

ESTUDIOS EN FISIOLÓGÍA DE SEMILLAS DE *Pouteria lucuma* (R & P)
SAPOTACEAE “Mediacaro”

MARTHA LUCIA E. BOLAÑOS SILVA

TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
Para optar al título de

BIÓLOGA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOLOGÍA
Bogotá, D. C.
(Octubre de 2007)

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

ESTUDIOS EN FISIOLÓGÍA DE SEMILLAS DE *Pouteria lucuma* (R & P)
SAPOTACEAE “Mediacaro”

MARTHA LUCIA E. BOLAÑOS SILVA

APROBADO

Claudia Ramírez Sandoval MSc
Directora

William Escobar T. I.A MSc
Codirector

Lliscel J. Peña Jiménez BSc
Jurado

Marco Cabezas Gutiérrez I.A MSc
Jurado

ESTUDIOS EN FISIOLÓGÍA DE SEMILLAS DE *Pouteria lucuma* (R & P)
SAPOTACEAE “Mediacaro”

MARTHA LUCIA E. BOLAÑOS SILVA

APROBADO

Ángela Umaña Muñoz MPhil
Decana Académica
Facultad de Ciencias

Andrea Forero
Directora
Carrera de Biología

A mi angelito de la guarda, a mi papá Hugo y a mis abuelos Toto y Cecilia, por cuidarme desde el cielo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por mostrarme siempre el camino correcto y porque durante éste tiempo éstas personas que me ayudaron de una u otra forma les debo mi gratitud.

A mi mamá Tica por darme todo lo que esta a su alcance, por enseñarme los valores que me ayudaron a llegar donde estoy y porque gracias a eso llegaré muy lejos.

A mis hermanos Ana María y Tomás Bolaños Silva, por que gracias a ellos y sus profesiones contribuyeron en gran medida en mi conocimiento y en lo que soy como persona.

A la Unidad de Biotecnología Vegetal de la Pontificia Universidad Javeriana por prestarme sus instalaciones para la realización del trabajo. A Jorge y Nixon por su colaboración.

Al Centro de Investigaciones y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos (CIEBREG) por permitirme trabajar con ellos y por el apoyo económico prestado.

A Claudia Ramírez Sandoval investigadora y profesora de la Unidad de Biotecnología Vegetal, por la confianza y enseñanzas durante gran parte de la carrera y en la realización de este trabajo.

A William Escobar por la ayuda en el montaje del trabajo y por sus enseñanzas.

A Loyla Rodríguez por sus consejos y ayuda con el documento final.

A Félix Fernández por permitirme recolectar el material en La Reserva Natural Privada el Secreto. A su familia por ayudarme en lo que necesité durante mi estadía.

A Fernando Bernal y Ferney Fernández por prestarme su ayuda en la recolección de los frutos.

A Rafael Sierra por permitirme trabajar en las instalaciones de Geoambiente y a Cesar por la colaboración en la estación Las Chilacas.

A Francisco Sánchez por su asesoría y orientación en el análisis estadístico.

A todas las niñas del laboratorio, Diana Espinosa, Andreita Barrera, Marcela Tamayo Erika Tovar y Lliscel Peña, por brindarme su ayuda en el momento que lo necesité.

A Andrés Pérez por su cariño, ayuda, apoyo y consejos durante la realización del trabajo.

A Viviana Rojas por escucharme y apoyarme durante 17 años de mi vida. A Ángela Moreno por su apoyo y colaboración.

A Ricardo Botero, Juan Pablo Botero y Carito Barón por regalarme su amistad y por haber estado conmigo durante toda la carrera.

A Migue, Cata, El Paisa, Pablo, Fiore, Bruce, Lex, Lula, porque con ellos compartí momentos agradables.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE ANEXOS	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	xix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEORICO	2
2.1 Generalidades <i>Pouteria lucuma</i>	2
2.1.1 Taxonomía	2
2.1.2 Descripción botánica	2
2.2 Aspectos ecológicos	5
2.2.1 Origen y distribución	5
2.3 Usos	6
2.4 Composición nutricional	6
2.5 Plantaciones	7
2.5.1 Cosecha	8
2.6 Fenología	8
2.7 Anatomía y morfología de la semilla	9
2.7.1 La semilla	9
2.7.1.1 Embrión	10
2.7.1.2 Cotiledones y tipos de germinación	10
2.7.1.3 Endospermo y perispermo	11
2.7.1.4 Cubiertas	11
2.8 Fisiología de semillas	13
2.8.1 Germinación	13
2.8.2 Fisiología de la germinación	13
2.8.2.1 Temperatura	14

2.8.2.2 Humedad	14
2.8.2.3 Oxígeno	14
2.8.2.4 Luz	15
2.8.3 Acumulación de reservas	15
2.8.4 Fisiología de la imbibición y reactivación del metabolismo	17
2.8.4.1 Eventos metabólicos	18
2.8.4.2 Extensión de la radícula y culminación de la germinación:	19
2.8.5 Dormancia	21
2.8.5.1 Tipos de dormancia	21
2.9 Madurez de frutos y semillas	22
2.9.1 Madurez de frutos	22
2.9.2 Desarrollo de las semillas	25
2.10 Prueba de viabilidad para las semillas	26
2.11 Contenido de humedad	27
2.12 Sustratos para la germinación	29
2.12.1 Turba	29
2.12.2 Papel de germinación	30
2.12.3 Perlita	30
2.12.4 Vermiculita	31
2.12.5 Cascarilla de arroz	32
2.12.6 Arena	32
3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	32
3.1 Problema	32
3.2 Preguntas de investigación	33
3.3 Justificación	33
4. OBJETIVOS	35
4.1 Objetivo General	35
4.2 Objetivos específicos	35
5. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1 Diseño de la investigación	35

5.1.1 Área de estudio	37
5.1.2 Reserva Forestal de Bremen, La Popa	37
5.1.3 Reserva Natural Privada El Secreto.....	37
5.1.1.1 Población de estudio y muestra.....	38
5.1.2 Variables de estudio	38
5.2 Métodos	40
5.2.1 Objetivo 1: Describir algunas características de la floración y fructificación de los árboles de las poblaciones de <i>Pouteria lucuma</i> en la Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío) y la Reserva Natural Privada El Secreto (Boyacá)	42
5.2.2 Objetivo 2: Caracterizar morfológicamente los frutos y las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> en diferentes grados de madurez	44
5.2.2.1 Extracción de las semillas.....	44
5.2.3 Objetivo 3: Caracterizar fisiológicamente las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> en diferentes grados de madurez del fruto	45
5.2.3.1 Contenido de humedad	45
5.2.3.2 Curva de imbibición.....	46
5.2.3.3 Prueba de viabilidad	46
5.2.4 Objetivo 4: Evaluar el efecto del grado de madurez de los frutos en la germinación de las semillas de <i>Pouteria lucuma</i>	46
5.2.4.1 Pruebas de germinación	46
5.2.4.1.1 Sustrato tierra-turba.....	46
5.2.4.1.2 Sustrato papel de germinación.....	47
5.3 Recolección de la información	48
5.4 Análisis de la información	49
5.4.1 Caracterización morfológica.....	49
5.4.2 Contenido de humedad	49
5.4.3 Imbibición y viabilidad	49
5.4.4. Germinación	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
6.1 DESCRIPCIÓN DE LAS POBLACIONES DE <i>Pouteria lucuma</i>	50

6.2 DESCRIPCION DE FRUTOS Y SEMILLAS DE <i>Pouteria lucuma</i>	55
6.2.1 Morfología de frutos	55
6.2.2 Morfología de semillas	56
6.2.2.1 Anatomía de las semillas de <i>Pouteria lucuma</i>	56
6.2.3 Caracterización de frutos y semillas de <i>Pouteria lucuma</i> con base en aspectos morfológicos	58
6.2.3.1 Tipos de frutos	59
6.2.3.2 Tipos de semillas	63
6.3 CONTENIDO DE HUMEDAD	65
6.3.1 Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC)	65
6.4 CURVA DE IMBIBICIÓN	68
6.4.1 Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB)	68
6.5 PRUEBA DE VIABILIDAD	70
6.5.1 Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB)	70
6.6 PRUEBA DE GERMINACIÓN	73
6.6.1 Germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en condiciones de vivero	73
6.6.2 Germinación de semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y edocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio	76
7. Conclusiones:	85
8. Recomendaciones:	85
9. Bibliografía:	87
10. Anexos:	99

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Factor de diseño y niveles evaluados en el estudio de fisiología de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> .	36
Tabla 2. Número de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> utilizadas la caracterización fisiológica, por prueba, por tipo de fruto y número de repeticiones.	41
Tabla 3. Características de los individuos monitoreados de <i>Pouteria lucuma</i> en Bremen, La Popa (Quindío) y El Secreto (Boyacá).	51
Tabla 4. Características morfológicas de frutos de <i>Pouteria lucuma</i> en diferentes grados de madurez. Tipos de frutos: endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).	60
Tabla 5. Características morfológicas de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos en diferentes grados de madurez. Tipos de semillas: testa gris (TSA), testa blanca (TSB) y testa transparente (TSC).	63
Tabla 6. Contenido de humedad de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).	65
Tabla 7. Patrones de tinción para interpretar los resultados de la prueba de tetrazolio en semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB).	72
Tabla 8. Análisis de varianza para los índices de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.	74
Tabla 9. Resultados de la prueba de Duncan para los índices de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.	75
Tabla 10. Análisis de varianza para los índices de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.	78

Tabla 11. Resultados de la prueba de Duncan para los índices de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio. 78

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Copa de árboles de <i>Pouteria lucuma</i> .	43
Figura 2.	Fuste de árboles de <i>Pouteria lucuma</i> .	43
Figura 3.	Escalador y equipo para ascender a los árboles.	44
Figura 4.	Plántulas y plantas de Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> sembradas en bolsas plásticas en vivero.	47
Figura 5.	Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> colocadas en papel de germinación (Seedburo Kimpack Paper ®).	48
Figura 6.	Semilla de <i>Pouteria lucuma</i> (A) germinada en papel de germinación (Seedburo Kimpack Paper ®), (B) semilla germinada en sustrato Tierra-Turba.	49
Figura 7.	Frutos y semillas de <i>Pouteria lucuma</i> , (A) provenientes de la Reserva el Secreto (Boyacá) y (B) provenientes de la Reserva Bremen, La Popa (Quindío).	54
Figura 8.	Frutos y semillas de <i>Pouteria lucuma</i> . (A) partes del fruto. (B) semillas dentro del fruto.	56
Figura 9.	Anatomía de la semilla de <i>Pouteria lucuma</i> . A. Semilla completa. B. Vista frontal y C. Vista lateral.	57
Figura 10.	Estructuras de las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> .	57
Figura 11.	Dendograma de la caracterización de 30 individuos de <i>Pouteria lucuma</i> .	59
Figura 12.	Frutos de diferentes tamaños y flores de <i>Pouteria lucuma</i> .	61
Figura 13.	Tipos de frutos de <i>Pouteria lucuma</i> en diferentes grados de madurez, endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).	63
Figura 14.	Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos en diferentes grados de madurez, testa gris (TSA), testa blanca (TSB) y testa transparente (TSC).	64
Figura 15.	Semillas de <i>Pouteria lucuma</i> almacenadas al ambiente.	66

Figura 16.	Curvas de imbibición de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB).	68
Figura 17.	Testa de la semilla de <i>Pouteria lucuma</i> .	70
Figura 18.	Curva de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.	74
Figura 19.	Curva de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.	77
Figura 20.	Índices de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.	81
Figura 21.	Plantas de <i>Pouteria lucuma</i> provenientes de semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) germinadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.	84

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Cuadro resumen de la metodología realizada con frutos y semillas de <i>Pouteria lucuma</i> .	99
Anexo B. Ficha de campo (Tomado de Pedrozo 2004).	100
Anexo C. Fitotrón (La-Line ®, REF. 844), cámara donde se mantuvieron las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®).	101
Anexo D. Prensa mecánica con la que se extraían las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> del endocarpo.	101
Anexo E. Recipientes en que fueron colocadas las semillas de <i>Pouteria lucuma</i> .	102
Anexo F. Formato para las lecturas de germinación.	102
Anexo G. Formato para consolidado de los índices de germinación.	102
Anexo H. Formato para la prueba de imbibición.	102
Anexo I. Formato para la prueba de viabilidad.	103
Anexo J. Formato para el contenido de humedad.	103
Anexo K. Análisis de varianza (ANOVA) y prueba de DUNCAN para los resultados de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.	103
Anexo L. Análisis de varianza (ANOVA) y prueba de DUNCAN para los resultados de germinación de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo Kimpackpaper ®) en laboratorio.	110

RESUMEN

Pouteria lucuma (R & P), conocida comúnmente como Mediacaro, es una especie forestal nativa con potencial económico, por sus usos para reforestación, recuperación de cuencas hidrográficas, alto valor maderable y propiedades etnobotánicas, ya que sus frutos y semillas se utilizan como alimento y en la medicina tradicional. Por sus características y el alto riesgo de extinción (VU) al que esta sometida, se hace necesario definir alternativas de propagación y conservación.

El Centro de Investigaciones y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos (CIEBREG), ha venido desarrollando proyectos enfocados en conocer, valorar y desarrollar el potencial estratégico de los bienes y servicios ecológicos de la biodiversidad, a partir del conocimiento tradicional y de la investigación para el desarrollo sostenible de paisajes rurales (naturales y transformados), diversificados y funcionales, en La zona Cafetera Central, Complejo Ecoregional de los Andes del Norte.

En el marco del proyecto mencionado, se ha trabajado en el diseño de estrategias de propagación y conservación de especies forestales entre las cuales se encuentra *Pouteria lucuma* (Mediacaro).

Para la comparación de los individuos de poblaciones de *Pouteria lucuma* ubicadas en La Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío) y en La Reserva Natural Privada el Secreto (Boyacá), se realizó la descripción de algunas características de floración y fructificación, cantidad y altura de los árboles y número aproximado de frutos por individuo y se colectaron frutos, semillas y la muestra botánica de los árboles.

En La Reserva Forestal de Bremen en el tiempo en que se realizó el estudio (2006-2007), la cosecha no fue satisfactoria por lo que el material se recolectó en La Reserva Natural Privada El Secreto (Boyacá). Por medio de la caracterización morfológica de frutos y semillas se determinaron tres grados de madurez, para los frutos: TFA (maduro), TFB (premaduro) y TFC (inmaduro); y para las semillas: TSA

(madura), TSB (premadura) y TSC (inmadura). También, se realizó la descripción anatómica de las semillas.

En cuanto a la caracterización fisiológica, el contenido de humedad, permite sugerir que las semillas de *Mediaca* son recalcitrantes. Las características morfológicas de la testa influyeron en las pruebas de imbibición y germinación. A partir de los porcentajes de viabilidad y de germinación se estableció que las semillas analizadas bajo las condiciones de este estudio no presentaron dormancia. Las condiciones de siembra y mantenimiento del material producido inciden en la velocidad de germinación.

Los resultados obtenidos en esta investigación aportan al conocimiento de la fisiología de semillas de *Pouteria lucuma* y se constituyen en una base importante para agricultores y entidades de fomento forestal como La Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ), que adelantan estudios en esta especie, enfocados en la fenología y propagación sexual, con el fin de explotar de manera sostenible la madera sin generar un impacto negativo en las poblaciones de bosques como el que se encuentra en La Reserva Forestal de Bremen, La Popa (Quindío).

Palabras claves: CIEBREG, especies forestales, frutos, germinación, grados de madurez, semillas, propagación sexual, viabilidad.

ABSTRACT

Pouteria lucuma (R& P) commonly known as Mediacaro, is a native woody species with economic potential due to its suitability for reforestation and ecological restoration as well as its ethno-botanical properties, due to the seeds and fruits are used as food and traditional medicine. Due to its characteristics and its high threat category (VU), defining new alternatives for propagation and conservation are an important matter.

The Biodiversity studies and Genetic Resources Investigation Center (CIEBERG in Spanish) has developed research projects focusing on knowledge, value and developing strategic potential of goods and ecological services in biodiversity, through the traditional knowledge and research for the sustainable use of rural landscapes (natural and transformed) diversified and functional in the coffee-growing region as a part of the ecoregional complex of the Northern Andes.

The aim of this study as part of the main project was to contribute to the design of propagation and conservation strategies on woody species *P. lucuma* (Mediacaro), through the description of some biological characteristics: blooming, fructification, tree quantities, the average number of fruits per individual. I compare the population individuals located in the Nature Reserve of Bremen, La Popa (Quindío) and the Private Nature Reserve El Secreto (Boyacá) at this sites botanical samples and seeds and fruits were also collected.

At the site of Bremen at the time of this project (2006-2007) the harvest wasn't satisfactory, therefore the material was only collected from the private natural reserve of El Secreto (Boyacá). Through morphological characterization analysis of the fruits and seeds three maturity stages were established, for the fruits: TFA (mature), TFB (intermediate) and TFC (immature) and for the seeds TSA (mature), TSB (intermediate) and TSC (immature) as a complementary process, anatomical description of the seed was carried out.

The physiological characterizations of the moisture content of the seeds also suggest that *Medicago* is recalcitrant species. The morphological characterization of the testa influenced the germination and imbibition processes. From the percentage of viability and germination I established that seeds analyzed under this study conditions do not present dormancy. It is also important to mention that maintenance and sowing of the produced material affected the germination speed.

The results obtained in this study contribute to the knowledge of *Pouteria lucuma* seed physiology and constitute an important basis for agriculturists and forestry promotion institutions such as the Quindío Autonomal Regional Corporation (CRQ), that are developing studies on this species, focused on the phenology and sexual propagation, aimed at their sustainable exploitation without generating negative impacts on the natural populations such as the one located in the nature reserve of Bremen, La Popa (Quindío).

Key Words: CIEBERG, forestry species, fruits, germination, maturity stages, seeds, sexual propagation, viability.

1. INTRODUCCIÓN

Pouteria lucuma (Mediacaro), es una especie forestal nativa de América del Sur, originaria de la región Andina de Perú. Actualmente, se distribuye en Valles Interandinos entre los 1000 y los 3000 m.s.n.m, en Chile, Bolivia y Costa Rica (Lizana, 1990; Ugarte & Zaragoza, 2000). En Colombia, se encuentra en las regiones de Risaralda, Caldas, Tolima y Quindío (Muñoz, 2006). Es una especie con potencial económico por sus usos maderables, alimenticios y medicinales; además, posee buenas características para la reforestación y recuperación de nacimientos de ríos (Lizana, 1990; Jacobsen *et al.*, 2003).

Se ha descrito que procesos como la germinación de semillas y el crecimiento y desarrollo de plantas de *P. lucuma* son lentos, lo cual dificulta la propagación, limitando así, el aprovechamiento de la especie (Lizana, 1990; Padilla *et al.*, 2006). Por otro lado, el uso insostenible y la fragmentación de los bosques andinos (Jacobsen *et al.*, 2003), han hecho que en la actualidad el Mediacaro se encuentre en estado vulnerable (VU), es decir en riesgo de extinción a mediano plazo (CRQ, 2006; Muñoz, 2006).

El presente trabajo es una contribución al conocimiento y manejo de la fisiología de la germinación de semillas de *P. lucuma*, como estrategia para el diseño de protocolos de propagación sexual que puedan ser aplicados en programas de conservación, propagación y reforestación con especies forestales.

Este estudio se encuentra enmarcado dentro de las actividades del Centro de Investigaciones y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos (CIEBREG), el cual pretende definir estrategias de conservación y manejo de la biodiversidad en el Complejo Ecoregional de los Andes del Norte, para el aprovechamiento de especies con potencial forestal como *P. lucuma*.

2. MARCO TEORICO

2.1 Generalidades *Pouteria lucuma*

2.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Superorden: Ericanae

Orden: Ebanales

Familia: Sapotaceae

Género: *Pouteria*

Espécie: *Pouteria lucuma* (R & P).

Sinónimos: *Achras lucuma* Ruiz & Pavón, *Lucuma bifera* Molina., *Lucuma turbinata* Molina., *Lucuma biflora* Gmel., *Lucuma obovata* H.B.K., *Lucuma obovata* Var. Ruiz A.D.C., *Pouteria insignis* Baehni, Candollea y *Richardella lucuma* Ruiz & Pavón.

Nombres comunes: Mediacaro, Mediacara, lúcuma, maco, ojo de vaca, lucumo, lucmo, lucma, rucia, mamón.

