiempo en el cual las semillas alcanzan un rango de CH de humedad entre 10-13% determinado previamente en la prueba de humedad inicial de las semillas.

Las semillas secadas fueron pesadas en grupos de 150 y se introdujeron en bolsas ziploc de 14 x 10 cm, a las cuales previamente se les añadieron cantidades de sílica gel o torlita. Posteriormente las bolsas se ubicaron al interior de recipientes de vidrio transparente con selle hermético, según lo recomendando por⁽¹²⁻¹³⁾ y se conservaron a 3 temperaturas diferentes.

Pruebas de almacenamiento

Para evaluar el potencial de almacenamiento se utilizó un diseño experimental de bloques al azar en un arreglo factorial con 3 factores controlados:

- Temperatura de almacenamiento con 3 niveles (5°C, -20°C y temperatura ambiente).

- Tiempo de almacenamiento con 4 niveles: Prealmacenamiento, 30 días, 60 días y 90 días.
- Sustrato de almacenamiento con 2 niveles: Sílica gel y Torlita.

Se realizaron en total 24 tratamientos y las variables de respuesta fueron las pruebas de viabilidad, germinación y CH. La unidad muestral fue 22 semillas por tratamiento (10 en germinación, 5 en viabilidad y 7 en CH). Se utilizaron 2376 semillas en las pruebas de calidad durante el almacenamiento y 780 en las pruebas de calidad iniciales, para un total de 3156 semillas.

Cada 30 días se realizaron las pruebas anteriormente descritas para verificar la calidad de las semillas conservadas. Este procedimiento se repitió en 3 oportunidades, es decir hasta los 90 días de almacenamiento. Para los ensayos de germinación, se aplicaron 3-5 g del fungicida Vitavax 300 disuelto en agua destilada debido a la alta incidencia de contaminación fúngica. Así mismo cada semana se verificó visualmente que la sílica gel al interior de los recipientes herméticos presentara color azul; en caso contrario, la sílica rosada se reemplazó.

Análisis estadístico

Se construyeron matrices de datos para las variables de respuesta. Para cada matriz de datos se hizo un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico Statistix versión 9.0 con el fin de determinar diferencias significativas para los factores e interacciones entre ellos con un nivel de significancia del 95%. Los resultados de la PG fueron transformados en arco seno previo al tratamiento estadístico, por análisis de varianza. El análisis de la TG se basó en los datos transformados al logaritmo natural y el IVG a la raíz cuadrada, con la finalidad de establecer homogeneidad de varianzas. Para determinar cuál de los tratamientos significativos era el más adecuado se aplicó la prueba de comparaciones LSD hallando la Diferencia Mínima Significativa (DMS). Finalmente, se hicieron gráficas mediante el programa Matlab (Versión 7.0) para mostrar las interacciones de segundo orden entre los factores, para los resultados de la germinación, viabilidad y contenido de humedad.

Evaluación inicial de calidad

Contenido de Humedad:

El CH inicial de las semillas fue de aproximadamente 43% (Figura 2). El método de sílica gel puede reducir el CH hasta aproximadamente un 9% durante un periodo de 72 horas (Figura 2a y 2c), mientras que con el método de torlita solo se logró reducir hasta un 28% en promedio (Figura 2b y 2c).

La reducción en el CH obtenida por ambos métodos de secado corrobora que la sílica gel reduce la humedad a valores inferiores a los iniciales en contraste con la torlita, que retiene menos la humedad.

Además, el CH inicial se encuentra dentro del rango reportado por la especie⁽¹⁴⁾.

A si mismo se ha reportado que la humedad inicial de las semillas de *G. americana* está directamente relacionada al grado de maduración de los frutos⁽¹⁵⁾.