2.1.2 Descripción botánica

Pouteria lúcuma, pertenece a la familia SAPOTACEAE, la cual es muy diversa y ecológicamente importante en tierras bajas, consiste de 31 géneros y cerca de 400 especies, fácilmente reconocible por la combinación de látex y hojas alternas dispuestas con frecuencia en espiral, con la parte baja del pecíolo más gruesa, con venas secundarias inconspicuas. El látex usualmente sale en gotas individuales por

cortes en el tronco y puede ser solo visible en el pecíolo. Otro carácter vegetativo es que las hojas salen bifurcadas y generalmente un “brazo” es más largo que el otro. Las hojas son siempre enteras y tienden a tener las venas secundarias paralelas y ligeramente juntas con las venas terciarias con frecuencia también paralelas y orientadas paralelamente a las venas secundarias o perpendicularmente a la vena media (Gentry, 1996).

Las flores y los frutos son altamente homogéneos. Pueden ser de color blanco, verde y rojo claro, las flores siempre son axilares o se encuentran en fascículos con los pétalos fusionados dentro de un pequeño tubo valvado o con lóbulos que pueden presentar dos apéndices laterales o bífidos, en la base, en algunos se encuentran libres. Los estambres están fusionados en la corola opuestos a los lóbulos, usualmente alternados con los estaminodios. Las anteras tienen la apertura longitudinal. En géneros como *Pouteria* los estaminodios son escasos. Las flores son actinomorfas, hermafroditas o algunas veces polígamas, presenta sépalos libres o más o menos connados, rara vez con brácteas cerca de ellos. Con ovario súpero algunas veces soportado por un disco de 1-12 celdas con 1 óvulo por celda, ubicado axilar, basal o apical, anátropo o hemianátropo, con un micrópilo inferior. Los frutos pulposos siempre son indehiscentes, usualmente redondos y nacen individualmente en pedicelos cortos o sésiles, en las axilas de las hojas o a lo largo de las ramas. Las semillas son especialmente características con la superficie de color café oscuro brillante, en el género *Pouteria* la semilla está lateralmente comprimida con una cicatriz pequeña y cotiledones foliáceos. La taxonomía genérica de la familia SAPOTACEAE ha sido muy caótica y las características de los individuos que constituyen los diferentes géneros se basan principalmente en caracteres florales o frutales (Pulle, 1932; Gentry, 1996).

El género *Pouteria* tiene aproximadamente 188 especies, es el mayor género de SAPOTACEAE y es altamente polimórfica. Todas las especies presentan las hojas dispuestas en espiral con el pecíolo más grueso y la venación varía entre ellas (Gentry, 1996). Las flores están en fascículos terminales, generalmente hermafroditas, raramente polígamas 4-5 sépalos, 4-6 pétalos lobulados, enteros, imbricados o muy raramente valvados; los estaminodios son en igual número que los pétalos, ovados, triangulares o más o menos como escamas, 4-6 estambres. Ovario de 1-8 celdas. Los frutos son variables en tamaño, consistencia y número de semillas. Las semillas no son comprimidas, pueden ser lisas, corrugadas, el hilo y el micrópilo siempre están distantes, albumen raramente presente, los cotiledones son convexos, generalmente caducas punctiformes o más o menos cónicas (Pulle, 1932).

Los aspectos morfológicos del género son pocos conocidos y los de la especie aún más, sin embargo según García-Barriga (1978) *P. lucuma* es afín a *P. officinalis* especie que él reportó y describió como nueva especie para Colombia. Aunque difieren en el tamaño de las hojas, el color y tamaño de la corola, la disposición de los estaminodios, el ovario y el tamaño de los frutos y semillas, se asemejan en que el fruto es globoso u ovoide, ápice con el estilo persistente, base plana con los sépalos persistentes aún en el fruto maduro; epicarpo apergaminado de color amarillo o café, con pustulillas más oscuras, mesocarpo cremoso, esponjoso, inodoro, 14.8 cm. de alto, 14.8-14.9 cm. de diámetro, semillas 2-4 en cada fruto, 6.5 cm. de largo, 4-6.5 cm. diámetro (parte media), ovoideas, cara ventral plana y dorsal convexa, área umbilical muy amplia, rugosa hacia la carina y menos rugosa, casi lisa, hacia sus bordes que cubre toda la cara ventral y parte de la dorsal, quedando sólo un tercio de la semilla con la testa dura, lúcida, brillante de color castaño claro, cubierta por un arilo o ariloide. Por otro lado, Según Pennington (1990), el embrión presenta cotiledones plano, convexos y las semillas no poseen endospermo.

Pouteria lucuma es de habito arbóreo de 12-20 m de altura, con diámetro de copa de 6-10 m. La copa presenta abundantes ramas, cuyos brotes internos tienen pubescencia

color marrón claro a marrón oscuro. Las hojas son alternas, lanceoladas u oblongas, elípticas u obovadas, con bordes ondulados en algunos cultivares, hasta 25 cm. de largo y 10 cm. de ancho, ápice obtuso o subagudo. Las hojas jóvenes son de colores verde claro y pubescentes; las hojas adultas se tornan glabras y de color verde oscuro brillante. Las flores son hermafroditas, pequeñas, verdes a marrón claro, poco vistosas y nacen en la axila de la hoja de grupos pequeños (Ugarte & Zaragoza, 2000).

El fruto es en forma de drupa esférica, cónica o comprimida basalmente, de 2-10 cm. de diámetro con exocarpo delgado de color verde a amarillo bronceado, generalmente en la parte apical, rodeada de una coloración plateada. El mesocarpo es de sabor y aroma muy agradable, color amarillo intenso y textura harinosa. El endocarpo es delgado pero duro y de color amarillo claro (Ugarte & Zaragoza, 2000). La germinación varía desde 25-90 días, lo cual depende de las condiciones climáticas (Lizana, 1990). Una de las características más importantes de la especie es la semilla, generalmente globosa y de hasta cinco centímetros de diámetro, con una cicatriz que cubre cerca de sus dos terceras partes, la parte restante es lisa y brillante de color café oscuro. Es una especie escasa, de lento crecimiento y productora de abundantes semillas consumidas por roedores, su madera es de buena calidad y se utiliza en ebanistería, siendo la principal razón para que sus poblaciones sean tan bajas; se le encuentra en interior de fragmentos de bosques hasta los 2000 m.s.n.m. (Vargas, 2002).

2.2 Aspectos ecológicos

2.2.1 Origen y distribución

Pouteria lucuma o Mediacaro es una especie forestal nativa de Sur América de la Región Andina de Perú, también se encuentra distribuida en Ecuador, Chile, Bolivia y Costa Rica. En Colombia, se encuentra en los departamentos de Risaralda, Caldas,

Tolima y Quindío (Muñoz, 2006), además, ha sido introducido en otras áreas de América del Norte y también en el Sur de La Florida (Lizana, 1990). Crece en Valles Interandinos de 1000 a 3000 m.s.n.m. Sin embargo, se han encontrado algunos individuos de Medicago a los 700 m.s.n.m., con una precipitación de 1000-1800 mm/año y temperaturas de 20-22°C (Pennington, 1990; Ugarte & Zaragoza, 2000).

2.3 Usos

Pouteria lucuma es una especie de uso maderero, con aptitudes para repoblación forestal, posee la madera más pesada de la zona cafetera. Es útil para la construcción y fabricación de artículos torneados. Por otro lado, es importante en diferentes procesos ecológicos ya que su semilla sirve de alimento para diferentes especies de la fauna silvestre, tales como ñeques, borugos y ardillas. En algunas áreas rurales las semillas maceradas en agua fría se usan como remedio anticonvulsivo (CENICAFE, 2003)

En Chile y Perú, *P. lucuma* es comercializada por la industria alimentaria. Los principales productos obtenidos de esta especie son la harina proveniente de la pulpa y su producción esta dirigida principalmente a las empresas dedicadas a la elaboración de helados. También, se comercializa en menor escala para empresas que elaboran bebidas, golosinas, repostería y pastelería. Además de ser utilizada en alimentación humana, también, es útil en la alimentación de pollos, ya que promueve tanto el crecimiento como la obtención de huevos con yemas de color amarillo brillante (Ugarte & Zaragoza, 2000).

2.4 Composición nutricional

El fruto es característicamente seco, harinoso. El contenido medio de humedad es de 64-72% con un alto valor en calorías (99-122 calorías). Contienen una alta cantidad de riboflavina, niacina y ácido ascórbico. Los azúcares que contiene el Mediacaro son

glucosa, fructosa, sacarosa e inositol aunque en estado inmaduro solo es detectable la sacarosa, incrementándose los demás azúcares durante el proceso de maduración. Una vez alcanzado el mayor grado de madurez, los azúcares en los frutos se presentan en las siguientes proporciones: glucosa (8.4%), fructuosa (4.7%), sacarosa (1.7%) e inositol (0.06%). También contiene ácido cítrico y ácido succínico (Lizana 1990).

2.5 Plantaciones

Aunque en Colombia no existen plantaciones comerciales, se encuentra reportado que en Chile, se desarrollan principalmente en dos zonas, Quillota (Valle del Río Aconcagua) y la Serena (Valle del Río Elqui), los cuales se encuentran influenciados por el océano. Dichas zonas cuentan con clima templado y se encuentran a 100 m.s.n.m. Reportes de estas zonas indican que las condiciones ambientales con respecto a la baja temperatura en las cuales se desarrollan *P. lucuma* (Mediacaro) y *Persea americana* (Aguacate), son bastante similares. El Mediacaro es tolerante a la baja temperatura, sin embargo, en climas más tropicales los frutos tienden a tener mayor tamaño (López, 1984 citado por Lizana, 1990).

En condiciones naturales el periodo juvenil es largo variando de 15 – 20 años. La germinación de semillas es lenta al igual que el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo cual limita el aprovechamiento de la especie. Los frutos pueden tardar hasta 12 meses para poder ser comercializados (Lizana, 1990; Padilla *et al.*, 2006). Sin embargo, en una investigación realizada por Saavedra (1975) citado por Lizana (1990), en la cual se aplicó ácido giberélico (AG) a las semillas durante 10 h y luego fueron sembradas a 26°C, se incrementó la respuesta germinativa y el tiempo de crecimiento de las plantas disminuyó.

Otras investigaciones enfocadas hacia la propagación vegetativa convencional o por cultivo *in vitro* no han resultado exitosos, puesto que en ambos métodos se han tardado hasta cuatro meses para la obtención de plántulas (Saavedra, 1975 citado por

Lizana, 1990). El primer reporte del estudio realizado por Padilla *et al* (2006) en el cual se evaluó el efecto de la inoculación de micorrizas relacionado con la aceleración en el desarrollo de plántulas de *P. lucuma*, dio como resultado la baja colonización y el tiempo de desarrollo de las plántulas no disminuyó (Padilla *et al.*, 2006).

2.5.1 Cosecha

La cosecha de los frutos depende del grado de madurez y este a su vez depende de las condiciones ambientales del área. Una característica de madurez comúnmente usada para la cosecha de los frutos es el cambio en el color del exocarpo (piel o cáscara). Esta característica esta basada en la relación entre el color y las actividades fisiológicas del fruto, tal como ocurre en el limón, bananas, papayas y otros frutos tropicales, en donde el cambio de verde a amarillo es muy notable (Popenoe, 1934 citado por Lizana, 1990). Sin embargo, esta característica no se puede usar efectivamente en frutos de *P. Lucuma*, debido a que, el cambio del color del exocarpo no se hace evidente o en ocasiones no se presenta, razón por la cual la cosecha se realiza cuando los frutos están cayendo de los árboles (Lizana, 1990).

2.6 Fenología

La fenología es el estudio del comportamiento de los estados del ciclo de vida de las plantas, los cuales están determinados por los cambios ambientales, especialmente la temperatura, debido a esto ocurren cambios fisiológicos observados externamente en periodos de tiempo específicos. Son diversos los factores que determinan el desarrollo vegetal, entre los cuales se incluyen: competencia entre plantas, ataque de insectos, enfermedades, actividad humana y ocasionalmente herbivoría, aridez, inundaciones y baja fertilidad y textura del suelo, temperaturas extremas, polución, fuego y viento (Koslowski *et al.*, 1991; Schwartz, 2003).

Los estados fenológicos que se consideran de manera general en el crecimiento y desarrollo de las plantas son: plántula, estado juvenil, estado adulto, época de polinización, floración, fructificación y dispersión. El intervalo entre dos diferentes estados en un tiempo determinado varía entre especies, poblaciones y en ocasiones entre los individuos. (Gurevitch *et al.*, 2002; Broadhead *et al.*, 2003; Schwartz, 2003; D'Eça-Neves & Morellato, 2004; Salazar *et al.*, 2004).

El estudio de la fenología es importante para el entendimiento de la dinámica de los ecosistemas, puesto que, en zonas templadas con estacionalidad marcada (invierno, primavera, verano y otoño), la duración de los estados fenológicos de las diferentes especies es uniforme, marcada y predecible, mientras que en zonas tropicales, por presentar variabilidad en las épocas de lluvia y sequía, la duración de dichos estados es más heterogénea y menos predecible (Broadhead *et al.*, 2003; Schwartz, 2003, D'Eça-Neves & Morellato, 2004).

2.7 Anatomía y morfología de la semilla

2.7.1 La semilla

Las semillas son las unidades de propagación y reproducción sexual de las plantas superiores, procedentes del desarrollo y la fertilización de los óvulos. Se componen de uno o más embriones, reservas nutritivas y una o varias capas protectoras que se originan a partir de los tegumentos del óvulo, ovarios o tejidos de diversas partes de la flor o inflorescencia (Besnier, 1989). La formación de la semilla es el resultado de la combinación de los gametos masculino y femenino durante el proceso de fertilización, siendo de gran importancia este proceso debido a que determina el nivel de diversidad genética presente en el cigoto (Copeland y McDonald, 1995). Según Besnier (1989) una semilla madura consta de cuatro partes principales: embrión, endospermo, perispermo y cubierta seminal.

2.7.1.1 Embrión

Proviene del cigoto formado por la unión del óvulo con el núcleo espermático, generalmente es diploide y siempre esta presente en las semillas viables. Consta de un eje que tiene uno o dos cotiledones. El embrión se divide en dos partes: epicótilo o parte superior y radícula, en algunos casos el epicótilo puede presentar una yema llamada plúmula. El tamaño, forma y posición del embrión son muy variables los cuales cambian de acuerdo a la presencia o ausencia del endospermos y el tamaño de la semilla. Según su posición y forma este se clasifica como: basal, periférico y axial (Besnier, 1989; Werker, 1997).

2.7.1.2 Cotiledones y tipos de germinación

En semillas con germinación hipógea, los cotiledones permanecen bajo el suelo durante la germinación, el hipocótilo no se diferencia ni crece. Por el contrario, en semillas con germinación epígea el hipocótilo crece rápidamente, arrastrando consigo los cotiledones y sacándolos a la superficie, en esta los cotiledones ejercen el papel de las primeras hojas de la nueva planta. En semillas con germinación semi-epígea, los cotiledones emergen del suelo pero permanecen sobre este. Los cotiledones están ligados al eje embrionario por haces provasculares que conducen las sustancias nutritivas movilizadas. Los cotiledones de semillas endospermicas no suelen almacenar reservas y, generalmente, son pequeños, delgados y semejantes a hojas. Por el contrario, los cotiledones de las semillas que carecen de endospermo son muy voluminosos. La función principal de los cotiledones es servir como intermediario en el transporte de sustancias nutritivas hacia el eje embrionario (Besnier, 1989; Azcón-Bieto & Talón, 1993; Baskin & Baskin, 1998; Schmidt, 2000).

2.7.1.3 Endospermo y perispermo

El endospermo procede de la unión de los núcleos polares del saco embrionario con el núcleo espermático del grano de polen. Este tejido acumula la mayor parte de las reservas nutritivas en casi todos los casos en los que los cotiledones no lo hacen, de no ser así puede ser reducido a una sola capa de células o ser reabsorbido (semillas no endospérmicas), puede ser triploide o poliploide. Al proceder del saco embrionario, donde está inmerso el cigoto, el endospermo rodea casi totalmente al embrión. En algunas semillas como la cebada, el endospermo se compone de dos partes bien definidas: la capa de aleurona y el endospermo harinoso. Todas las células del endospermo harinoso están muertas en los granos maduros (Besnier, 1989).

Las semillas pueden ser categorizadas como endospérmicas o no endospérmicas con relación a la presencia o ausencia, en la semilla madura, de un embrión bien desarrollado. Algunas semillas no son consideradas endospérmicas, incluso aunque el endospermo esté presente, en esos casos el endospermo puede ser solo vestigio del endospermo reabsorbido durante el desarrollo de la semilla o puede ser solo una gruesa capa de una o pocas células (Bewley & Black, 1984).

En la mayoría de las especies el perispermo, tejido derivado enteramente del tejido nuclear materno del óvulo y a menudo rodeando el endospermo, no se desarrolla y es rápidamente reabsorbido a medida que se desarrolla el embrión. Sin embargo, en las semillas de algunas especies, el perispermo constituye la principal reserva de sustancias nutritivas coexistiendo, en ocasiones, con restos apreciables del endospermo (Besnier, 1989; Bewley & Black, 1984; Schmidt, 2000).

2.7.1.4 Cubiertas

Las cubiertas de las semillas se forman a partir del desarrollo de los tegumentos que rodean al óvulo y funcionan como barreras que controlan la humedad, protegen

contra lesiones mecánicas e impiden la entrada de patógenos. Las cubiertas pueden presentar dos partes diferenciadas: la testa, que se produce del desarrollo de los tegumentos externos del óvulo y que salvo raros casos está siempre presente, y el tegmen, que se desarrolla de los tegumentos internos del óvulo y que está presente en algunas semillas (Besnier 1989).

La testa es de considerable importancia para la semilla porque es a menudo la única barrera protectora entre el embrión y el medio ambiente. La naturaleza protectora de la cubierta se debe a la presencia de una cutícula interna y externa formada por una o más capas de células con paredes gruesas, a menudo impregnadas con ceras y grasas (Bewley & Black, 1984; Werker, 1997).

En la superficie de la testa se pueden diferenciar varias estructuras: el hilo, que es la cicatriz dejada por el desprendimiento del funículo, el micrópilo, que es una perforación a manera de canal que comunica a la semilla con el medio externo. Se origina en el óvulo y es el lugar por donde penetra el tubo polínico hacia el saco embrionario. La calaza, que es una protuberancia que corresponde, a veces, al lugar donde estaba situada la calaza del óvulo; su posición respecto al micrópilo depende del tipo de óvulo. El rafé, es la marca que deja en la testa el haz fibrovascular que unía el funículo al óvulo y que se extiende desde el hilo hasta la calaza siguiendo la misma trayectoria. La porción que une la calaza con el micrópilo se denomina antirrafé. El funículo que consiste en un sistema vascular localizado en la parte central de la semilla el cual está rodeado por parénquima; conecta al óvulo con la placenta y sirve para el paso de agua y nutrientes de la planta madre a la semilla durante el proceso de desarrollo. El arilo, es una excrecencia que se desarrolla a partir del funículo o del tegumento exterior de la semilla. A menudo contiene sustancias químicas que pueden atraer a los animales y otros agentes dispersores. Los arilos varían en la forma y con frecuencia presentan diversas coloraciones. La carúncula es una excrecencia que procede del micrópilo o de los extremos del tegumento exterior que lo rodean, está formado generalmente por células lignificadas de la epidermis y

también puede desempeñar alguna función en la dispersión de las semillas que presentan esta estructura y el estrofiolo es una excrescencia del rafé que restringe el movimiento del agua al interior o exterior de algunas semillas (Besnier, 1989; Bewley & Black, 1984; Werker, 1997).

2.8 Fisiología de semillas

2.8.1 Germinación

La germinación involucra varios eventos que inician con la toma de agua por parte de la semilla seca y termina con la elongación de la radícula. Los eventos posteriores como la movilización de reservas se asocian con el crecimiento de la plántula (Bewley & Black, 1984; Bewley, 1997).

La secuencia de eventos durante la germinación incluye otros procesos, como son: hidratación de proteínas, activación enzimática, inicio del crecimiento del embrión, ruptura de la cubierta, división y elongación celular que va a dar como resultado la emergencia de la radícula, así mismo hay cambios estructurales subcelulares, respiración, síntesis de macromoléculas y cambios hormonales (Bewley & Black, 1984; Besnier, 1989; Copeland & McDonald, 1995).