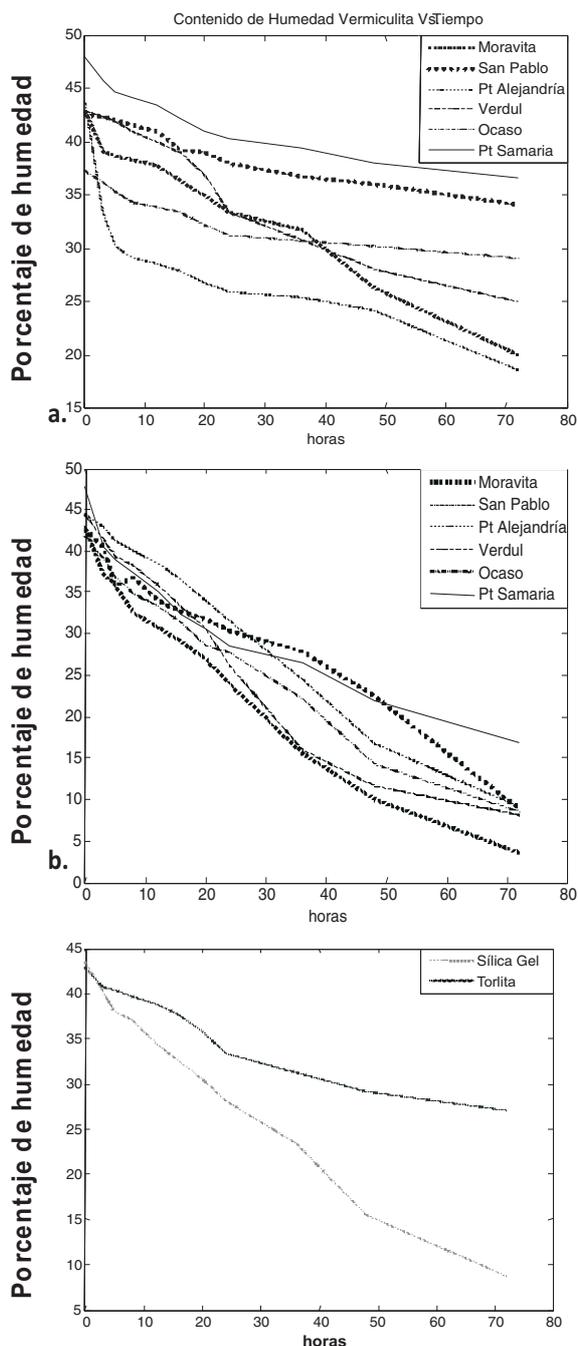


Figura 2. CH inicial de *G. americana* obtenido por los métodos de secado de sílica gel y torlita para los seis sitios de procedencia de las semillas. a. Secado con sílica gel. b. Secado con vermiculita. c. CH promedio.

Viabilidad

El PV inicial promedio obtenido por el método de Tinción con Tetrazolio para las semillas de *G. americana* fue de 75%

(Figura 3). Se presentaron los mayores valores de viabilidad en las semillas procedentes de San Pablo, Ocaso y Puerto Samaria. Esta prueba concordó con los porcentajes de germinación iniciales (75% de viabilidad y 78% de germinación).

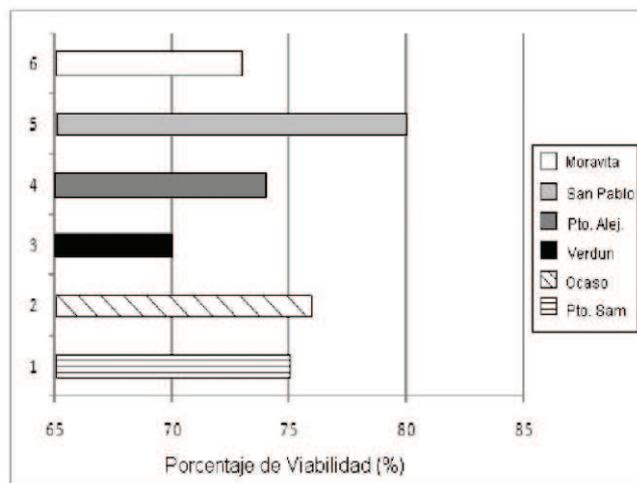


Figura 3. Porcentaje de viabilidad de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas.

Entre los problemas con esta especie, se ha reportado la rápida pérdida de viabilidad de sus semillas, lo que ha obligado a la siembra después de la remoción de sus frutos, a fin de obtener los mejores resultados de germinación (16).

Germinación

El PG inicial obtenido fue de 78.33% durante un periodo de 33 días; la TG promedio fue de 23 días y el IVG fue de 2 semillas por día (Figura 4).

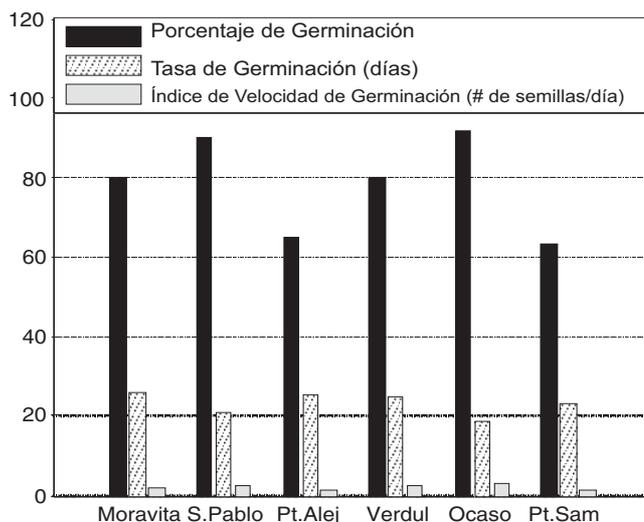


Figura 4. Prueba de Germinación Inicial de *G. americana* para los seis sitios de procedencia de las semillas

Las semillas que presentaron los mayores valores de PG

fueron las procedentes del Ocaso: 91.67 y 90% respectivamente; así mismo tuvieron el mayor IVG de aproximadamente 3 semillas por día. Las mayores TG se presentaron en las semillas de La Moravita (26 días) y Puerto Alejandría (25 días).

El PG y TG iniciales concuerdan con lo reportado por diversos autores en aspectos como el rango en el que se encuentra el porcentaje de germinación obtenido, el inicio de la germinación y el tiempo de finalización de la misma⁽¹⁷⁻¹⁸⁾; además reportes sobre el máximo de germinación obtenido a temperatura ambiente, con el sustrato papel secante y la exposición a la luz durante el día⁽¹⁴⁾.

La obtención de altos porcentajes de germinación de

semillas de *G. americana* con prealmacenamiento a contenidos de humedad entre 47 y 19%, en el secado con torlita y decreciendo por debajo del 50% en el secado con sílica gel a un contenido de humedad menor a 9%, indica que requieren de humedad superior al 10% para su germinación.

Pruebas de almacenamiento

Se obtuvieron valores entre 6.03 y 46.63 % de CH (Tabla 6). El ANOVA del CH muestra que existen diferencias significativas para los factores: sustrato y tiempo de almacenamiento (Tabla 2, figura 5).

Los porcentajes más altos de CH para las semillas se presentaron almacenándolas en torlita con temperaturas

Tabla 2. ANOVA para el CH de semillas de *G. americana*

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

* Significativo al 0.95%

Tabla 3. DMS para la comparación de medias de factores para el CH de semillas de *G. americana*

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

*Diferencias significativas al 0.95%

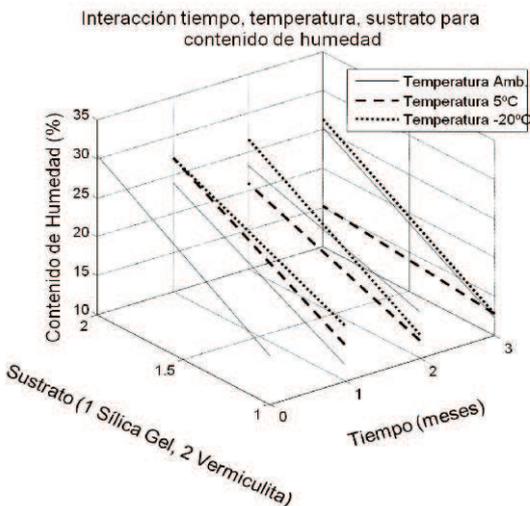


Figura 5. Interacción de 2º orden entre 3 factores: Tiempo, sustrato y Temperatura para el CH de semillas de *G. americana*

La prueba de DMS muestra que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el grupo correspondiente a un CH promedio de 26% obtenido con torlita y B el grupo con un CH de 14% obtenido por secado con sílica gel (Tabla 3).

El secado de semillas de la especie a un CH crítico entre 9-6% resulta en decrecimiento en PG, al igual que en CH entre 38-42%. Mientras que cuando se almacena a temperatura ambiente a 11% de contenido de humedad la germinación se mantiene⁽¹⁵⁾.