2.8.2 Fisiología de la germinación

Para que la germinación se inicie se requieren tres condiciones; en primer lugar, la semilla debe ser viable, esto es que el embrión este vivo y tenga la capacidad de germinar. En segundo lugar, la semilla debe estar expuesta a condiciones ambientales adecuadas de temperatura, humedad, oxígeno y en algunos casos de luz. En tercer lugar, cualquier condición de dormancia primaria presente en la semilla, debe ser superada. Los procesos internos que permiten la remoción de la dormancia se conocen como procesos de post-maduración y resultan de la interacción del medio

ambiente con la condición específica de la dormancia primaria (Bewley, 1997; Hartmann *et al.*, 1997).

2.8.2.1 Temperatura

Las etapas del proceso de germinación son muy sensibles a la temperatura, dependiendo de la especie existen temperaturas mínimas bajo las cuales la semilla no germina, óptimas en las que el proceso alcanza tasas máximas y una máxima por encima de la cual, además de no ocurrir germinación, la semilla puede morir. Temperaturas altas o bajas pueden estimular la germinación dependiendo de la especie, en algunos casos la alternancia de temperaturas pueden simular lo que ocurre en la naturaleza (Barrera, 1987).

2.8.2.2 Humedad

Para la germinación de semillas, se requiere suficiente humedad durante la imbibición, que garantice la rehidratación y metabolismo del embrión (Karseen, 1980 citado en Barrera, 1987), esencial para la actividad enzimática, translocación y uso del material almacenado. La capacidad de campo del suelo donde germinan las semillas, es una forma de disponibilidad de agua. El nivel de hidratación depende del tipo de semilla (ortodoxa, intermedia o recalcitrante) y así mismo, de la especie (Copeland & McDonald 1995).

2.8.2.3 Oxígeno

El oxígeno es un elemento necesario como sustrato en las reacciones metabólicas de la semilla, especialmente la respiración. Antes de que la radícula rompa el tegumento, las reacciones son de carácter anaeróbico, posteriormente el proceso es dependiente del oxígeno. La disponibilidad de oxígeno también está influenciada por otros

factores tales como la temperatura, el grado de humedad, la concentración de CO₂, la dormancia y la presencia de hongos y bacterias (Bewley & Black, 1984).

2.8.2.4 Luz

En semillas fotosensibles, la influencia de la luz sobre el proceso de germinación depende del estímulo para la activación del fitocromo, al pasar de la forma inactiva Pr a la forma activa Pfr, la cual actúa a nivel genético como promotora de transcripción de genes que controlan la síntesis de α -amilasas (Popigini, 1977 citado en Barrera, 1987). Al activarse la síntesis de giberelinas (GA) por la acción de la luz, se induce la síntesis y posterior secreción de la α -amilasa hacia los tejidos de reserva y se inicia la degradación del almidón y de otras sustancias de reserva, las cuales van a alimentar a la nueva plántula una vez producida la emergencia radicular (Azcón-Bieto & Talón, 2000). El requerimiento de luz en cuanto a calidad y duración depende de la especie; en algunos casos es esencial, en otros no y en ocasiones es necesaria la alternancia de períodos de luz y oscuridad (Barrera, 1987).

2.8.3 Acumulación de reservas

La acumulación de reservas en semillas se inicia cuando el embrión ha alcanzado su máximo tamaño y cuando las estructuras de almacenamiento de nutrientes (endospermo o cotiledones) están totalmente formadas (Bewley & Black, 1984).

En semillas dicotiledóneas, las reservas son sintetizadas por núcleos diploides procedentes del cigoto, las reservas del perispermo son sintetizadas por núcleos diploides de origen materno, las reservas de las semillas con endospermo provienen de núcleos triploides o poliploides cuyo complemento cromosómico es una tercera parte de origen materno (Besnier, 1989).

La síntesis de almidón comienza cuando los cotiledones (en dicotiledóneas) alcanzan su máximo tamaño o cuando cesa la división celular en el endospermo en el caso de semillas que presenten endospermo. Los cuatro componentes principales de las reservas nutritivas en las semillas son los carbohidratos, proteínas, lípidos y minerales (Bewley & Black, 1984).

Las proteínas de las semillas se encuentran clasificadas en tres grupos de acuerdo a su función fisiológica: enzimas (la mayoría implicadas en la movilización de reservas), proteínas estructurales (asociadas con membranas y ribosomas) y proteínas de reserva (nutren al embrión o actúan durante la desecación del embrión). Bajo el punto de vista bioquímico, las proteínas se clasifican en: globulinas (características de leguminosas y algunos cereales como arroz y avena), prolaminas y gluteinas (abundantes en cereales) y albúminas y vicilinas. Todas se forman en los tejidos de reserva (cotiledones y endospermo) (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

Los lípidos en las semillas sustituyen al almidón como fuente de energía. Los lípidos fundamentales son, triglicéridos aunque también existen fosfolípidos y glucolípidos más complejos. La acumulación de lípidos se hace en los denominados cuerpos grasos, que son partículas discretas que aparecen tanto en el endospermo como en los cotiledones y en el eje embrionario (Besnier, 1989).

El contenido de nutrientes minerales en las semillas es importante, pues le suministra a la futura plántula un equilibrio para un crecimiento normal. La mayoría de éste tipo de reservas son potasio, calcio y magnesio, que se encuentran asociados con fósforo mediante la fitina, que es una mezcla de sales del ácido fítico (ácido hexafosfórico del mioinositol), la fitina se acumula en cuerpos globoides y su composición varía según la especie (Besnier, 1989).

2.8.4 Fisiología de la imbibición y reactivación del metabolismo

La imbibición es un proceso esencial para el inicio de la germinación. Es el primer evento que marca el inicio del crecimiento del embrión y el final del período de quiescencia y dormancia de la semilla. Durante la imbibición se reactivan los procesos metabólicos como la respiración celular, la actividad enzimática, la síntesis y reparación de DNA, RNA y la síntesis de proteínas (Copeland & McDonald, 1995).

La imbibición es un proceso físico que se presenta en semillas vivas o muertas, dormantes y no dormantes. Algunas características de las semillas como su contenido de compuestos hidratables, la permeabilidad de sus cubiertas y algunas condiciones del medio como el nivel de humedad, composición del sustrato y temperatura, pueden dirigir la entrada de agua al interior de la semilla. El proceso de imbibición depende de tres factores, la composición de la semilla, la permeabilidad de las cubiertas y la disponibilidad de agua (Copeland & McDonald, 1995).

La entrada de agua por parte de la semilla seca y madura comprende tres fases principales. En la primera fase (Fase I) de rápida absorción, varios factores dirigen el movimiento del agua desde el suelo hasta la semilla. Estas relaciones del agua están determinadas por el potencial hídrico (Ψ_w), que expresa la energía libre del agua para realizar un trabajo y resulta de la suma de tres componentes:

El potencial osmótico (Ψ_s), el cual se refiere a la concentración de solutos disueltos en las células, el potencial mátrico (Ψ_m) determinado por la habilidad de hidratación de los componentes celulares y su afinidad por el agua y el potencial de presión (Ψ_p) determina la presión ejercida contra las paredes celulares cuando entra el agua (Bewley & Black, 1984).

En general, el potencial de agua en las células de las semillas puede ser expresado mediante la siguiente fórmula: $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_m + \Psi_p$.

La diversidad de tamaños y formas de las semillas, la textura y compactación del suelo y el grado de contacto entre las semillas y el suelo son factores importantes que determinan la cantidad y velocidad en la toma de agua por parte de la semilla (Copeland & McDonald, 1995).

En la segunda fase (Fase II) del proceso de imbibición, disminuye la velocidad de entrada de agua a la semilla y los potenciales hídrico del suelo y la semilla empiezan a igualarse, especialmente el potencial osmótico (Ψ_s) y el potencial de presión (Ψ_p), ocasionando un retorno de las membranas a su configuración normal por la reducción de solutos (Bewley & Black, 1984).

En la tercera fase (Fase III), nuevamente se presenta un aumento de absorción de agua, con emergencia de la radícula y el crecimiento de la plántula. La entrada de agua es dirigida por el cambio en el potencial osmótico (Ψ_s) el cual se hace más negativo como resultado de la degradación de reservas (Bewley & Black, 1984).

2.8.4.1 Eventos metabólicos

El metabolismo de la semilla seca se reactiva rápidamente con la entrada de agua. Las mitocondrias y algunas enzimas pueden ser reemplazadas o reparadas. Uno de los primeros cambios metabólicos es la reanudación de la actividad respiratoria y con esta la activación de enzimas que participan en el metabolismo respiratorio (la ruta de glicólisis, ciclo de Krebs, cadena de transferencia de electrones y la ruta de las pentosas fosfato), y en los procesos de reparación y síntesis del DNA. El aumento de la actividad metabólica es proporcional al incremento en la hidratación de los tejidos de la semilla (Hartmann *et al.*, 1997).

Todos los componentes necesarios para la reactivación metabólica están presentes en el interior de las células del embrión maduro y seco. Inicialmente, las proteínas sintetizadas dependen de los ribosomas presentes y de las moléculas de RNA mensajero dentro de la semilla seca. Algunos de estos son mensajeros residuales asociados con procesos previos del desarrollo que pueden ser usados temporalmente durante las etapas tempranas de la germinación. Sin embargo, la síntesis de nuevas proteínas ocurre después de la formación de los polisomas que se ensamblan para formar nuevos ribosomas y con ellos nuevas proteínas (Hartmann *et al.*, 1997).

2.8.4.2 Extensión de la radícula y culminación de la germinación:

Cuando la radícula se extiende a través de las estructuras que rodean el embrión es cuando finaliza la germinación y comienza el crecimiento de la plántula, esta extensión puede o no estar acompañada de división celular (Bewley & Black, 1984; Bewley, 1997).

Después de la imbibición, ocurren dos etapas de síntesis del DNA en las células de la radícula, la primera de las cuales involucra la síntesis de DNA mitocondrial y la reparación del DNA nuclear dañado durante los procesos de maduración, desecación y rehidratación. La segunda etapa comprende la síntesis asociada con los procesos de división celular posteriores a la germinación de la semilla (Bewley & Black, 1984; Bewley, 1997).

La extensión de la radícula es un proceso dirigido por la presión de turgencia que produce la relajación de las paredes celulares de las células del eje embrionario que se encuentran en la calíptrá y la base del hipocótilo, así como de las estructuras que lo rodean (Bewley, 1997).

Se han descrito tres posibles causas o razones por las cuales se da inicio a la extensión de la radícula. La primera tiene que ver con que el potencial osmótico (Ψ_s)

de las células de la radícula se hace más negativo como consecuencia del aumento de los solutos que provienen de la movilización de reservas. Esto conduciría a un incremento en la toma de agua y en la presión celular capaz de dirigir la extensión de las células de la radícula. Sin embargo, no existe una evidencia consistente que demuestre la ocurrencia de cambios en el potencial osmótico (Ψ_s) celular durante la germinación (Bewley, 1997).

La segunda razón relaciona el aumento de la extensibilidad de las paredes celulares de la radícula con la división y reunión de las moléculas de xyloglucano que unen las microfibrillas que permitiría la expansión de las paredes celulares. Algunos estudios han reportado que la actividad de la endotransglucosilasa (XET), enzima que actúa en la división reversible de las moléculas de xyloglucano, aumenta en la región apical durante la elongación de la radícula y después de que se ha completado la germinación (Bewley, 1997).

La tercera razón es que las células de los tejidos seminales que rodean al embrión se debilitan para permitir la elongación de la radícula en un proceso dirigido únicamente por el potencial de presión (Ψ_p) de las células del embrión, debido a que no se presentan cambios en el potencial osmótico (Ψ_s) celular antes del inicio del crecimiento radicular sin que ocurra una restricción mecánica (Bewley, 1997).

Durante la germinación de muchas semillas, la testa se agrieta durante la imbibición y es solo la rigidez de las paredes celulares radiculares las que restringen el crecimiento del embrión. A medida que las paredes se vuelven más sensibles durante los estados iniciales de la elongación radicular, se produce una disminución en el potencial osmótico celular (Ψ_s) (Bewley, 1997).

En otras semillas, el potencial de presión (Ψ_p) por sí mismo es insuficiente para conducir la expansión de la pared y por lo tanto se presenta una gran represión en el crecimiento celular de la radícula impuesta por las estructuras circundantes. La

reducción necesaria para que se complete la germinación, parece estar dirigida por enzimas hidrolíticas que actúan sobre las paredes celulares tales como hemicelulasas que producen el endospermo (Bewley, 1997).

2.8.5 Dormancia

La dormancia de las semillas se refiere a un estado en que la semilla es viable pero no germina aún estando en condiciones favorables para la germinación como son la humedad, temperatura y luz adecuada, entre otros. La dormancia ha sido desarrollada como una estrategia para evitar la germinación de semillas en hábitats donde la supervivencia es probablemente baja (Schmidt, 2000; Lambers *et al.*, 2002).

2.8.5.1 Tipos de dormancia

Harper (1997) citado en Schmidt (2000) clasificó la dormancia en tres tipos: **dormancia innata**, la cual esta presente en las semillas cuando están listas para la dispersión, también denominada según Hartmann *et al* (1997) como un estado quiescente de las semillas, las cuales solo necesitan ser imbibidas y tener unas condiciones externas favorables para germinar. Este tipo de dormancia evita que las semillas germinen en la planta madre antes de ser dispersadas.

Dormancia primaria, cuando las semillas no germinan mientras las condiciones ambientales no sean favorables, con lo cual se regula el tiempo, las condiciones y el lugar para la germinación. La **dormancia inducida o dormancia secundaria**, es un mecanismo de adaptación, el cual depende de la especie y ocurre bajo condiciones externas desfavorables como son la temperatura, y el estrés hídrico. Este tipo de dormancia se encuentra relacionada con los ciclos estacionales (Hartmann *et al.*, 1997; Schmidt, 2000; Lambers *et al.*, 1998).

Otros tipos de clasificación están basados en la localización de la dormancia en diferentes partes de la semilla. Cualquier causa de dormancia se relaciona con el desarrollo inmaduro del embrión o de los inhibidores químicos situados en este refiriéndose así a una **dormancia endógena** o del embrión. Por otro lado, la resistencia mecánica, impermeabilidad física, inhibidores o sensibilidad a la luz se asocia con la testa, denominándose **dormancia exógena** o de la testa (Schmidt, 2000).

Cuando se presentan dos o más tipos de dormancias en la misma semilla se denomina **dormancia doble o dormancia combinada**. Este tipo de dormancia se ha encontrado en frutos carnosos que presentan inhibidores químicos y endocarpo duro. También, se presenta en semillas inmaduras que a su vez presentan dormancias adicionales a las anteriormente mencionadas (Schmidt, 2000).

2.9 Madurez de frutos y semillas

2.9.1 Madurez de frutos

La maduración del fruto comprende todos aquellos procesos que tienen lugar desde su formación hasta que éste alcanza las características que lo hacen apto para la producción de semillas viables. Para alcanzar un óptimo grado de madurez, se requiere que el embrión se encuentre diferenciado y desarrollado y que las sustancias de reserva, que han de nutrir al embrión estén presentes hasta que éste se encuentre en condiciones de asimilar los nutrientes del medio externo (García, 1991; Bewley & Black, 1984).

Para que el eje embrionario pueda desarrollarse, la semilla ha debido alcanzar su máximo peso seco; debido a que el proceso de desecación, es un factor determinante para la germinación de semillas de varias especies, lo cual se ha evidenciado en porcentajes de germinación más altos en semillas que han alcanzado su máximo peso

seco en la planta madre en contraste con aquellas que se han sometido a tratamientos de desecación después de la recolección. Sin embargo, esto depende del tipo de semilla (ortodoxa, intermedia y recalcitrante) y de la especie (Jensen *et al.*, 1967 citado por García, 1991, Bewley & Black, 1984).

La maduración es la fase final del proceso de crecimiento y desarrollo del fruto, en la cual se producen una serie de cambios coordinados que conducen a su senescencia y abscisión. Puesto que la finalidad del fruto es favorecer la dispersión de las semillas, la combinación de las características de color, aroma y textura coinciden generalmente con el estado de la máxima viabilidad de las semillas, en el cual el fruto es más atractivo para los agentes dispersores. Por lo tanto, este proceso de maduración puede considerarse como una estrategia que involucra no solamente componentes genéticos sino también componentes morfológicos, químicos, fenológicos y ambientales dirigidos a la reproducción de la especie (Trujillo, 1997 citado en Salazar, 2000).

En el proceso de maduración, el fruto presenta cambios en el color, tasa respiratoria, producción de etileno, permeabilidad de los tejidos, composición de sustancias pépticas y carbohidratos, así como la síntesis de ácidos orgánicos, entre otros eventos (Azcón-Bieto & Talón, 1993).

La maduración de los frutos carnosos presenta las siguientes características: maduración de las semillas, cambios de color, abscisión, cambios en la actividad respiratoria, modificaciones en el ritmo de producción de etileno, modificaciones en la permeabilidad tisular, cambios en la composición de las sustancias pépticas (ablandamiento), y de hidratos de carbono, modificaciones de los ácidos orgánicos, cambios en las proteínas, producción de sustancias aromáticas y desarrollo de cera en el exocarpo (Wills *et al.*, 1993 citado en Salazar, 2000).

Según su actividad metabólica, los frutos se han clasificado en dos grupos: frutos climatéricos y no climatéricos. Los frutos climatéricos son aquellos que presentan un incremento en la tasa respiratoria y la producción de etileno al iniciarse el proceso de maduración, estos eventos al incrementar la actividad metabólica originan una serie de cambios integrados en un período de tiempo corto que conllevan a una maduración del fruto relativamente rápida. Los frutos no climatéricos por su parte, no muestran cambios drásticos en la respiración ni en la producción de etileno (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Bolaños, 2005).

La apariencia está relacionada con el cambio de color en las capas parenquimáticas o exocarpo, este cambio está dado por el reemplazo de clorofilas a carotenoides, antocianinas y reutilización de productos degradados (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Bolaños, 2005).

La textura cambia conforme avanza el proceso de maduración y se caracteriza por el ablandamiento de los tejidos, atribuido al debilitamiento de la pared celular, disolución de la lámina media, pérdida de turgencia y degradación de productos de reserva (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Bolaños, 2005).

El sabor y sus características son resultado de una mezcla compleja de compuestos volátiles que interaccionan con carbohidratos (azúcares reductores y no reductores), ácidos orgánicos y compuestos fenólicos. Estos compuestos están ampliamente distribuidos y sus funciones están relacionadas con la protección frente a daños mecánicos o heridas, procesos de oxidación y como indicadores de la madurez del fruto. Los compuestos fenólicos restringen el consumo de los frutos hasta que éstos alcanzan la maduración, forman parte de los pigmentos y contribuyen a su sabor. También participan en la resistencia a enfermedades, ya que su concentración aumenta después de la infección y las moléculas oxidadas son potentes inhibidores de las enzimas proteolíticas asociadas con la invasión de agentes patógenos (Willson & Wellan, 1990; Azcón-Bieto & Talón, 1993; Canini et al, 2007; Veberic et al, 2007).

La maduración del fruto está relacionada con la sensibilidad al etileno e incremento de la respiración de los frutos climatéricos, no climatéricos y aquellos de comportamiento intermedio (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Bolaños, 2005).

La senescencia es el resultado de una serie de cambios programados que se presentan después de la maduración del fruto, el más importante es un proceso de degradación de los tejidos que rodean a las semillas que culmina en la abscisión del fruto (Azcón-Bieto & Talón, 1993).

2.9.2 Desarrollo de las semillas

El proceso de desarrollo y formación de la semilla comienza en el momento de la fertilización. A partir de este, las diferentes partes de la semilla sufren una serie de cambios morfológicos, citológicos y químicos. Este proceso puede describirse en tres fases. Durante la primera fase ocurre el crecimiento del 80% de la semilla y se caracteriza porque suceden numerosas divisiones mitóticas de las células e incrementos en peso como resultado de la toma de agua y nutrientes desde la planta madre a través del funículo. El resultado de este proceso de histodiferenciación es la formación de estructuras como cotiledones, radícula, endospermo y cubiertas seminales (Kermode, 1995).

La segunda fase o fase de maduración se caracteriza por la expansión de las células y la depositación de reservas en los tejidos de almacenamiento. La finalización de esta fase ocurre cuando la semilla ha alcanzado su máximo peso seco y se desprende de la planta madre. Ese momento se ha descrito como un estado de madurez fisiológica. Para muchas semillas, la adquisición de tolerancia a la desecación es un evento importante para el establecimiento de la autonomía de las semillas pues marca el fin del desarrollo y el comienzo de la dispersión (Kermode, 1995; Ruiz *et al*, 2003).