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

Por otra parte, se ha reportado que en el secado de las semillas que toleran desecación parcial deben considerarse,

además del grado más pequeño de humedad segura, el grado de humedad crítico y el grado de humedad letal para cada especie; ya que puede ocurrir sensibilidad a la desecación entre diferentes lotes de la misma especie⁽¹⁹⁾.

El CH promedio de las semillas luego del secado, alcanzó aproximadamente el 10% el cual es considerado adecuado para que las semillas se conserven viables al menos a corto plazo.

En la prueba de viabilidad se obtuvieron valores entre el 10% y el 80% de PV, con un promedio de 42%. Para las semillas almacenadas a 5 y -20°C hubo dificultad en la evaluación de las estructuras del embrión por la coloración poco intensa de los tejidos a una concentración de tetrazolio al 0.1%. El ANOVA para el PV exhibe diferencias significativas para los factores Temperatura y Tiempo y para las interacciones de primer orden: Sustrato-Temperatura y Temperatura-Tiempo (Tabla 4).

Tabla 4. ANOVA para el PV de semillas de *G. americana*.

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

*Significativo al 0.95%.

La viabilidad de las semillas es mayor para el almacenamiento a temperatura ambiente en torlita; la menor viabilidad se registró en el almacenamiento a -20°C de temperatura y se evidencia como va disminuyendo a medida que transcurre el tiempo (Figura 6).

Se ha registrado que almacenadas en condiciones ambientales las semillas de *G. americana* conservan su viabilidad por dos meses⁽¹⁷⁾, lo que se asemeja con los resultados obtenidos.

Se puede inferir que la combinación de temperatura de 5°C con alto CH deteriora la calidad de las semillas almacenadas

y que las semillas son sensibles a bajas temperaturas; pues en esta investigación la viabilidad obtenida en almacenamiento a -20°C fue inferior al 50%.

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

De acuerdo a lo anterior, la baja viabilidad de muchas semillas y la poca concordancia de ésta prueba con la de germinación pudo deberse a la concentración de tetrazolio, que quizá estuvo muy alta para la especie; ya que existen registros de mejores patrones de tinción cuando se utilizan concentraciones de 0.05% en vez de 1% (16,20-21).

En la prueba de germinación se obtuvieron valores de PG entre 0-100%; la TG varió entre 23 a 33 días y el IVG fue inferior a 1 semilla por día. El ANOVA para la variable PG, muestra diferencias significativas para los factores e interacciones entre factores (Tabla 5).

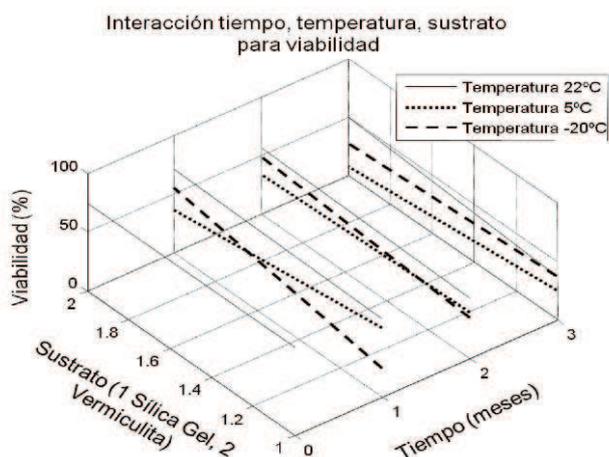


Figura 6. Interacción de 2º orden entre 3 factores: Tiempo, sustrato y temperatura para el PV de semillas de *G. americana*.

Tabla 5. ANOVA para el PG de semillas de *Genipa americana*.

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

*Significativo al 0.95%.

Los porcentajes más altos de germinación para las semillas almacenadas se presentaron con torlita a temperatura ambiente (Figura 7).

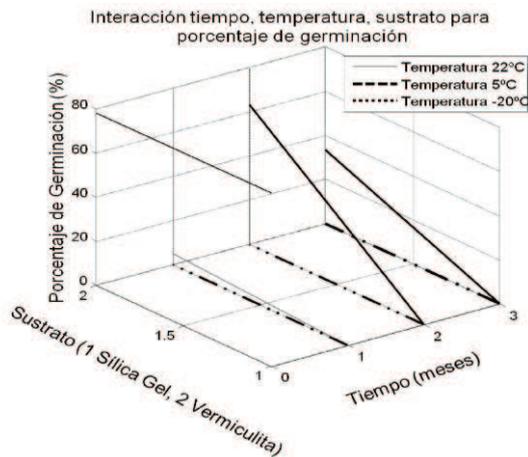


Figura 7. Interacción de 2º orden entre 3 factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el PG de semillas de *G. americana*.