La tercera fase comienza cuando finaliza la fase de maduración y ocurre a medida que los tejidos seminales se deshidratan y el embrión entra en un estado de quiescencia. Posterior a la fertilización, el contenido de agua es elevado y declina constantemente durante el desarrollo hasta que la semilla alcanza el punto de madurez fisiológica. Después de este punto, continúa rápidamente la pérdida de agua hasta un nivel mínimo de humedad o estado de quiescencia (Kermode, 1995).

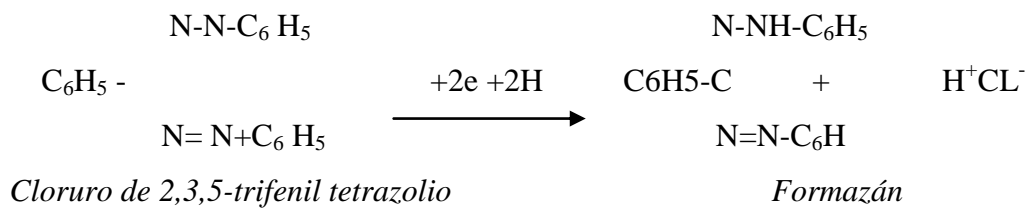
2.10 Prueba de viabilidad para las semillas

La prueba de tetrazolio ha sido reconocida como uno de los procedimientos más acertados en la estimación de la viabilidad de las semillas. Este método fue desarrollado por George Lakon en Alemania en 1940. El test de tetrazolio es el más importante de los métodos rápidos para evaluar la viabilidad. Se basa en el cambio de coloración, determinado por la actividad enzimática. La sal de tetrazolio es un indicador del proceso de óxido – reducción que resulta de la reducción de un producto químico por la acción enzimática. Uno o más sistemas de deshidrogenasas parecen estar involucrados en la reacción (Delouche *et al*, 1976 citado por Salazar, 2000; Copeland & McDonald, 1995).

La prueba de tetrazolio es una prueba topográfica porque el patrón o topografía de la tinción es un aspecto importante de su interpretación. Muchas semillas no están completamente vivas. El patrón de tinción revela las áreas vivas y muertas del embrión lo que permite determinar si la semilla tiene la capacidad de producir una plántula normal. Las áreas de división celular del embrión son las más críticas durante la germinación y si no están teñidas, o están teñidas anormalmente el potencial de germinación de la semilla está debilitado (Copeland & McDonald, 1995, ISTA 2006).

Esta prueba permite diferenciar los tejidos vivos y muertos del embrión de acuerdo con su tasa relativa de respiración en el estado hidratado. Aunque muchas enzimas

están activas durante la respiración, la prueba utiliza la actividad de las enzimas deshidrogenasas como un índice de la tasa respiratoria y de la viabilidad de la semilla (Copeland & McDonald, 1995; ISTA, 2006). Dichas enzimas reaccionan con su sustrato y liberan iones hidrógeno hacia las sales oxidadas e incoloras del tetrazolio, el cual se convierte en formazán, un producto de color rojo resultado de la reducción por los iones hidrógeno. La reacción se expresa de la siguiente manera:



Algunos factores como el pH, la temperatura, la presión atmosférica y la concentración de la solución, pueden afectar la velocidad de la reacción de tetrazolio (Delouche *et al.*, 1976 citados por Salazar, 2000).

Con el fin de mejorar la resolución de los resultados de la prueba, en muchos casos es necesario precondicionar la semilla. Las semillas se pueden someter a tratamientos de imbibición y/o escarificación total o parcial para facilitar la entrada del tetrazolio.

Una vez se ha realizado el acondicionamiento, las semillas son sumergidas en la solución de tetrazolio y llevadas a incubar a una temperatura de 35°C aproximadamente para completar la coloración. La prueba debe finalizar eliminando por completo la solución de tetrazolio con agua, cuando se obtenga una coloración óptima para la interpretación (Delouche *et al.*, 1976 citados por Salazar, 2000).

2.11 Contenido de humedad

El contenido de humedad (CH) es la pérdida de peso de una muestra mientras esta es secada y se expresa como el porcentaje de peso de la muestra original (ISTA, 2006).

Es una propiedad importante de las semillas relacionada con la longevidad y el almacenamiento, este contenido de humedad varía por las condiciones externas de humedad relativa y la temperatura (Aguirre & Peske, 1992; Schmidt, 2000).

Una vez ha cesado el aporte de agua y nutrientes a la semilla, comienza un proceso de desecación, en este las semillas van perdiendo su contenido de humedad hasta alcanzar el máximo peso seco, provocando el endurecimiento gradual de los tegumentos y el embrión (Niembro, 1988; Besnier, 1989).

La madurez fisiológica es el momento en el desarrollo de la semilla, en el que alcanza su máximo peso seco, De ahí, que el contenido de humedad sea considerado como uno de los indicadores de la madurez fisiológica de la semilla (Ruíz *et al.*, 2003).

La tolerancia a la desecación que muestran las semillas en su medio natural, o la ausencia de ésta capacidad se puede reconocer cuando son almacenadas. Con base en este parámetro se han definido tres tipos de semillas: ortodoxas, recalcitrantes e intermedias, las cuales muestran respuestas fisiológicas contrastantes de supervivencia en cuanto a contenido de agua y temperatura, bajo condiciones de almacenamiento (Flores, 1995; Bonner, 1981 citado por Gómez *et al.*, 2006; Berjak & Pammenter, 2003).

Las semillas ortodoxas pierden humedad naturalmente en la planta madre, pueden soportar bajos contenidos de humedad (5-10%) y temperaturas de congelación, por períodos largos sin sufrir daño (Robert, 1973 citado en Rivas, 2000; Berjak & Pammenter, 2003; Daws *et al.*, 2005).

Las semillas recalcitrantes no resisten la excesiva desecación pues como consecuencia sufren daños irreversibles e incluso mueren cuando su contenido de humedad alcanza niveles por debajo del 20%, debido a que este tipo de semillas no se desecan al madurar y por lo tanto no se presenta reducción de la tasa metabólica

(Berjak & Pammenter, 2003; Daws *et al.*, 2005; Flores, 1994 citado en Tejero *et al.*, 2006).

Las semillas intermedias sobreviven a la desecación con niveles intermedios de humedad (7-10%), pero sin alcanzar los niveles de las semillas ortodoxas. Esta categoría puede considerarse arbitraria, puesto que, en la naturaleza parece existir un gradiente de recalcitrancia intra e interespecifico. Adicionalmente, la longevidad en las semillas intermedias se reduce con la disminución de la temperatura (< 5°C) (Vázquez & Yáñez, 1995 citado en Rivas, 2000).

2.12 Sustratos para la germinación

El término sustrato se aplica a todo material natural o sintético que se pueda utilizar para el desarrollo del sistema radicular de una planta, desempeñando un papel de soporte independientemente de que intervenga en el proceso de nutrición vegetal. Algunas propiedades físicas de los sustratos son el color, la capacidad de retención de agua, textura, densidad y porosidad (Ballesteros & Rubio, 1999; ISTA, 2006).

2.12.1 Turba

La turba es un sustrato ampliamente utilizado para la germinación de semillas y enraizamiento de plántulas debido a sus propiedades físicas como buena porosidad, alta retención de humedad y alta recepción de sustancias nutritivas. Es un material inerte y libre de patógenos. La turba resulta de la descomposición parcial de material vegetal de zonas de pantano, ciénagas o marisma. La composición de los diferentes depósitos de turba varía ampliamente, dependiendo de la vegetación de origen, el estado de descomposición y el grado de acidez (Hartmann *et al.*, 1997; Sun Gro Horticulture, 1999 citado por Salazar, 2000).

Al ofrecer buenas condiciones de retención y de aireación, la turba proporciona a las semillas un medio apto para que ocurra el proceso de germinación. Adicionalmente, por el manejo y las enmiendas que se le incorporan, se garantiza la sanidad y la uniformidad tanto de los procesos de germinación como de las plántulas (Sun Gro Horticulture, 1999 citado por Salazar, 2000).

2.12.2 Papel de germinación

El papel de germinación se incluye entre los medios de soporte establecidos por el ISTA. Este papel debe estar compuesto de madera, algodón o celulosa vegetal purificada, con textura porosa, libre de defectos, impurezas o sustancias tóxicas, para evitar la contaminación por hongos o bacterias que puedan afectar la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas. El grosor debe ser mayor a 2 mm y el color debe ser blanco, con un pH entre 6.0-7.5 y una capilaridad mínima de 30 mm (ISTA, 2006).

El papel de germinación debe permitir que la radícula de la plántula se desarrolle pero sin introducirse dentro de este. Debe ser de un material resistente para que al manipularse durante la prueba de germinación no se descomponga (ISTA, 2006). La referencia del papel de germinación utilizado es Seedburo Kimpak Paper ®.

2.12.3 Perlita

La perlita agrícola constituye el mejor sustrato tanto para el cultivo sin suelo como para la preparación de mezclas más eficaces. De origen volcánico, mejora la estructura del suelo, evitando la compactación y el endurecimiento, debido a su estructura porosa permite el correcto desplazamiento del agua, aire y nutrientes hasta las raíces, así mismo favorece el enraizamiento garantizando una estructura densa en raíces. Las innumerables cavidades de los granos regulan automáticamente el nivel de agua, aire y nutrientes que requieren las plantas, así, un riego será fácilmente drenado y la conservación de agua será una reserva para el caso de que el riego sea escaso.

Ofrece un medio de crecimiento uniforme. Por su escaso peso (debido a su baja densidad entre 10 y 20 veces más liviano que la arena: 100 kg/m^3), favorece su manipulación y traslado. Por su color blanco facilita el mezclado en proporciones correctas cuando se utiliza junto a otros componentes del suelo. Por su capacidad de aislación térmica, impide los cambios bruscos en la temperatura del suelo. No es un material residual no un subproducto, al ser sometida a altas temperaturas, la perlita es un material químicamente inerte. Es 100% inorgánico, evitando así cualquier costo de esterilización. No se descompone con el tiempo (Riverfilco, 2006).

2.12.4 Vermiculita

La vermiculita es un mineral compuesto esencialmente por filosilicatos hidratados, que se presentan en cristales muy pequeños, en este caso en láminas hexagonales. La vermiculita concretamente es un silicato alumínico hidratado de estructura reticular aplanada. Los minerales de arcilla poseen dos componentes estructurales básicos, en el caso de la vermiculita es un octaedro, en el cual un átomo de aluminio, magnesio y/o hierro es rodeado por seis aniones (2 ó 4 oxígenos y 4 ó 2 hidróxidos). La vermiculita exfoliada es insoluble en agua o en disolventes orgánicos, y aun no siendo higroscópica puede retener agua en una cantidad de aproximadamente 5 veces su peso. Esto es provocado por que las partículas expanden su volumen al exfoliarse, lo que aumenta su área superficial interna. Físicamente, esto permite que la vermiculita mejore su retención de agua a la vez que proporciona aireación. La vermiculita es químicamente inerte. La cantidad de metales pesados es muy reducida, estando también la mayoría de las explotaciones, libres de asbestos. Su ph oscila entre los rangos de 6 a 9 ph, siendo generalmente un poco básica. La vermiculita es un material libre de sustancias biológicas indeseadas debido a su rápido ensacado tras la incineración en un horno a 800° . Esta libre de formaldehído ya que no es un producto derivado de la madera o residuos forestales. Gracias a que es un producto mineral y por estos motivos se considera a la vermiculita como un material bacteriológicamente estéril (Samperio, 2003).

2.12.5 Cascarilla de arroz

La cascarilla de arroz es un subproducto de la industria molinera, que resulta de abundantemente en las zonas arroceras de muchos países y que ofrece buenas propiedades para ser usado como sustrato hidropónico. Entre sus principales propiedades físico-químicas se tiene que es un sustrato orgánico de baja tasa de descomposición, es liviano, de buen drenaje, buena aireación y su principal costo es el transporte. La cascarilla de arroz es el sustrato más empleado para cultivos hidropónicos en Colombia ya sea cruda o parcialmente carbonizada. El principal inconveniente que presenta la cascarilla de arroz es la baja capacidad de retención de humedad (Calderón, 2002).

2.12.6 Arena

La arena es un material de naturaleza silíceo y de composición variable, que depende de los componentes de la roca silicatada original. Puede proceder de canteras o ríos. Es una de las sustancias más utilizadas en la mezcla de sustratos, aunque se emplea en pequeñas cantidades. La arena mejora la estructura del sustrato y a la vez aporta peso. No debe contener elementos nocivos tales como sales, arcillas o plagas. La granulometría debe ser gruesa. La arena de río, que es la mejor, la granulometría varía entre 0.5 y 2 mm de diámetro, la capacidad de retención del agua es media (20% del peso y más del 35% del volumen), la aireación disminuye con el tiempo a causa de la compactación, el intercambio catiónico es nulo, el pH varía entre 4 y 8 (Anasac, 2000).

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

3.1 Problema

El uso insostenible de especies forestales como *Pouteria lucuma* y la fragmentación de los bosques andinos, han llevado a que en la actualidad esta especie se encuentre

en riesgo de extinción, reduciendo la posibilidad de aprovechar las propiedades de la madera y sus características aptas para restauración y recuperación de cuencas hidrográficas, además de sus usos alimenticios y medicinales. Por otro lado, se ha descrito que la germinación de las semillas es lenta y los estudios realizados en esta área son muy escasos, dificultando el desarrollo de programas de conservación y propagación sexual de *Mediacauro*.

3.2 Preguntas de investigación

1. ¿El grado de madurez del fruto influye en el comportamiento fisiológico de semillas de *Pouteria lucuma*?
2. ¿El grado de madurez del fruto influye en la respuesta germinativa de semillas de *Pouteria lucuma*?

3.3 Justificación

Pouteria lucuma es una especie forestal considerada apta para procesos de restauración y recuperación de nacimientos de ríos y con un alto potencial maderero. En países como Chile y Perú es explotada a nivel industrial por sus propiedades alimenticias, donde utilizan la pulpa del fruto para producir harina como materia prima de productos tales como: helados, tortas, jugos, etc. Por otro lado, tiene propiedades medicinales ya que, en la medicina tradicional los frutos son utilizados por personas que padecen de esquizofrenia y convulsiones (Lizana, 1990; Jacobsen *et al.*, 2003; CENICAFE, 2003).

En Colombia, es una especie nativa que se encuentra distribuida desde los 1000 hasta los 3000 m.s.n.m. No obstante, son pocos los estudios realizados a nivel morfológico, fisiológico y ecológico relacionados con la fenología de los árboles y las características fisiológicas de las semillas (Muñoz, 2006). Sin embargo,

recientemente La Corporación Autónoma del Quindío (CRQ) ha iniciado estudios enfocados en la fenología y propagación sexual, para conocer su comportamiento, con el fin de explotar de manera sostenible la madera sin generar un impacto negativo en las poblaciones de bosques como el que se encuentra en la Reserva Forestal de Bremen (Quindío) (CRQ, 2006; Muñoz, 2006).

Así mismo, para explotar de manera adecuada una especie con las propiedades descritas y que se encuentra en riesgo de extinción, es importante el estudio de la fenología y del comportamiento fisiológico de las semillas, puesto que, se conoce que es una especie cuyas semillas presentan una germinación lenta y un limitado crecimiento y desarrollo de las plantas. Así mismo, puede tardar hasta un año desde la polinización de las flores hasta la madurez del fruto, razones que dificultan la producción y aprovechamiento de semillas y plantas de *P. lucuma* (Lizana, 1990).

Los estudios realizados en *P. lucuma* en Chile, Perú y recientemente en Colombia, se encuentran enfocados en la obtención y conservación de la harina. Por otra parte, los estudios relacionados con la fisiología, caracterización de frutos y semillas y anatomía de las semillas no son específicos para esta especie (García-Barriga, 1978). Además, hay contradicciones entre los diferentes autores en cuanto a la morfología de los frutos y las semillas, así mismo, sobre la capacidad germinativa (Lizana, 1990; Pennington, 1990; Ugarte & Zaragoza, 2000; Vargas, 2002).

Por ello, este trabajo contempla un estudio enfocado en el conocimiento del comportamiento fisiológico de la semilla y la influencia de los grados de madurez de los frutos en la respuesta germinativa.

Lo anterior contribuirá al conocimiento sobre la fisiología y manejo de la semilla de *P. lucuma* (R & P) (Mediacaro) aportando información rigurosa y práctica para agricultores y entidades de fomento forestal que adelantan estudios en esta especie como La Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la respuesta germinativa de semillas de *Pouteria lucuma* (R & P) (Mediacaro) Sapotaceae, como base para estrategias de propagación y conservación.

4.2 Objetivos específicos

1. Describir algunas características de la floración y fructificación de los árboles de las poblaciones de *Pouteria lucuma* en La Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío) y en La Reserva Natural Privada el Secreto (Boyacá).
2. Caracterizar morfológicamente los frutos y las semillas de *Pouteria lucuma* en diferentes grados de madurez.
3. Caracterizar fisiológicamente las semillas de *Pouteria lucuma* en diferentes grados de madurez del fruto.
4. Evaluar el efecto del grado de madurez de los frutos en la germinación de las semillas de *Pouteria lucuma*, bajo en condiciones de vivero y laboratorio.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño de la investigación

Es un estudio analítico de tipo experimental, basado en un diseño completamente al azar (DCA), donde se evaluó el efecto del grado de madurez del fruto sobre la respuesta germinativa de las semillas de *Pouteria lucuma*, bajo condiciones de vivero y laboratorio. La variable dependiente (respuesta) estuvo representada por el número

de semillas germinadas por lectura, la unidad de respuesta fue cada semilla y la unidad de muestreo cada repetición.

Los frutos y las semillas se caracterizaron morfológicamente en diferentes grados de madurez, teniendo en cuenta siete variables cuantitativas y cuatro cualitativas. Se realizaron pruebas de contenido de humedad, imbibición, viabilidad y germinación de las semillas. La prueba de germinación se realizó bajo condiciones de vivero y de laboratorio (Anexo A).

El factor de diseño fue el tipo de fruto con tres niveles: endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC). Se realizó caracterización morfológica de frutos y semillas y la prueba de contenido de humedad con semillas de los tres tipos de frutos. Para las pruebas de imbibición, viabilidad y germinación en vivero y laboratorio se utilizaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) (Tabla 1).

El análisis se realizó con los datos obtenidos a partir del número de semillas germinadas lo cual se utilizó para calcular los índices de germinación (GC, R_{50} , R_{50}' , GRI, PV, MDG y GV).

Tabla 1. Factor de diseño y niveles evaluados en el estudio de fisiología de semillas de *Pouteria lucuma*.

Factor de diseño	Niveles del factor de diseño	Código
Tipo de fruto	Endocarpo café	TFA
	Endocarpo amarillo	TFB
	Endocarpo blanco	TFC

5.1.1 Área de estudio

5.1.2 Reserva Forestal de Bremen, La Popa

La primera zona es La Reserva Forestal de Bremen, La Popa ubicada en el departamento del Quindío entre los municipios de Circasia y Filandia entre los 1.500 y 2.100 m de altitud sobre la vertiente occidental de la cordillera Central de los Andes (04°40'27"N 75°37'56"O), con una precipitación media anual de 2000 mm., una evapotranspiración media anual de aproximadamente 1000 mm., humedad relativa del 80% y temperatura promedio de 20°C (Muñoz, 2006).

5.1.3 Reserva Natural Privada El Secreto

La Reserva El Secreto pertenece al municipio de Garagoa, Vereda Ciénaga Valvanera. Presenta una extensión aproximada de 1150 hectáreas y se encuentra a 2180 – 3100 m.s.n.m. La temperatura máxima es de 18°C y la mínima de 10°C, la precipitación es de 1000 mm/año, humedad relativa entre 70 y 90% (ACMA, 2003).

Los suelos se presentan en relieve quebrado a escarpado, moderadamente evolucionados y con bajos contenidos de bases intercambiables “Dystropept”, algunos con altos contenidos de materia orgánica “Humitropept” acompañados de suelos superficiales con poco desarrollo pedogénico “Troporthen” (ACMA, 2003).

Algunas de las especies de flora presentes en la reserva pertenecen a los siguientes géneros: *Weinmannia* sp. (encenillo), *Clusia* sp. (gaque), *Tibouchina* sp. (siete cueros), *Hedyosmum* sp. (granizo), *Escallonia* sp. (tobo), *Brunellia* sp. (cedrillo). Algunas de las especies de fauna son: *Mergannetta armatta* (pato de los torrentes), *Pyrhura calliptera* (perico de páramo), *Agouti taczanowskii* (paca), *Sciurus* sp. (ardillas), *Didelphys albiventris* (runcho), *Penelope montagnii* (pava), *Tremarctos ornatos* (oso de anteojos), *Nasua nasua* (guache) (ACMA, 2003).

5.1.1.1 Población de estudio y muestra

Durante la fase de campo en las dos zonas descritas anteriormente, se realizó la descripción de características morfológicas tales como: altura de los árboles, diámetro de las copas, color y disposición de las hojas, número de frutos por individuo, descripción floral, color y textura de la corteza del fuste, presencia o ausencia de sustancias como latex, resinas o gomas, color, textura y tamaño de los frutos, se tomaron datos ecológicos como abundancia, sociabilidad y usos. Los datos fueron consignados en el Anexo B.

La muestra botánica de material vegetal de árboles de *Mediaca* provenientes de cada reserva, fue depositada en el Herbario de la Pontificia Universidad Javeriana bajo las normas de este.

5.1.2 Variables de estudio

Para la caracterización morfológica de los grados de madurez de los frutos y las semillas, se describieron siete variables cuantitativas (peso, longitud y diámetro del fruto, grosor del pedúnculo, peso, longitud y diámetro de la semilla) y cuatro variables cualitativas (color y consistencia del endocarpo, color y textura de la testa). El contenido de humedad de las semillas se determinó como el porcentaje de peso de la muestra original, la viabilidad en porcentaje de semillas viables y no viables y para la imbibición el cambio del peso a través del tiempo. La germinación se evaluó en términos de respuesta germinativa teniendo como criterio, la emergencia del gancho del hipocótilo para las semillas sembradas en tierra-turba, proporción 3:1 en vivero y por medio de la protusión de la radícula para las semillas colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper®) en laboratorio.

A partir de la variable dependiente o de respuesta se calcularon los índices de germinación establecidos por Czabator (1962) y Thompson & El-Kassaby (1993):

* **Capacidad germinativa (GC)**, expresa el porcentaje de semillas germinadas al final de la prueba de germinación con respecto al número de semillas puestas a germinar.

* **Índice de la tasa de germinación R_{50}** , expresa la velocidad de germinación en términos del número de días requeridos para que germine el 50% de las semillas sembradas.

* **Índice de la tasa de germinación R_{50}'** , expresa la velocidad de germinación en términos del día en el cual ha germinado el 50% del total de semillas que germinó al final del período de observación.

* **Índice de la tasa de germinación (GRI)**, expresa la velocidad de germinación de acuerdo con el número total de semillas que germinan en un intervalo de tiempo.

$$GRI = G1/T1 + G2/T2 + G3/T3 + \dots + Gn/Tn$$

Siendo:

G1 = número de semillas germinadas en T1

T1 = intervalo de tiempo en T0 (día de la siembra) y T1 (primer conteo)

T2 = intervalo de tiempo entre el T1 y T2 (segundo conteo)

Gn = número de semillas germinadas entre tn-1 y tn

Tn = tiempo en días al final del conteo

* **Valor pico (PV)**, Expresa la velocidad de germinación como el máximo cociente derivado de la división del porcentaje de germinación en el número de días.

* **Índice de germinación media diaria (MDG)**, expresa la germinación total en términos del número de semillas germinadas durante el tiempo total de la prueba. Este índice puede ser aplicado independientemente del tiempo que dure la prueba, es decir puede ser utilizado incluso sin haberse alcanzado la germinación total del lote de semillas evaluadas.

* **Valor de la germinación (GV)**, combina la germinación media diaria con la velocidad de germinación. Se obtiene mediante la formula, $GV = MDG * PV$.

Estos parámetros fueron estimados a partir de los resultados de las lecturas de germinación que se realizaron cada 8 días para las semillas sembradas en vivero y

cada 3 días para las semillas colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.

5.2 Métodos

Para la caracterización fisiológica de las semillas de *Pouteria lucuma* se realizó un reconocimiento de las zonas donde se encontró la especie y se tuvo en cuenta las condiciones del área y una aproximación de individuos de las poblaciones de la especie. Para tal fin, las colectas se realizaron en la Reserva Natural Privada el Secreto (Boyacá), debido a que en la Reserva de Bremen, La Popa (Quindío) no fue posible la obtención de frutos durante el tiempo en que se llevó a cabo el estudio, sin embargo, se realizó una comparación entre las dos zonas en términos de cantidad, y altura de los individuos, así como las épocas de floración y fructificación.

A partir del material colectado, en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Unidad de Biotecnología Vegetal de La Pontificia Universidad Javeriana, se identificaron y se caracterizaron tres tipos de frutos: endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC) y para las semillas extraídas de los tres tipos de frutos: testa gris (TSA), testa blanca (TSB) y testa transparente (TSC). Se utilizó un total de 30 frutos. Para la caracterización fisiológica, en las pruebas de viabilidad e imbibición se utilizaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) y para la prueba de contenido de humedad se utilizaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).

Para evaluar la germinación de semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB), se procedió a la siembra en sustrato tierra-turba en proporción 3:1 en las condiciones del vivero, de la estación Las chilacas, propiedad de Geoambiente Ltda. ubicado en Pacho, Cundinamarca, a 2150 m.s.n.m, precipitación anual de 1500 mm., temperatura de 20°C y humedad relativa del 40%,

dentro del vivero y del 65% fuera de este. Para la evaluación en laboratorio se colocaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) en papel de germinación (Seedburo Kimpak Paper ®) y se mantuvieron en condiciones de fitotrón (Lab-Line ®. Ref. 844) con fotoperíodo 12h/12h luz-oscuridad, temperatura 28°C y humedad relativa entre 55 y 60% (Anexo C).

En la Tabla 2, se describe el número de individuos (semillas) y repeticiones utilizadas para cada una de las pruebas realizadas.

Tabla 2. Número de semillas de *Pouteria lucuma* utilizadas para la caracterización fisiológica, por prueba, tipo de fruto y número de repeticiones.

Prueba	Tipo de fruto	Repeticiones	Número de individuos por repetición
Imbibición	TFA	3	15
	TFB	3	15
Viabilidad	TFA	3	15
	TFB	3	15
Contenido de humedad	TFA	3	5
	TFB	3	5
	TFC	3	5
Germinación en vivero	TFA	3	20
	TFB	3	20
Germinación en laboratorio	TFA	3	15
	TFB	3	15

Debido a que es una especie forestal, que se encuentra en condiciones silvestres y el número de individuos disponibles para obtener el material fue limitado. El número de semillas y el número de repeticiones no fue el recomendado por el ISTA (cuatro repeticiones con 100 semillas cada una).

5.2.1 Objetivo 1: Describir algunas características de la floración y fructificación de los árboles de las poblaciones de *Pouteria lucuma* en la Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío) y la Reserva Natural Privada El Secreto (Boyacá)

Se realizaron prospecciones de las poblaciones de *P. lucuma* en La Reserva Forestal de Bremen, La Popa en el Quindío y en La Reserva Natural Privada El Secreto en Boyacá.

Se realizaron dos salidas de campo a la Reserva de Bremen, La Popa, la primera en Enero de 2006 y la segunda en Mayo de 2007, durante estas salidas, se realizaron caminatas de observación de los individuos de *P. lucuma* anotando la etapa de desarrollo en que se encontraban, (vegetativo o reproductivo). Se registró el tamaño de los frutos de individuos en época de fructificación. Adicionalmente, en la segunda salida se estimó la cantidad aproximada de individuos. Además, se tomó la muestra botánica y se realizaron entrevistas con el guía para indagar sobre el comportamiento (en términos de floración y fructificación) de la especie en la zona durante el 2006.

Se realizaron 5 salidas de campo a La Reserva El Secreto, sitio de recolección de los frutos, En estas salidas se siguió la misma metodología empleada en La Reserva de Bremen. La recolección se realizó con la colaboración de tres escaladores, (Figuras 1, 2 y 3).



Figura 1. Copa de árboles de *Pouteria lucuma*.



Figura 2. Fuste de árboles de *Pouteria lucuma*.



Figura 3. Escalador y equipo para ascender a los árboles.

5.2.2 Objetivo 2: Caracterizar morfológicamente los frutos y las semillas de *Pouteria lucuma* en diferentes grados de madurez

Para la descripción morfológica de frutos y semillas en diferentes grados de madurez se tomaron 30 frutos al azar. Para los frutos se tuvo en cuenta diferencias en el pedúnculo, tamaño, dureza, grosor y color del exocarpo, así como el color y la textura del mesocarpo y endocarpo. Para las semillas se tuvo en cuenta el color y textura de la testa, color y consistencia de los cotiledones, además, se realizó una descripción anatómica de las semillas de *P. lucuma*.

5.2.2.1 Extracción de las semillas

Las semillas se extraían del endocarpo con la ayuda de una prensa mecánica (Anexo D), la cual por medio de la presión ejercida, este se quebraba y luego con una navaja se retiraba por completo, con el fin de no ocasionar ningún daño a la semilla.

5.2.3 Objetivo 3: Caracterizar fisiológicamente las semillas de *Pouteria lucuma* en diferentes grados de madurez del fruto

5.2.3.1 Contenido de humedad

Para determinar el contenido de humedad se tomaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC) utilizando 3 repeticiones de 5 semillas cada una para un total de 15 semillas por cada tipo de fruto. Estas semillas se trituraron en un molino convencional, luego se introdujo 1 g. de muestra en el medidor de humedad (Ohaus ® MB45) a 130°C durante 1 hora y después de este tiempo en que la muestra se secaba se registraba el contenido de humedad.

Este medidor puede ser usado para determinar el contenido de humedad de varias sustancias y opera con el principio de termogravimetría, como principio de la medida, el medidor de humedad (Ohaus ® MB45) determina el peso de la muestra, luego esta muestra es secada por la unidad integral de halógeno de secado y se vaporiza la humedad. Durante la operación de secado, el instrumento continuamente determina el peso de la muestra y arroja el resultado. Cuando ya esta totalmente seca, el resultado que se obtiene es el porcentaje de contenido de humedad, porcentaje de sólidos y peso final (Manual de instrucciones de balanzas, 2007).

El porcentaje de contenido de humedad se obtiene a partir de la siguiente formula (ISTA, 2006):

$$CH (\%) = ((\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / \text{peso fresco}) \times 100 \%$$

5.2.3.2 Curva de imbibición

Para la realización de las curvas de imbibición se tomaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) y se evaluaron tres repeticiones de 15 semillas cada una para un total de 45 semillas. Para cada repetición se determinó el peso seco inicial en gramos en una balanza digital. Posteriormente, las semillas se colocaban sobre papel humedecido con agua destilada. Se registró el peso fresco de cada grupo de semillas cada dos horas durante cinco días hasta que se estabilizó.

5.2.3.3 Prueba de viabilidad

Se tomaron 45 semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) las cuales se distribuyeron en tres repeticiones cada una de 15 semillas. Se sumergieron en una solución con sales de tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio) al 1% y fueron incubadas a 28°C, por un período de 15 horas. Una vez teñidas se lavaron y se registraron los patrones de tinción de las estructuras tales como cotiledones y el eje embrionario (hipocótilo y radícula) y dependiendo de la coloración se tomaban como viables o no viables (ISTA, 2006).

5.2.4 Objetivo 4: Evaluar el efecto del grado de madurez de los frutos en la germinación de las semillas de *Pouteria lucuma*

5.2.4.1 Pruebas de germinación

5.2.4.1.1 Sustrato tierra-turba

Para evaluar el efecto del grado de madurez de las semillas sobre la germinación, se utilizaron semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) que se sembraron en bolsas plásticas de polietileno bajo condiciones de vivero, en tierra-turba como sustrato utilizando proporción de 3:1, con riego constante, en las

instalaciones de Geoambiente Ltda., en Pacho Cundinamarca, Estación Las Chilacas (Figura 4)



Figura 4. Plántulas y plantas obtenidas a partir de semillas de *Pouteria lucuma* en condiciones de vivero.

5.2.4.1.2 Sustrato papel de germinación

Se colocaron semillas de *P. lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) en papel de germinación (Seedburo Kimpak Paper ®). Las semillas se envolvieron en este papel y se mantuvieron húmedas, dentro de recipientes transparentes (Figura 5). Estos recipientes se colocaron dentro de bandejas tapadas para formar una cámara húmeda y se mantuvieron en el fitotrón (Lab-Line ®) el cual, es una cámara de crecimiento referencia 844. Se colocó un sensor interno (HOBO® H8-003-02) el cual, permitió registrar la temperatura y humedad relativa del interior del fitotrón (Anexo E). La cámara se programó con un fotoperíodo de 12h/12h luz-oscuridad, temperatura de 28°C y una humedad relativa entre 55-60%.

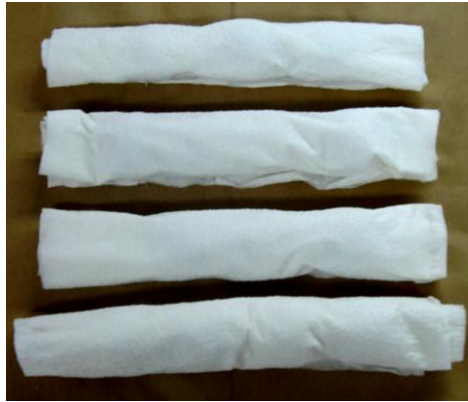


Figura 5. Semillas de *Pouteria lucuma* colocadas en papel de germinación (Seedburo Kimpack Paper®).

5.3 Recolección de la información

Para el registro de los datos de germinación se utilizó el formato (Anexo F) y para el consolidado de los índices de germinación se empleó el formato (Anexo G); así mismo, para las pruebas de caracterización fisiológica se emplearon tres formatos: para imbibición (Anexo H), para viabilidad (Anexo I) y para contenido de humedad (Anexo J).

Adicionalmente, de acuerdo con lo establecido en las Normas Internacionales para la Evaluación de Semillas (ISTA, 2006) se definió la protusión de la radícula como el criterio para la germinación de las semillas colocadas en el papel de germinación (Figura 6A). Para las semillas sembradas en sustrato tierra-turba, el criterio definido fue la emergencia del gancho del hipocótilo (Figura 6B). Las lecturas de germinación para el caso de las semillas colocadas en papel de germinación se iniciaron a los nueve días después de la siembra (DDS) y a los 62 DDS para las semillas sembradas en sustrato tierra-turba, se registró el número de semillas germinadas para cada repetición por cada tipo de fruto, con intervalos de 3 y 8 días respectivamente.

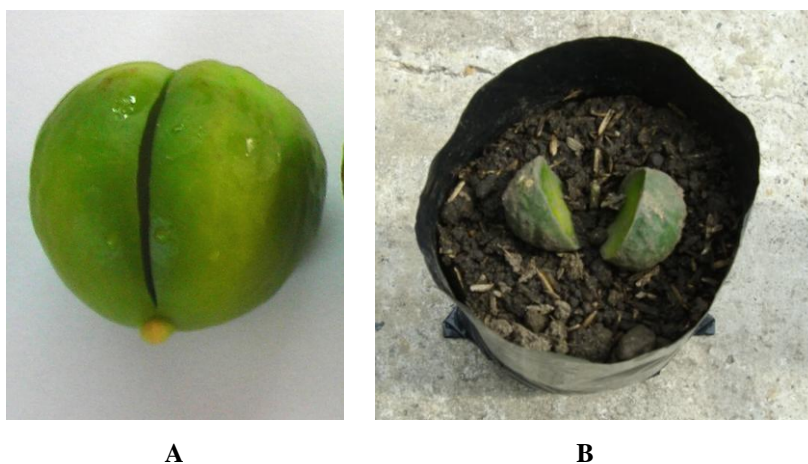


Figura 6. Semilla de *Pouteria lucuma* (A) germinada en papel de germinación (Seedburo Kimpack Paper ®), (B) Semilla germinada en sustrato Tierra-Turba.

5.4 Análisis de la información

5.4.1 Caracterización morfológica

Para determinar el grado de madurez de los frutos de *P. lucuma*, se diseñó una base de datos incluyendo características cualitativas y cuantitativas para frutos y semillas. Se realizó un análisis Cluster partiendo de una matriz de presencia-ausencia, utilizando el algoritmo Ward o de mínima inercia.

5.4.2 Contenido de humedad

A partir de semillas de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC), luego de haber sido secadas, se determinó el porcentaje del contenido de humedad que se obtiene luego de que la muestra esta totalmente seca.

5.4.3 Imbibición y viabilidad

Los resultados de estas pruebas se analizaron por medio de gráficas, tablas y diagramas de dispersión.

5.4.4. Germinación

Con los resultados obtenidos en las condiciones de laboratorio y vivero, se realizó un análisis de varianza para evaluar el efecto del grado de madurez de los frutos sobre la respuesta germinativa de las semillas. A partir de los resultados del ANOVA ($P < 0.05$), se realizó una prueba de comparación múltiple de Duncan, para comparar las semejanzas o las diferencias entre las medias de los índices de germinación relacionados con los grados de madurez de los frutos. La información fue procesada en el programa Statistical Analysis System (SAS).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 DESCRIPCIÓN DE LAS POBLACIONES DE *Pouteria lucuma*

En las dos visitas realizadas a La Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío), se reconocieron alrededor de 150 individuos de *P. lucuma*. En Enero de 2006, se observaron frutos y semillas en el suelo en estado de descomposición, los cuales se consideraron como vestigios de la cosecha de Agosto de 2005. Aparentemente, en esta época los vientos ayudan a que los frutos caigan de los árboles (Lambers *et al.*, 1998)

Así mismo, en esta zona, la producción de frutos de la mayoría de los individuos ocurre cada dos años. Sin embargo, anualmente fructifican pocos individuos entre 5-10. Por otro lado, se ha reportado que su máximo período de floración ocurre entre los meses de Marzo y Abril y el desarrollo de frutos comprende los meses de Junio a Septiembre (Muñoz, 2006) (Tabla 3). Esta variabilidad en la cantidad de frutos que se producen en cada cosecha puede deberse a que la mayoría de las especies de árboles que se encuentran en estado silvestre, producen mayor cantidad de frutos una vez cada determinado tiempo, lo cual depende de la especie, y en los demás años la producción de frutos es baja. Estos patrones son adaptaciones que se han desarrollado

a través del tiempo como reguladores ecológicos, que mantienen en equilibrio la abundancia de los polinizadores y de los predadores de semillas (James *et al.*, 1998; Lambers *et al.*, 1998).

Tabla 3. Características de los individuos monitoreados de *Pouteria lucuma* en Bremen, La Popa (Quindío) y El Secreto (Boyacá).

Características	Bremen, La Popa (Quindío)	El Secreto (Boyacá)
Numero de individuos	150	80
Altura (m)	15 -20	25-30
Número de individuos en floración y fructificación (II semestre 2006)	10	15
Número de individuos en cosecha (II semestre 2006, I semestre 2007)	0	4
Número de individuos en floración (I semestre 2007)	5	4
Número de individuos en fructificación (I semestre 2007)	0	6
Número aproximado de frutos por árbol	70-100	70-100
Época de floración	Marzo-Abril	Abril-Julio
Época de fructificación	Agosto-Octubre	Septiembre-Octubre, Diciembre-Enero

En La Reserva Bremen, La Popa (Quindío), entre los meses de Junio-Agosto de 2006, se proyectaba la producción de frutos de diez individuos que se encontraban en estado de floración, lo cual no sucedió y se perdió el 99% de la cosecha, como consecuencia del aborto de los botones florales y de los frutos en los primeros estados de desarrollo, lo cual se atribuyó a las condiciones ambientales (Muñoz *com pers.*, 2007).

En las dos zonas de estudio, la producción de flores por individuo fue más alta que la producción de frutos, lo cual es común en especies con flores hermafroditas. Por lo tanto, el aborto de los botones florales y de los frutos en los primeros estados de desarrollo se puede explicar a partir de cuatro hipótesis (Bawa & Webb, 1984; Sutherlad, 1987):

- 1) Limitación por polen: ocurre cuando la producción de frutos se limita por la baja disponibilidad de polen para fertilizar óvulos.
- 2) Atracción de polinizadores: la sobreproducción de flores asegura que los polinizadores encuentren suficiente néctar o polen, visitando una proporción suficiente de flores para la adecuada polinización.
- 3) Aborto selectivo: si el porcentaje de polinización y de producción de frutos son altos, la planta aborta aquellos que no presenten alta calidad en términos de constitución genética de las semillas y de óvulos fertilizados.
- 4) Limitación de recursos: los frutos deben competir por los recursos que les proporciona la planta madre y aquellos que no los logren obtener, no alcanzarán un estado de desarrollo avanzado.