Tabla 7. ANOVA para la TG de semillas de *G. americana*.

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

*Significativo al 0.95%.

La prueba de DMS para el PG de las semillas evidencia que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el correspondiente al 28% de PG después del almacenamiento con torlita y B el 20% de PG obtenido con sílica gel (Tabla 6).

Tabla 6. DMS para la interacción de factores en el PG de semillas de *G. americana*.

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

*Diferencias significativas al 0.95%

El ANOVA de la TG reveló diferencias significativas para todos los factores e interacciones entre éstos (Tabla 7).

La TG es mayor cuando se almacena con torlita a temperatura ambiente (Figura 8).

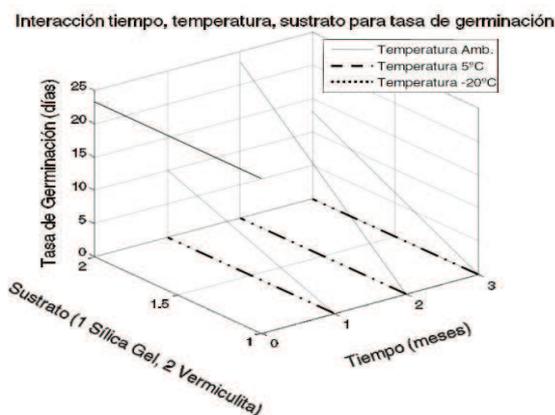


Figura 8. Interacción de 2º orden entre 3 factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para la TG de semillas de *G. americana*.

La prueba de DMS para la TG de las semillas muestra que los grupos A y B son significativamente diferentes uno del otro, siendo A el

valor promedio de tasa de germinación de 31 días para silica Gel y 29 días para torlita (Tabla 8).

Tabla 8. DMS para la interacción de factores en la TG de semillas de *G. americana*.

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

*Diferencias significativas a

El ANOVA del IVG, muestra diferencias significativas para todos los factores y para la interacción de primer orden: Sustrato-Temperatura (Tabla 9). El IVG durante el almacenamiento presenta valores inferiores a 1 semilla por día (Figura 9).

Tabla 9. ANOVA para el IVG de semillas de *G. americana*.

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

*Significativo al 0.95%.

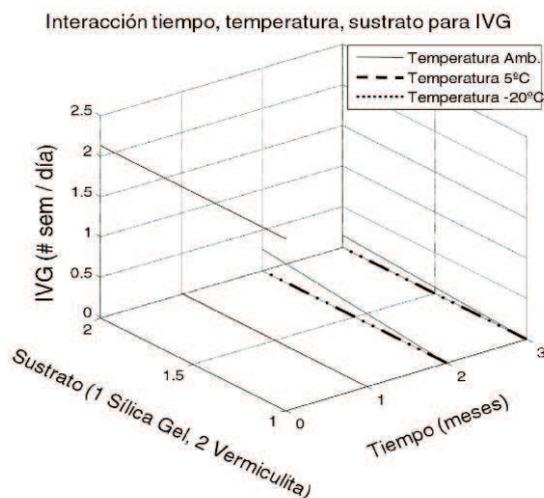


Figura 9. Interacción de 2º orden entre 3 factores: Tiempo, sustrato y temperatura de almacenamiento para el IVG de semillas de *G. americana*.

En general, las semillas presentaron alta contaminación fúngica asociada a la humedad en el almacenamiento, ya que las semillas almacenadas a baja temperatura con el sustrato torlita aumentaron su humedad interna, elevándose el ataque fúngico. Para el caso del sustrato sílica gel, el CH estuvo por debajo del 10% en varios casos, por lo que la viabilidad de las semillas se redujo y no germinaron.

La combinación de tratamientos sustrato-temperatura de almacenamiento en los que hubo germinación de semillas fue torlita a temperatura ambiente y sólo para este caso la contaminación por hongos fue escasa.