Por otro lado, en flores hermafroditas como las de *Annona cherimola* (Chirimoyo) y *Persea americana* (Aguacate), para evitar la autofecundación exhiben una marcada dicogamia, lo que significa que la apertura floral masculina y femenina se presentan en tiempos diferentes, es decir que la flor cierra después de la fase femenina, reabre luego en estado masculino y luego cierra después de la fase masculina. La apertura de la flor en la fase femenina implica la apertura de las hojas del perianto para dejar expuesto el pistilo con su estigma receptivo por algunas horas para luego cerrar nuevamente. Al día siguiente, en la mañana o en la tarde dependiendo de la variedad, la flor reabre para exponer las anteras dehiscentes que liberarán los granos de polen (Köhne, 1998; González & Cuevas, 2006).

La apertura de las flores está principalmente controlada por condiciones ambientales, en las que la temperatura sería el factor más importante. Sin embargo, en condiciones de clima desfavorable el ritmo de floración puede ser totalmente alterado en ciertos

días, ocurriendo que las flores no abra y así, excluyendo la posibilidad de polinización y cuaja del fruto (Köhne, 1998).

Así mismo, según Vílchez & Rocha (2004), la latitud, altitud, orografía, así como los componentes meteorológicos como las horas de brillo solar, la temperatura y la precipitación influyen en la fenología de las plantas siendo la última la variable más importante. Además, las diferencias en la duración y la intensidad de la época afectan la sincronía de la floración y por consiguiente la fructificación y dependen generalmente de la época seca, sin embargo, esto depende la especie. Como ocurre en *Pouteria caimito*, que la mayor producción de flores y frutos se relaciona con precipitación media a baja y brillo solar y temperaturas altas (Urrego & Del Valle, 2001).

Por lo tanto, en la cordillera central donde se encuentra ubicada la Reserva de Bremen (Quindío), al presentar un régimen de lluvias unimodal y con una precipitación de 2000 mm/año (IGAC, 2006; Muñoz, 2006), probablemente no favoreció la floración y la fructificación de individuos de *Pouteria lucuma*. Por su parte, en la cordillera oriental donde se encuentra ubicada la Reserva el Secreto (Boyacá), donde el régimen de lluvias es bimodal, con una precipitación de 1000 mm/año (ACMA, 2003; IGAC, 2006), además, con una época seca marcada entre Diciembre-Enero, estas condiciones probablemente favorecieron la floración y la fructificación, durante el tiempo en que se llevo a cabo este estudio (2006-2007).

Lo anterior sirve para explicar el aborto de botones florales y frutos en los primero estados de desarrollo en la Reserva de Bremen y la mayor producción de flores que de frutos en las dos zonas.

La Reserva Natural Privada El Secreto (Boyacá), se tomó como sitio de muestreo debido a que se reconocieron alrededor de 80 individuos de *P. lucuma*, de los cuales seis se encontraban en estados de floración y fructificación (Tabla 3). Con el

propósito de recolectar frutos, se realizaron cuatro visitas a esta reserva: en los meses de Agosto y Septiembre de 2006, se recolectaron aproximadamente 200 frutos y a partir de Septiembre cuatro individuos que se encontraban en fructificación se monitorearon cada ocho días hasta Enero de 2007, y se recolectaron 400 frutos. Finalmente, en Mayo de 2007 se recolectaron 90 frutos y se tomó la muestra botánica.

Se observaron diferencias en el tamaño y la forma de los frutos en las dos zonas de estudio. En la Reserva de Bremen, La Popa (Quindío), los frutos con mayor tamaño midieron entre 10-15 cm de diámetro y su forma durante el proceso de maduración varió de ovalada a redonda, mientras que, en La Reserva El Secreto, los frutos con mayor tamaño midieron entre 6-8 cm de diámetro y su forma durante todo el proceso de maduración fue redonda (Figura 7). Estas diferencias en tamaño y forma se pueden atribuir a las condiciones ambientales de cada zona en relación con la temperatura, la incidencia de luz solar y la fertilidad del suelo (Lizana, 1990; Gentry, 1996).

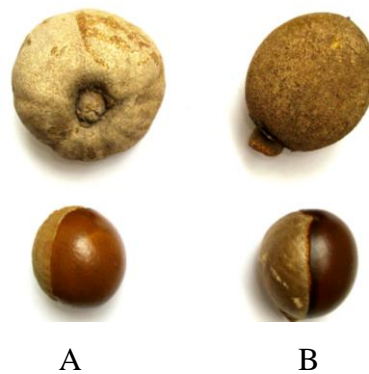


Figura 7. Frutos y semillas de *Pouteria lucuma*, (A) provenientes de la Reserva El Secreto (Boyacá) y (B) provenientes de la Reserva Bremen, La Popa (Quindío).

En las dos zonas de estudio, el período de maduración de los frutos de los individuos varió de 9 a 12 meses, lo cual puede estar influenciado por las características de la planta madre, y por las condiciones ambientales (Muñoz, 2006). Según Lizana (1990), *P. lucuma* es una especie sensible a las condiciones ambientales desfavorables como son los diferentes tipos de estrés biótico y abiótico. Los de tipo

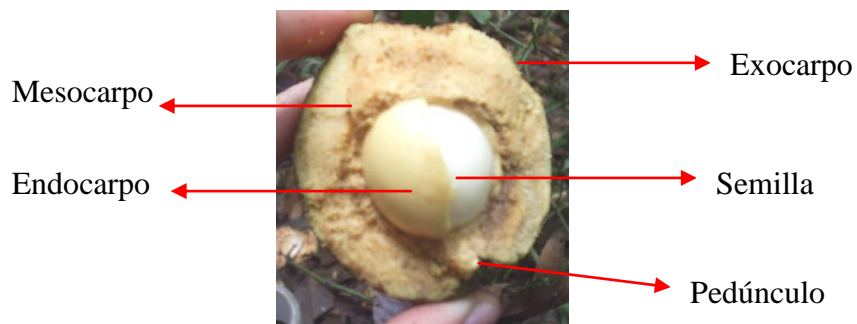
biótico pueden ser: competencia entre plantas, ataque de insectos, enfermedades, actividad humana y herbivoría y los de tipo abiótico incluyen: sequía, inundaciones, baja fertilidad y textura del suelo, temperaturas extremas, contaminación, fuego y viento. Sin embargo, las plantas a través del tiempo han desarrollado mecanismos de respuesta frente a estos tipos de estrés (Lambers *et al.*, 1998), por ejemplo, los individuos de *P. lucuma* adaptan su ciclo de vida, extendiendo el período de maduración de los frutos, cuando las condiciones ambientales se constituyen en un factor de estrés (Lizana, 1990; Koslowski *et al.*, 1991).

En las dos zonas de estudio, la recolección de frutos de los individuos fue compleja, debido a factores como: la altura de los árboles (15 y 30 m) y la ubicación de los frutos en la copa. Así mismo, la corteza de los árboles es demasiado lisa, lo cual, dificultó la escalada en época de lluvia, siendo permanente a lo largo del año 2006 en las dos Reservas, limitando así, la obtención de la cantidad de frutos requerida.

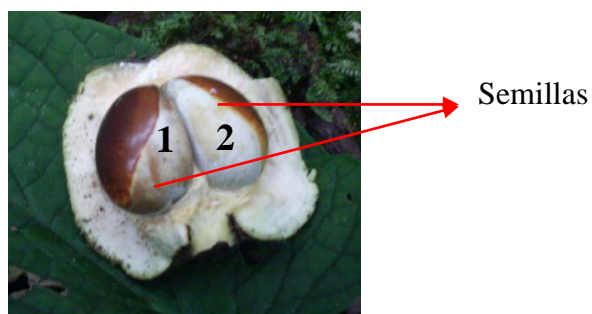
6.2 DESCRIPCION DE FRUTOS Y SEMILLAS DE *Pouteria lucuma*

6.2.1 Morfología de frutos

Según, Ugarte & Zaragoza (2000), los frutos de *P. lucuma* son de consistencia carnosa en forma de drupa y el número de semillas máximo por fruto es de tres. Aunque, son poco frecuentes los frutos con dos y tres semillas. Este tipo de frutos se caracteriza por presentar tres capas: exocarpo, mesocarpo y endocarpo (Figuras 8 A y B). El exocarpo forma la piel o cáscara, el mesocarpo generalmente es grueso, carnoso, jugoso y dulce y el endocarpo es extremadamente duro, formado por esclerénquima y dentro de éste se encuentra la semilla. Las drupas poseen una ventaja, ya que, maximizan la atracción de los animales con el mínimo daño a las semillas (Mauseth, 2003).



A



B

Figura 8. Frutos y semillas de *Pouteria lucuma*. (A) Partes del fruto. (B) Dos semillas dentro del fruto.

6.2.2 Morfología de semillas

6.2.2.1 Anatomía de las semillas de *Pouteria lucuma*

Las semillas de *P. lucuma* son no endospermicas, con dos cotiledones convexos (Pulle, 1932; Pennington, 1990), de consistencia dura y cerosos. El eje embrionario es en forma de corazón y mide entre 2 y 4 mm. Durante el proceso de germinación de tipo semi-epígea, de la parte superior del eje embrionario brota el hipocótilo y de la inferior la raíz (Baskin & Baskin, 1998) (Figuras 6B, 9 y 10).

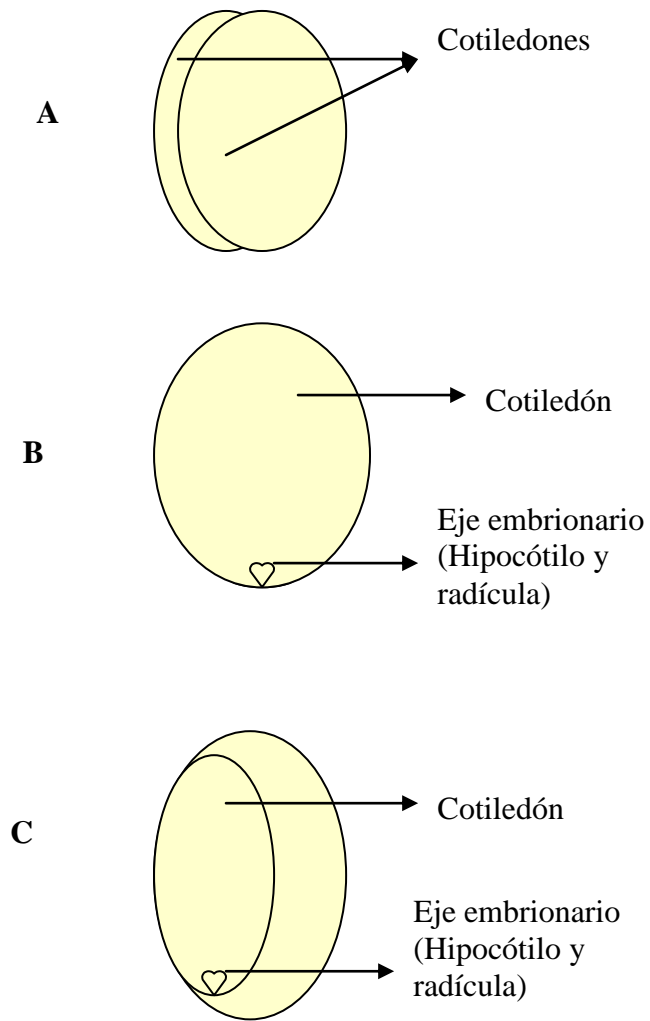


Figura 9. Anatomía de la semilla de *Pouteria lucuma*. **A.** Semilla completa. **B.** Vista frontal. **C.** Vista lateral.



Figura 10. Estructuras de las semillas de *Pouteria lucuma*.

6.2.3 Caracterización de frutos y semillas de *Pouteria lucuma* con base en aspectos morfológicos

El análisis Cluster para frutos y semillas identificó 3 grupos A, B y C realizando el corte al nivel de 0.100. El **grupo A** incluyó los individuos asociados por, frutos con endocarpo de color café y de consistencia dura, y por semillas con cotiledones de color amarillo y testa gris (Figura 11).

El **grupo B** incluyó los individuos asociados por, frutos con endocarpo de color amarillo y consistencia blanda arrugada, y semillas con cotiledones de color hueso y testa blanca (Figura 11).

El **grupo C** incluyó los individuos asociados por, frutos con endocarpo de color blanco y consistencia blanda lisa, y semillas con cotiledones de color blanco y testa húmeda y transparente (Figura 11).

Los individuos 21, 22 y 25, a pesar que fueron ubicados en el grupo B, presentaron frutos con endocarpo de color blanco y consistencia blanda lisa y semillas con cotiledones de color blanco. Así mismo, el individuo 5 presentó frutos con endocarpo de color café y consistencia dura, y semillas con cotiledones de color amarilla y testa gris y fue ubicado en el grupo C (Figura 11).

Se observó que las variables asociadas con peso y longitud no son los parámetros más indicados para determinar el grado de madurez de los frutos, puesto que, las características más relevantes en la agrupación de los individuos fueron: el color y la consistencia del endocarpo, el color de los cotiledones y la testa.

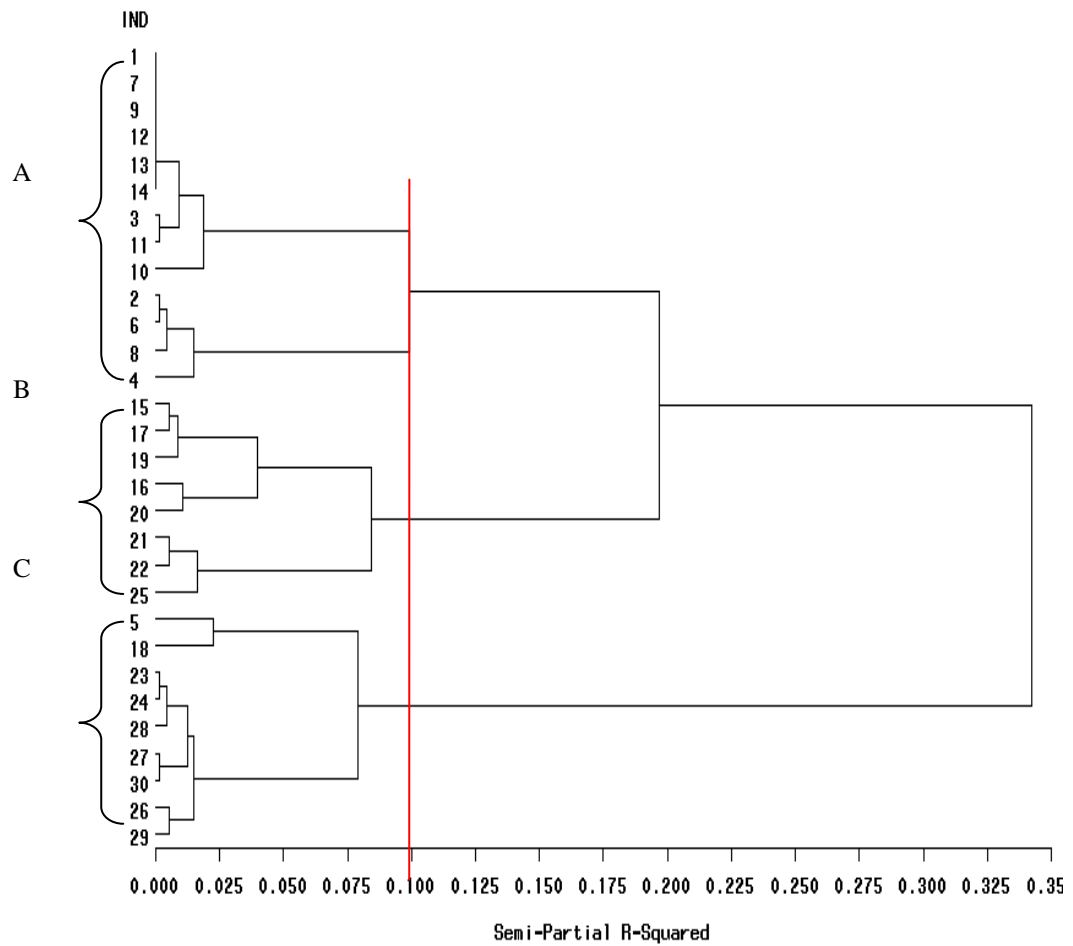


Figura 11. Dendrograma para la caracterización morfológica de 30 individuos de *Pouteria lucuma*.

6.2.3.1 Tipos de frutos

De acuerdo con el análisis Cluster y con las características morfológicas por las cuales fueron agrupados los individuos, los frutos se dividieron en tres tipos (Tabla 4).

Tabla 4. Características morfológicas de frutos de *Pouteria lucuma*. Tipos de frutos: endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).

Características	TFA	TFB	TFC
Pedúnculo	Aumenta el grosor pero la dureza y el color es igual.		
Tamaño y forma	Aumenta el tamaño significativamente, sin embargo, no es un factor determinante de la madurez, pues frutos de diferentes tamaños presentan semillas del mismo grado de madurez.		
Exocarpo	No se observan variaciones en el color (verde), ni textura (suave), ni en el grosor, el cual es siempre delgado.		
Mesocarpo	La textura es arenosa, de color amarillo, dura y sin olor.		
Endocarpo	Consistencia dura, la mitad es de color café oscuro, brillante y lisa, y la otra mitad es de color blanco o café claro, corrugada y dura, con apariencia de cicatriz.	La mitad de color amarillo brillante, la consistencia es un poco más dura que en los frutos TFC, textura arrugada. La otra mitad de color blanco o café claro, corrugada y un poco blanda con apariencia de cicatriz.	Consistencia blanda, textura lisa, de color blanco o transparente y no está presente la cicatriz.

La maduración, es la fase final del crecimiento y desarrollo del fruto en la que se producen una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos, que conducen a la senescencia y abscisión del fruto. Parámetros como el color, el aroma, la textura y el sabor de los frutos, determinan la atracción de animales cuyo papel ecológico es la dispersión de las semillas. En algunas especies la combinación de estos parámetros coincide con el estado de máxima viabilidad de la semilla (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Trujillo, 1997; Goulao & Oliveira, 2007).

Para determinar el grado de madurez de los frutos de *P. lucuma* en campo, el tamaño fue un indicador importante, ya que, este aumenta con el proceso de maduración (Figura 12). Sin embargo, en algunos casos frutos pequeños contenían semillas maduras y frutos grandes contenían semillas inmaduras.

Desarrollo y maduración de frutos

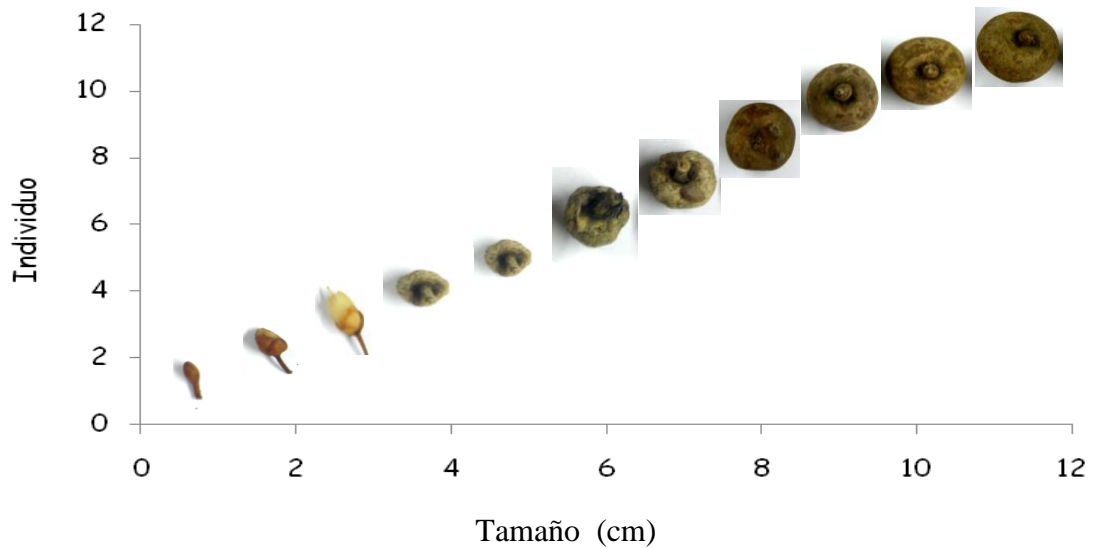


Figura 12. Frutos y flores de *Pouteria lucuma* en diferentes tamaños.