Se ha mencionado que la temperatura óptima para germinación de las semillas de *G. americana* extraídas de frutos inmaduros y de frutos maduros se encuentra en la franja de 22°C a 31°C⁽²¹⁾.

La germinación durante el almacenamiento fue nula a -20°C, lo que indica que las semillas son sensibles a la conservación a esta temperatura. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores⁽¹⁵⁾.

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

Con respecto a lo anterior, se ha reportado que existe ocurrencia de hongos y es independiente de la procedencia de los frutos; además, la mayoría de los hongos patógenos está asociada a las semillas procedentes de frutos maduros y pueden afectar interna o externamente la semilla⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

La incidencia de hongos xerotolerantes y de aquellos de campo en semillas *G. americana* puede ser atribuida a contaminación por transmisión sistémica de la planta madre y vía estigma durante la floración y su localización en tejidos intra-seminales⁽¹⁵⁾. Lo anterior debido a que si los hongos se presentaran externamente, la desinfección superficial con hipoclorito de sodio, probablemente los habría eliminado.

Para *G. americana* las bajas temperaturas no son las adecuadas para los niveles máximos de su germinación, además provocan un ambiente propicio para la proliferación de hongos xerotolerantes.

Se ha reportado que las semillas de *G. americana* pueden ser parcialmente desecadas, sin embargo pierden gradualmente la viabilidad durante el almacenamiento a corto plazo en bajas temperaturas⁽¹⁴⁻¹⁵⁾, lo que se confirma en la presente investigación.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en la literatura⁽¹⁵⁾, pues, en general, las semillas de *G. americana* se conservan mejor a temperatura ambiente en un CH por encima del 10%. Existe una interacción entre la temperatura y el CH de la semilla; de ambos depende su buena conservación, ya que la temperatura influye en la absorción de humedad, durante el almacenamiento.

Por otra parte, con respecto al sustrato para control de humedad, se encontró que el mejor sustrato correspondió a la torlita, pues no permite que la humedad disminuya por debajo del contenido crítico (menos del 10%).

Los resultados sugieren que las semillas de *G. americana* presentan comportamiento intermedio en el almacenamiento, soportando la desecación en contenidos de humedad próximos a 10% y no toleran el congelamiento; como lo mencionan algunos autores⁽¹⁴⁻²¹⁾.

CONCLUSIONES

- ✓ El potencial germinativo de la especie puede mantenerse a corto plazo en almacenamiento a temperatura ambiente, utilizando torlita para controlar la humedad.
- ✓ Las semillas almacenadas a baja temperatura y alto contenido de humedad son más vulnerables al deterioro por contaminación fúngica.
- ✓ El comportamiento de almacenamiento de *G. americana* con respecto a la temperatura y el contenido de humedad corresponde al de una semilla intermedia.
- ✓ Las semillas de *G. americana* deben almacenarse con un contenido de humedad por encima del 10% y en temperatura ambiente para conservar su viabilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores del proyecto agradecen a:

- Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío (CIBUQ). Instalaciones, equipos, insumos y material de campo.
- Reserva Natural La montaña del Ocaso. Apoyo logístico.
- Jamid Escobar y Leider Suárez. Guardas selvas del Ocaso.
- M. Sc. Rocío Stella Suárez R y Asp. M. Sc. Lina Marcela Arbeláez Arias. Por su asesoría durante el desarrollo de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vázquez-Yanes, C. & M. Rojas, A. *Ex Situ* Conservation of Tropical Rain Forest Seed: Problems and Perspectives. *INTERCIENCIA* 21(5). p. 293-298. 1996. URL: <http://www.interciencia.org.ve>.
2. Iriondo, A. J.M. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* Vol. 16 (1). 20 p.2001.
3. Jøker, D., DFSC, Salomão, N. A., Vasquez, C. Y W. Vásquez, CATIE. *Genipa americana* L. 2003. Seed Leaflet. No.67. 2003.
4. Mendoza, H., Ramírez, B. & L.C. Jiménez. Rubiaceae de Colombia-Guía ilustrada de géneros. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá. Colombia. 351 p. 2004.
5. Andrade, A.C.S., Souza, A.F, Ramos, F.N., Pereira, T.S. & A.P.M. Cruz. Germinação de sementes de Jenipapo: Temperatura, sustrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.35, n.3. p.609-615. 2000.
6. Arias, V.A, Gómez, G. & C. Agudelo. En: Riqueza Biótica Quindiana. Compilado por C.H. Agudelo, H. Editorial Universidad del Quindío, 421 p. 2006.
7. Orozco, C. A. F & G. D. Gómez. Fenología de especies forestales En: Riqueza Biótica Quindiana, Capítulo II Editorial Universidad del Quindío. 2006. 421p. En: Riqueza Biótica Quindiana.
8. Orozco, C. A. F., Arias V.A. & L.G. Mejía. Fenología de *Anacardium excelsum*, *Rollinia membranacea* y *Genipa americana* en la Reserva del Ocaso, Quimbaya – Quindío. Trabajo de Grado. (Licenciatura en Biología) Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Biología y Educación Ambiental. 117 p. 2002.
9. Oficina para la Coordinación de Asuntos Humanitarios / Naciones Unidas Colombia. OCHA. [en línea] Página Web versión HTML. Bogotá, Colombia: (s.e.), 2006. [citado 12 de Agosto de 2009]. Disponible en Internet: <<http://www.colombiassh.org/site/spip.php?article27>>.