El tamaño del fruto, depende de la planta madre puesto que, la velocidad de crecimiento, el tamaño final y la forma, son influenciados por factores genéticos. Así mismo, los eventos metabólicos responsables de los cambios en la maduración de los frutos son: la pérdida en la presión de turgencia, cambios fisiológicos en la composición de las membranas, modificaciones en las relaciones simplásticas y apoplásticas, degradación de almidones y modificaciones en la dinámica y estructura de la pared celular. Por otro lado, dentro de los géneros y las especies, el tamaño y la forma presentan un amplio intervalo (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Goulao & oliveira, 2007).

Este tipo de variaciones interespecíficas pueden deberse a las diferencias en el número de células del ovario previamente a la antesis, las cuales a su vez están influenciadas por los cambios ambientales y los factores genéticos (Kozłowski *et al.*, 1991; Azcón-Bieto & Talón, 1993; Arteaga, 2007).

Al inicio del estado de fructificación, los frutos formados a partir de las flores que se encuentran en ramas laterales vigorosas y que abren primero presentan mayor tamaño. Por lo tanto, la época de antesis y la posición de las flores en las ramas, es un factor que influye en el tamaño del fruto (Azcón-Bieto & Talón, 1993; Azcón-Bieto & Talón, 2000; Diggle, 1995).

Los frutos de *P. lucuma* ubicados en la parte más alta del árbol y hacia el borde de la copa presentaron mayores tamaños, lo que posiblemente se debe a que las ramas del tercio superior del follaje están sometidas a mayores niveles de irradianza. Esta condición determina que las tasas de fotosíntesis foliar sean más altas, por lo que, la reducción de azúcares y la oxidación de CO₂ será mayor, lo cual va a contribuir a la producción de ATP necesario en el crecimiento de los frutos (Azcón-Bieto & Talón, 1993, Azcón-Bieto & Talón, 2000).

Para diferenciar los grados de madurez de los frutos, se tuvo en cuenta el color del endocarpo ya que esta característica morfológica presenta los mayores cambios durante el proceso de maduración (Azcón-Bieto & Talón, 2000). El endocarpo en estado maduro, está totalmente compuesto por células esclerificadas y su dureza se debe a la deposición de una doble pared celular secundaria con alto contenido de lignina, esta acumulación aumenta con la maduración de los frutos incidiendo en el cambio de color y consistencia (Mauseth, 2003).

Finalmente, el endurecimiento y color del endocarpo blanco, amarillo y café, coinciden con la disminución del contenido de humedad de las semillas 88,53%, 77,68%, 52,08%, respectivamente. Así mismo, el color de la testa también presenta variaciones (trasparente blanca y gris,) (Figura 13, Tabla 4).



Figura 13. Tipos de frutos en diferentes grados de madurez. endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).

6.2.3.2 Tipos de semillas

De acuerdo con el análisis Cluster y con las características morfológicas por las cuales fueron agrupados los individuos, las semillas se dividieron en tres tipos (Tabla 5).

Tabla 5. Características morfológicas de semillas de *Pouteria lucuma* extraídas en diferentes grados de madurez del fruto. Tipos de semillas: testa gris (TSA), testa blanca (TSB) y testa transparente (TSC).

Características	TSA	TSB	TSC
Tamaño	El tamaño es muy variable en los tres tipos de semillas y en los tres casos en promedio es de 3 cm a 8 cm. de longitud.		
Testa	Color gris, permanece en la semilla.	Color blanco, se queda pegada al endocarpo.	Color transparente, húmeda y no se diferencia a simple vista.
Cotiledones	Convexos, color amarillo, consistencia dura, con aspecto de cera y brillante.	Convexos, color hueso, consistencia dura y húmedos.	Convexos, color blanco, consistencia blanda y húmedos.

Las semillas de *P. lucuma* se diferenciaron morfológicamente en cuanto a color y consistencia de los cotiledones, color y textura de la testa y fisiológicamente por el contenido de humedad. Estas variaciones pueden deberse a los cambios originados durante el proceso de formación de las mismas, el cual, inicia en el momento de la fertilización (Tabla 5).

Durante la formación de las semillas se reconocen tres fases: en la primera fase, el tamaño de la semilla aumenta hasta un 80%, como resultado del proceso de división

celular principalmente. En esta fase se incrementa la demanda de agua y nutrientes que proceden desde la planta madre a través del funículo y llegan a la semilla, dando como resultado la formación de cotiledones, radícula, endospermo y cubiertas seminales (Kermode, 1995).

En la segunda fase o fase de maduración, ocurren los procesos de expansión celular y acumulación de materia seca en los tejidos de almacenamiento de la semilla. Luego alcanza su máximo peso seco y se desprende de la planta madre. Al finalizar esta etapa, comienza la tercera fase, en la cual, se deshidratan los tejidos constituyentes de la semilla y el embrión entra en estado de quiescencia (Kermode, 1995),

Según lo anterior, es probable que las semillas con testa transparente (TSC), se encontraban en la fase I, es decir en procesos de histodiferenciación, ya que la formación de las cubiertas seminales no había culminado. Por otro lado, las semillas con testa gris (TSA) y testa blanca (TSB) se encontraron en la fase II, puesto que, la testa estaba en un proceso de formación más avanzado con respecto a la de las semillas con testa transparente (TSC), sin embargo, los dos tipos de semillas presentaron altos contenidos de humedad (TSA, 52,08 y TSB 77,68%) (Figura 14).

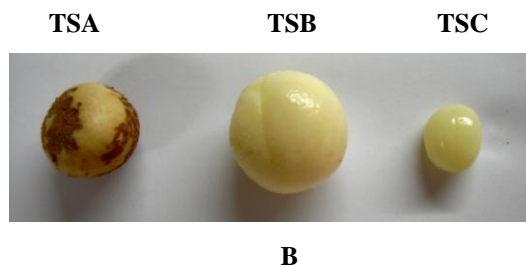


Figura 14. Semillas de *Pouteria lucuma* extraídas de frutos en diferentes grados de madurez. Testa gris (TSA), testa blanca (TSB) y testa transparente (TSC).

En la última fase los tejidos de las semillas pierden humedad hasta alcanzar su máximo peso seco o madurez fisiológica. En algunos casos cuando los frutos se desprenden de la planta madre y las semillas aún presentan altos contenidos de

humedad (50-70% en *P. lucuma*), la tercera fase no ocurre y se inicia el proceso de germinación sin necesidad de desecación de los tejidos y que el embrión entre en quiescencia (Flores, 1995; Daws *et al.*, 2005).

6.3 CONTENIDO DE HUMEDAD

6.3.1 Semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC)

El contenido de humedad para las semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC), fue de 52.08%, 77.68% y 88.53%; respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6. Contenidos de humedad de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA), endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TCF).

Tipo de fruto	Promedio del porcentaje del contenido de humedad
Endocarpo café (TFA)	52.08%
Endocarpo amarillo (TFB)	77.68%
endocarpo blanco (TFC)	88.53%

El contenido de humedad sugiere que las semillas de *P. lucuma* son recalcitrantes, ya que el porcentaje de humedad de este tipo de semillas se encuentra entre 30-70%, aunque, esto puede variar entre especies (Bewley & Black, 1984; Flores, 1995; Baskin & Baskin, 1998; Berjak & Pammenter, 2003).

Las semillas recalcitrantes, se caracterizan por que la pérdida de humedad es mínima y no hay disminución de la actividad metabólica durante la maduración, presentan resistencia a la rehidratación, el desarrollo y la germinación ocurren sin período de quiescencia ya que, aunque éstas presenten altos contenidos de humedad, las estructuras propias de las semillas se encuentran formadas (Flores, 1995; Kermode, 1995; Pammenter & Berjak, 2000).

Sin embargo, determinar si una semilla es recalcitrante u ortodoxa solamente por el contenido de humedad no es adecuado, ya que otra característica inherente a las semillas recalcitrantes es la dificultad para el almacenamiento al ambiente, por el metabolismo continuo, razón por la cual, pierden viabilidad si el contenido de humedad desciende a niveles críticos ($< 20\%$). (Walters, 2000; Daws *et al.*, 2005; Arteaga, 2007).

En el ensayo de almacenamiento al ambiente de semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) a las que se les había retirado gran parte del fruto a excepción del endocarpo, se observó pérdida de contenido de humedad entre 8 y 15 días. Para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) el CH disminuyó a 15.06% y a 18.23%, respectivamente. También, se observó la presencia de hongos (A), disminución del tamaño de los cotiledones aparentemente debido a la deshidratación (B) y cambio de color de los cotiledones a café oscuro (Figura 15).



Figura 15. Semillas de *Pouteria lucuma* almacenadas al ambiente.

De acuerdo a estudios realizados con semillas recalcitrantes, en condiciones de temperatura, humedad relativa y recipientes de almacenamiento controlados; se han obtenido resultados positivos en cuanto a viabilidad y porcentajes de germinación, mientras que, al ser almacenadas bajo condiciones ambientales ocurre pérdida de

viabilidad y de porcentajes de germinación (Bewley & Black, 1984; Willan, 1991; Kermode, 1995; Baskin & Baskin, 1998; Daws *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2006).

Con lo anterior, se puede sugerir que las semillas de *P. lucuma* no toleran el almacenamiento al ambiente, puesto que ocurrió deshidratación de los tejidos ocasionando pérdida de viabilidad, ya que en semillas recalcitrantes, no están presentes los requerimientos necesarios para tolerar la desecación, los cuales si se evidencian en semillas ortodoxas, algunos de estos requerimientos son: integridad del citoesqueleto, en semillas ortodoxas este se desorganiza cuando la semilla pierde humedad y se reorganiza cuando ocurre la imbibición, sucediendo lo contrario en semillas recalcitrantes, ya que son resistentes a la rehidratación. Por otro lado, en semillas ortodoxas el número de mitocondrias es menor que en semillas recalcitrantes, lo cual está relacionado con la actividad respiratoria y la disminución del metabolismo, lo que ocurre durante el proceso de maduración de las semillas ortodoxas a diferencia de las semillas recalcitrantes y el mantenimiento continuo de la actividad metabólica (Berjak & Pammenter, 2003).

La presencia de sistemas antioxidantes en las semillas ortodoxas, evitan los daños producidos por los radicales libres formados por la disminución del contenido de humedad, los cuales son átomos o grupos de átomos que tienen un solo electrón desapareado en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren los tejidos intentando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, una vez el radical libre ha conseguido tomar el electrón, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye células. Por lo tanto, al estar ausentes dichos sistemas en semillas recalcitrantes los radicales libres ocasionan pérdida de viabilidad. Así mismo, la acumulación de moléculas de protección como la proteína LEA “Late Embryonic Accumulating”, la cual es un juego de proteínas hidrofílicas y resistentes al calor, evita la pérdida de viabilidad en el proceso de desecación durante la maduración en semillas ortodoxas y en algunas

recalcitrantes, además, su síntesis esta asociada con altos niveles de ABA hormona que induce dormancia y contribuye en la resistencia a estrés, la cual no esta presente en la mayoría de las semillas recalcitrantes, (Berjak & Pammenter, 2003).

Por otro lado, el contenido de humedad, se puede tomar como un indicador del grado de madurez en que se encuentra la semilla, debido a que los cambios de consistencia y color del endocarpo, los cotiledones y la testa; coinciden con la disminución en los porcentajes de contenido de humedad. Por lo tanto, semillas extraídas de frutos endocarpo café (TFA) presentan un grado de madurez más avanzado que las semillas extraídas de frutos endocarpo amarillo (TFB) y endocarpo blanco (TFC).

6.4 CURVA DE IMBIBICIÓN

6.4.1 Semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB)

El peso seco inicial para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) fue de 266.2 g y 220.9 g y el peso fresco final fue de 273.4 g y 242.2 g respectivamente. Se observó que las semillas de frutos en diferentes grados de madurez, presentaron un patrón similar de toma de agua (Figura 16).

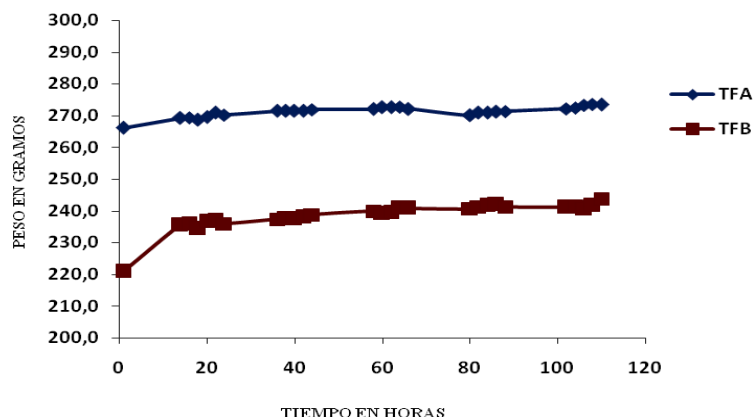


Figura 16. Curvas de imbibición de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB).

Durante las primeras 24 horas de la prueba, el peso fresco de las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) aumentó de 266.2 g a 270.2 g, y el peso fresco de las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) aumentó de 220.9 g a 235.9 g. Durante este tiempo de imbibición, se presentó la fase inicial en la que la toma de agua es rápida debido a la diferencia entre el potencial hídrico de la semilla y el potencial hídrico del medio externo. A medida que se hidrata la semilla, la diferencia en el potencial hídrico se hace menor y se estabiliza la entrada de agua, ocurriendo la segunda fase de imbibición (Bewley & Black, 1984; Bewley, 1997; Taiz & Zeiger, 2002) (Figura 16).

Esta diferencia en los patrones de entrada de agua, se puede deber a que en las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) la testa se desprendía ya fuera al extraer las semillas del endocarpo o al contacto con el agua. Por su parte, en las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) la testa permanecía en las semillas luego de retirado el endocarpo y al contacto con el agua, además, se observó una coloración en el agua aparentemente producida por la testa de las semillas, que podría ser atribuida a la presencia de taninos. Por lo tanto, la diferencia en los resultados de la imbibición se puede deber a las características de la testa y a la presencia de compuestos como fenoles entre ellos taninos. Estos son compuestos fenólicos que protegen a la semilla contra herbívoros, hongos, bacterias y virus. (Werker, 1997; Boudet, 2007; Veberic *et al.*, 2007)

Los fenoles del tipo de los taninos, pueden oxidarse y causar impermeabilidad, lo cual además de contribuir a la supervivencia de las semillas en campo, intervienen en la toma de agua por parte de la semilla (Halloin, 1981; Bewley & Black, 1984; Werker, 1997; Liu *et al.*, 2007). Durante el proceso de maduración de la semilla, estos compuestos, van disminuyendo su concentración en los cotiledones y por el contrario van aumentando en la testa (Goyoaga, 2005). La testa de las semilla de *P. lucuma* no es una estructura dura, ni gruesa, característica de semillas de frutos en forma de drupa, por lo que la testa al actuar como barrera entre el medio externo y el embrión,

lo cual se debe a que en la mayoría de las especies presenta una cutícula externa e interna formada por capas de células con paredes gruesas a menudo con presencia de ceras o grasas (Werker, 1997) (Figura 17). Por lo tanto, la entrada de agua hacia la semilla, podría estar más influenciada por la presencia de estos compuestos, que por la consistencia de la testa.

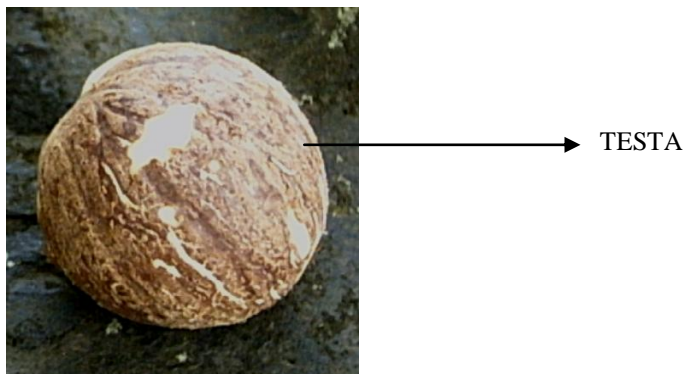


Figura 17. Testa de la semilla de *Pouteria lucuma*.

Por consiguiente, las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) donde la testa permanece en la semilla y posiblemente la coloración esté influenciada por la presencia de taninos, el aumento del peso fresco es menor con relación a las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), lo cual, se atribuye a la impermeabilidad que adquiere la testa debido a la concentración de dichos compuestos (Moreno *et al.*, 2006). Esta impermeabilidad en el hábitat natural es de gran importancia ya que va a evitar que microorganismos que puedan afectar la viabilidad de la semilla entren en contacto con ella, ya que la testa y lo que la compone actúa como una barrera física que evita daños procedentes del medio externo (Werker, 1997).

6.5 PRUEBA DE VIABILIDAD

6.5.1 Semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB)

De acuerdo con los patrones de coloración de tetrazolio, los embriones de *P. lucuma* de las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB), presentaron un porcentaje de viabilidad del 100%. La viabilidad se determinó por la intensidad de coloración de los cotiledones y por la tinción parcial o completa del eje embrionario, constituido por el hipocótilo y la radícula. Todos los patrones se tomaron como viables, ya que, la consistencia de la semilla era dura y no presentaban deterioro ni daños. Como resultado, se registraron seis patrones para semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) (Tabla 7).



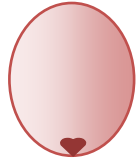

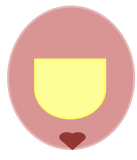



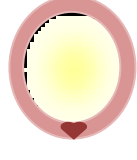
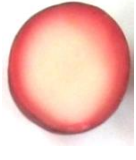
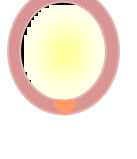

El patrón 1 (cotiledones y eje embrionario totalmente teñidos) presentó una coloración más uniforme y oscura con respecto a los demás patrones, lo que en ocasiones se relaciona con semillas deterioradas (Arango & Craviotto, 2001). Sin embargo, se tomó como viable ya que la coloración de las semillas era roja brillante y las estructuras se observaron sanas, libres de daños y de consistencia dura (Moore, 1985).

Las semillas de los patrones 2, 3 y 4 (cotiledones parcialmente teñidos mayor al 50% y eje embrionario totalmente teñido), las semillas del patrón 5 (cotiledones parcialmente teñidos menor al 50% y eje embrionario parcialmente teñido) y las semillas del patrón 6 (cotiledones parcialmente teñidos menor al 50% y eje embrionario totalmente teñido), aunque no se tiñeron totalmente se tomaron como viables, puesto que en ocasiones los tejidos muy sanos presentan una falta de coloración o un color blanco brillante, pero siempre acompañada de una buena consistencia que los diferencia de los tejidos muertos que presentan color blanco y poca consistencia (Arango & Craviotto, 2001). Por otro lado, los tejidos sanos tienden a teñirse gradual y uniformemente desde las superficies externas hacia el interior, lo cual se observa en los patrones 3 al 6, por lo que la falta de coloración también puede deberse a que era necesario más tiempo para completar la tinción (Moore, 1985).

Adicionalmente, en los 6 patrones el eje embrionario se tiñó adecuadamente, siendo

un criterio para tomar las semillas viables, ya que esta parte es la más importante durante la germinación (Copeland & McDonald, 1995; ISTA 2006).

Tabla 7. Patrones de tinción para interpretar los resultados de la prueba de Tetrazolio en semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB).

Clase	Descripción	Viabilidad	Porcentaje de viabilidad por tipo de fruto		Esquema	Figura
			TFA	TFB		
1	Cotiledones y eje embrionario 100 % teñidos.	Viable	13-33%	2.22%		
2	Cotiledones parcialmente teñidos >50%, eje embrionario 100% teñido.	Viable	40%	20%		
3	Parte superior de los cotiledones teñido >50%, eje embrionario 100% teñido.	Viable	15.56%	24.44%		
4	Parte inferior de los cotiledones teñido >50%, eje embrionario 100% teñido.	Viable	15.56%	13.33%		
5	Cotiledones parcialmente teñidos <50%, eje embrionario 100% teñido.	Viable	6.66%	13.33%		
6	Cotiledones parcialmente teñidos <50%, eje embrionario parcialmente teñido	Viable	8.89%	26.7%		

Combinar los resultados de la prueba de viabilidad con los resultados de la prueba de germinación, puede ser útil para determinar la presencia de dormancia. La primera prueba indica el porcentaje de semillas vivas y la segunda el porcentaje de germinación (Copeland & McDonald, 1995), por lo tanto, al haber presentado una capacidad germinativa y viabilidad del 100%, se puede determinar la ausencia de dormancia de las semillas de esta especie bajo las condiciones en las cuales se llevó a cabo este estudio.