- 152 - Almacenamiento de semillas de *Genipa americana*

10. Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Novell & M. Larinde. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia. 165 p. 2007.
11. Maguire, J. Speed of germination – Aid in selection and evaluation for seedling emergency and vigor. *Crop Science* 2:176. 1962.
12. Gómez, T.J., Jasso, M.J., Vargas, H.J.V. & M.R. Soto H. Deterioro de semilla de dos procedencias de *Swietenia macrophylla* King., bajo distintos métodos de almacenamiento. *Ra simhai*, enero-abril, vol 2 (001). Universidad Autónoma Indígena de México. El Fuerte México. p. 223-239. 2006.
13. Gómez, C.C. A guide to efficient long term seed preservation. Monographs ETSIA, Univ. Politécnica de Madrid 170. p. 1-17. 2007.
14. Salomão, A.N. Desiccation, storage and germination of *Genipa Americana* seeds. En: Sacandé, M., D. Joker, M.E. Dulloo & K.A. Thomsen. Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 363 p. 2004.
15. Salomão, A.N. & L. S. Padilha. Avaliação preliminar da germinabilidade e da micoflora associada às sementes de *Genipa americana* em diferentes estágios de maturação. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, (Série Embrapa - Circular Técnica 50). 9 p. 2006.
16. Nascimento, W.M.O. & N. M. Carvalho. Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Campinas, v.20, n.2. p. 470-474. 1998.
17. Salazar-Figueroa, R. *Genipa americana* Linnaeus. Nota Técnica sobre Manejo de Semillas Forestales CATIE no. 72. Editorial Turrialba, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), CR. 2 p. 1999.
18. Agudelo, H.C.A, Orozco, C.A.F & G.D. Gómez M. Banco de Germoplasma de especies forestales del departamento del Quindío. *Revista de Investigaciones* No. 16. Universidad del Quindío. Armenia. p 81-92. 2006
19. Fonseca, S.C. L. & H. B. Freire. Sementes Recalcitrantes: Problemas na pós colheita. Artigo de revisão. *Bragantia*, Campinas, v.62, n.2. p. 297-303. 2003.
20. Ferreira, R.A., Oliveira, L.M., Tonetti, O.A.O. & A.C. Davide. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (VELL.) Blake – Leguminosae Caesalpinoideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 29, nº 3. p.83-89. 2007.
21. Silva, D.B., Salomão, A.N., Carvalho, P.C.L. & M.M.V.S. Wetzel. Jenipapo. En: Vieira, R. F. (ed.) Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. p. 304-322. 2006.
22. Acero, F.P.A. Análisis y Ensayos de Almacenamiento para semillas de *Hymenaea courbaril* y *Enterolobium cyclocarpum* del Quindío. Trabajo de grado (Licenciado en Biología). Universidad del Quindío. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Programa de Licenciatura en Biología. 150 p. 2005.
23. Vázquez, Y.C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M.E. & V.Cervantes. La reproducción de las plantas: Semillas y Meristemas. La ciencia para todos, Nº 157. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 1ª ed. 166 p. 1997.