6.6 PRUEBA DE GERMINACIÓN

6.6.1 Germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en condiciones de vivero

Los porcentajes de germinación fueron de 100 y 0 %, para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y con endocarpo amarillo (TFB), respectivamente, de acuerdo a lo anterior el análisis de los índices de germinación GC, R₅₀, R₅₀' , GRI, GV, PV y MDG se realizó únicamente para los resultados obtenidos en la germinación de las semillas de frutos con endocarpo café (TFA). El análisis de varianza (ANOVA), la prueba de rango múltiple de Duncan y la correlación lineal; se realizaron para las semillas de los dos tipos de frutos (Anexo K).

Con respecto a la Figura 18, se observaron dos fases, la primera comprendió el período entre la siembra y el inicio de la germinación (0-60 DDS) y la segunda correspondió al período en que germinaron todas las semillas (60-118 DDS).

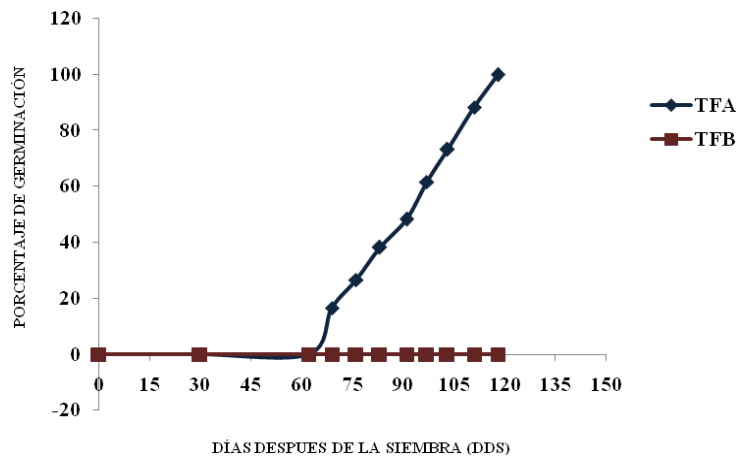


Figura 18. Curva de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y con endocarpo amarillo (TFB) sembradas en vivero.

De acuerdo con el análisis de varianza y la prueba de Duncan, el grado de madurez del fruto tuvo una incidencia altamente significativa (Tablas 8 y 9) en la respuesta germinativa de las semillas de *P. lucuma*, puesto que, las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) presentaron mayor respuesta germinativa que las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), ya que la capacidad germinativa (GC) fue de 100 y 0 % respectivamente. Esta diferencia se puede atribuir a que las semillas de frutos (TFA), posiblemente, se encontraban en un estado de desarrollo más avanzado con respecto a las semillas de frutos (TFB), por consiguiente, la acumulación de reservas era mayor, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos en el contenido de humedad, puesto que, Según Alves *et al* (2005) durante la maduración de las semillas al acumularse materia seca hay una disminución en el contenido de humedad, alcanzando su máximo peso seco y por lo tanto la madurez fisiológica, para luego germinar cuando las condiciones del medio son adecuadas.

Tabla 8. Análisis de varianza para los índices de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.

F.V	DF	Índices	GC	GRI	R ₅₀	R ₅₀ '	PV	MDG	GV
		Promedio	50**	1,44**	45,17**	45,17**	0,085**	0,085**	0,0015**
Madurez	1	CV (%)	0	1,72	11,00	11,00	0	0	0

Tabla 9. Resultados de la prueba de Duncan para los índices de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) sembradas en tierra-turba en vivero.

Madurez	GC	GRI	R₅₀	R₅₀'	PV	MDG	GV
TFA	100(a)	2.89(a)	90.33(a)	90.33(a)	0.17(a)	0.17(a)	0.03(a)
TFB	0(b)	0(b)	0(b)	0(b)	0(b)	0(b)	0(b)

El índice R₅₀, el cual expresa el número de días requeridos para que germine el 50% de las semillas sembradas fue de 90.33, y el índice R₅₀', el cual expresa el día en el cual germinó el 50% del total de las semillas que germinaron fue de 90.33 (Tabla 9), la semejanza en los resultados se debe a que la capacidad germinativa (GC) fue del 100% (Lizana, 1990; Muñoz, 2006; Padilla *et al.*, 2006).

El GRI, el cual expresa la velocidad de germinación de acuerdo con el número total de semillas que germinan en un intervalo de tiempo (entre cada lectura) fue de 2.89. El índice PV, que expresa la velocidad de germinación, como el máximo cociente derivado de la división del porcentaje de germinación en el número de días, fue de 0.17, obteniendo el mismo valor para el índice MDG, que expresa el número de semillas germinadas diariamente en el tiempo total de la prueba, debido a que la germinación fue uniforme y no hubo un lapso de tiempo donde germinaran un número mayor o menor de semillas, finalmente el índice GV, el cual combina la germinación media diaria (MDG) con la velocidad de germinación (PV) fue de 0.03 siendo un valor bajo, lo cual se puede deber al tiempo del período de observación (118 días) (Tabla 9).

En algunos casos los cotiledones de semillas con germinación epígea o semi-epígea son persistentes, es decir, que no dan lugar a las hojas cotiledonares si no que aportan sus reservas antes, durante y después de la germinación. Por otro lado, pueden sintetizar fotoasimilados hasta que aparezcan las primeras hojas (Mujica & Rumi, 1998), lo cual aparentemente ocurrió en las semillas de *P. lucuma*, lo cual se soporta por la coloración verde que tomaron los cotiledones. Por lo tanto, el período

prolongado de la prueba, se puede atribuir a la movilización de las reservas, ya que además, los cotiledones de las semillas de esta especie son grandes con respecto al eje embrionario (Figura 10).

De acuerdo con los resultados de los índices (Tabla 9), la germinación fue uniforme, lo cual se puede atribuir a las características inherentes de una especie con semillas recalcitrantes, como son el metabolismo continuo, pérdida de viabilidad por desecación y ataque de hongos y bacterias atribuibles a los altos contenidos de humedad de la semilla (Willan, 1991; Flores, 1995). Es probable que las semillas de frutos con endocarpo café (TFA), se encontraban en un grado de madurez avanzado y presentaron características como la consistencia de la testa que les permitió germinar bajo las condiciones de vivero (temperatura: 20°C y HR: 40%).

Las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) no germinaron, a pesar de presentar el eje embrionario ya formado, posiblemente por las características de la testa, puesto que, la testa de las semillas de este tipo de fruto quedaba pegada al endocarpo o se desprendía al contacto con el agua. La testa tiene la función de proteger el embrión de cualquier daño procedente del medio externo, así mismo, evita la deshidratación y el ataque de hongos y bacterias hasta que el embrión se encuentre en condiciones de germinar. Por lo tanto, las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), posiblemente se contaminaron con hongos al no presentar dicha barrera, ya que las condiciones en que se sembraron no eran estériles y pudieron favorecer el desarrollo de microorganismos, también, se observó que perdieron humedad rápidamente, lo cual pudo ocasionar el deterioro de las semillas impidiendo la germinación (Niembro, 1980; Bewley & Black, 1984; Moreno *et al.*, 2006).

6.6.2 Germinación de semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y edocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio

El porcentaje de germinación fue de 100%, para las semillas de los dos tipos de frutos (TFA y TFB) (Anexo L). Con respecto a la Figura 19, se observaron dos fases, la primera fase, la cual comprendió el período entre la siembra y el inicio de la germinación, se observó entre los 0-10 DDS para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y entre los 0-9 DDS para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB). La segunda fase, la cual correspondió al período en que germinaron todas las semillas, se observó entre los 10-45 DDS para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y entre los 9-22 DDS para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB).

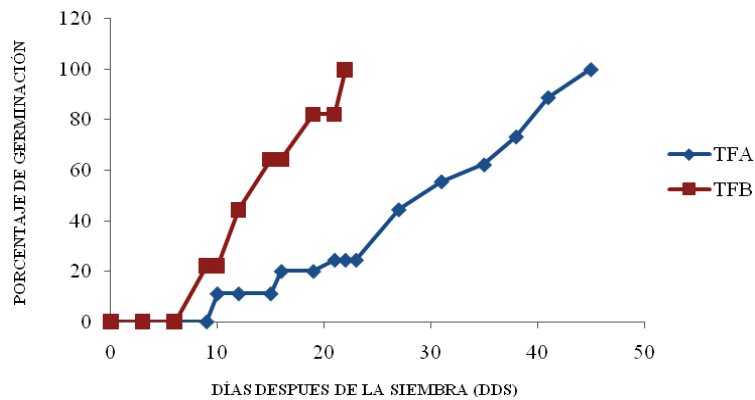


Figura 19. Curva de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y con endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburow KimpackPaper®).

De acuerdo con el análisis de varianza y la prueba de Duncan, el grado de madurez del fruto tuvo un efecto altamente significativo en la respuesta germinativa de las semillas de *P. lucuma*, con base en la germinación de acuerdo al índice MDG, la velocidad de acuerdo a los índices R_{50} , R_{50}' , PV y GRI, y la combinación de la germinación media diaria y la velocidad de germinación de acuerdo al índice GV, mientras que el índice (GC) no hubo un efecto significativo (Tabla 10), debido a que para ambos casos la germinación fue del 100% (Tabla 11).

Por otro lado, la prueba de Duncan indicó que los índices R_{50} y R_{50}' obtuvieron mayores valores para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) (29.66), con

respecto a las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) (12) (Tabla 11), observándose un menor tiempo para que germine el 50% de las semillas sembradas y el 50% del total de las semillas que germinaron, en las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB).

Así mismo, esta prueba indicó que los índices GRI, PV, MDG y GV obtuvieron mayores valores para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) con respecto a las semillas con endocarpo café (TFA) (Tabla 11), lo cual se relaciona con mayor velocidad y por lo tanto, la germinación de mayor número de semillas en menor tiempo.

Tabla 10. Análisis de varianza para índices de germinación de semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®).

F.V	DF	Índices	CG	GRI	R ₅₀	R ₅₀ '	PV	MDG	GV
		Promedio	100NS	4.35**	20,83**	20,83**	0,51**	0,505**	0,286**
Madurez	1	CV (%)	0,00	1.84	7,84	7,84	0,80	0,00	0,47

Tabla 11. Medias de Duncan para índices de germinación para semillas de *Pouteria lucuma* de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®).

Madurez	CG	GRI	R ₅₀	R ₅₀ '	PV	MDG	GV
TFA	100(a)	3.94(b)	29,66(a)	29,66(a)	0,33(b)	0,33(b)	0,11(b)
TFB	100(a)	4.77(a)	12(b)	12(b)	0,68(a)	0,68(a)	0,46(a)

La semejanza en la capacidad germinativa (GC) para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB), se puede atribuir a que las condiciones de temperatura, riego, fotoperiodo y humedad relativa estaban controladas, por lo que, las condiciones no presentaban fluctuaciones que pudieron haber afectado a la semilla ya fuera por deshidratación o por contaminación por presencia de microorganismos, como ocurrió en las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) sembradas en vivero. Por otro lado, aunque las semillas de los dos

tipos de frutos presenten diferencias en el contenido de humedad (Tabla 6) y aparentemente, unas se encontraron en un grado de madurez más avanzado, es característico de las semillas recalcitrantes presentar todas las partes formadas y aptas para la germinación aún con contenidos de humedad altos (Flores, 1995; Pammenter & Berjak, 2000).

Por consiguiente, las semillas de los dos tipos de frutos se encontraban en grados de madurez adecuados para germinar bajo condiciones controladas, las cuales favorecieron la germinación. Por otro lado, al ser una especie que produce tan pocos frutos y que por fruto generalmente contiene una sola semilla, el porcentaje de germinación debe ser alto, ya que es una adaptación que asegura la persistencia de la especie (Flores, 1995; Rickfles & Miller, 2002).

En cuanto al GRI, se presentaron diferencias ya que, para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) el valor fue de 3.94, mientras que para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) el valor fue de 4.78, observándose que entre cada lectura germinó un mayor número de semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) con respecto a las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) (Tabla 11, Figura 20).

Los índices R_{50} y R_{50}' , para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) se alcanzaron a los 29.66 DDS y para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) se alcanzaron a los 12 DDS. Con estos resultados se observa una mayor velocidad de germinación para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) con relación a las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) (Tabla 11, Figura 20). Los índices MDG y PV, para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) fue de 0.33 y para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) fue de 0.68. finalmente el índice GV, para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) fue de 0.11 y para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) fue de 0.46 (Tabla 11).

Con respecto a lo anterior, se observaron diferencias entre la velocidad de germinación de las semillas de los dos tipos de frutos, siendo más rápida para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), esto se puede deber a que la entrada de agua en estas semillas es más rápida que en las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) como se observó en la curva de imbibición (Figura 15). Por lo tanto, es factible que se incrementara la síntesis de nuevos componentes que contribuyeron al crecimiento de la radícula por medio de división y elongación celular (Kermode, 1995).

Aunque el inicio de la germinación en los dos tipos de semillas solo se diferencia en un día (TFA: 10 DDS, TFB: 9 DDS), el tiempo de estabilización de la germinación fue más rápido en semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) (22 DDS), mientras que en semillas de frutos con endocarpo café (TFA) fue de 45 DDS, lo cual se atribuye a la movilización de las reservas, con la incorporación de agua, cambiando la actividad metabólica, y paralelamente iniciando la germinación de las semillas (Kermode, 1995).

Por otro lado, la diferencia en la velocidad de germinación, se puede atribuir a las características de la testa como la aparente presencia de taninos, los cuales limitan la entrada del agua al volverla más impermeable (Ziegler, 1995). Por lo tanto, al desprenderse fácilmente la testa las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), la entrada de agua es más rápida por consiguiente también la degradación de reservas (Halloin, 1981; Bewley & Black, 1984; Werker, 1997; Goyoaga, 2005; Liu *et al.*, 2007).

Finalmente, las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) al tener mayores valores en los índices PV, MDG y GV, presentaron mayor vigor con respecto a las semillas de frutos con endocarpo café (TFA), ya que el vigor es la propiedad que determina el potencial para una emergencia rápida y uniforme de las semillas (Czabator, 1962; Schmidt, 2000).

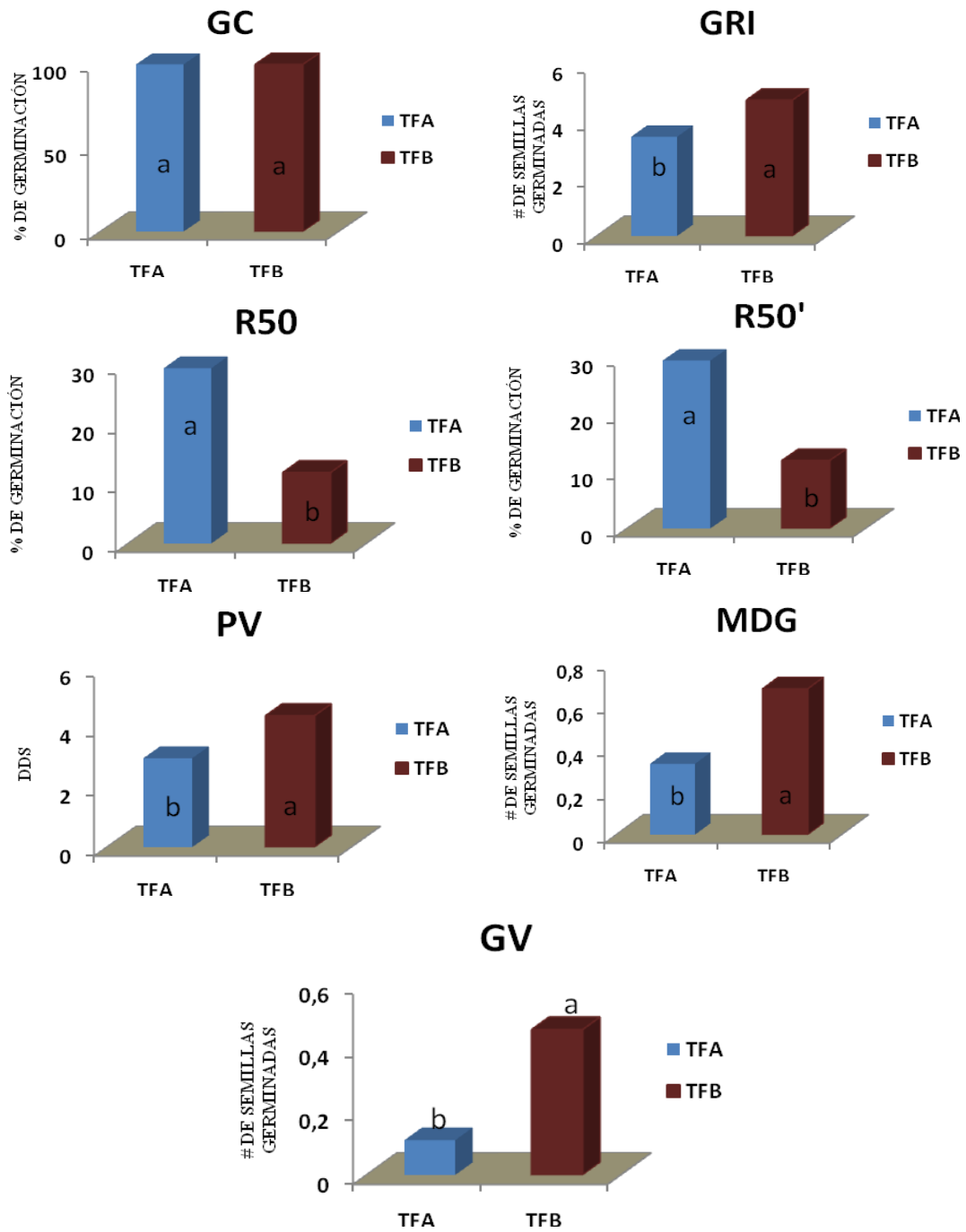


Figura 20. Índices de germinación para semillas de *Pouteria lucuma* ede frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedbuuro KimpackPaper®).

Por otro lado, el tiempo de germinación de las semillas sembradas en vivero fue de 118 DDS para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA), para las semillas colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio, el tiempo de germinación fue de 45 DDS para las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) y de 22 DDS para las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB). Esta diferencia se atribuye a los grados de madurez y a las condiciones ambientales en que se llevaron a cabo las pruebas de germinación en vivero y en laboratorio. En vivero, la temperatura fue de 20°C y la humedad relativa de 40% y en laboratorio, dentro del fitotrón (Lab-Line ® REF. 844) la temperatura fue de 28°C y la humedad relativa de 55-60%.

Así mismo, esta diferencia puede deberse al tipo de semilla, puesto que, las plantas que producen semillas recalcitrantes habitan generalmente en ambientes que promueven una germinación rápida (Flores, 1995; Otegui *et al.*, 2005). Este tipo de ambientes presentan una humedad relativa alta, como la de La Reserva el Secreto donde esta varía de 70-90% según los registros del año 2002 (PBOT GARGOA, 2002). Por lo tanto, la humedad relativa en el fitotrón, fue más adecuada para la germinación de estas semillas.

Por consiguiente, es posible que el mantenimiento del fotoperiodo y la temperatura controlada mantuviera la humedad relativa constante en el fitotrón (Lab-Line ® REF. 844), que permitió que las semillas mantuvieran un equilibrio con el ambiente que las rodeaba (García *et al.*, 1993). Es posible que las semillas germinaron más rápido debido a que las condiciones controladas eran más similares a las condiciones de donde fueron recolectadas, ya que, este tipo de semillas germinan de manera rápida como estrategia de defensa al ataque de diversos predadores y/o son más sensibles a los cambios drásticos de las condiciones ambientales (Flores, 1995; Daws *et al.*, 2005).

Por otro lado, según Heschel *et al* (2007) el fitocromo es estimulado por la luz y la temperatura, así la disminución en el tiempo de germinación se puede relacionar con la mayor actividad del fitocromo A, en presencia de temperaturas mayores a 25°C. Esto se debe a la acción que ejerce el fitocromo en la síntesis de giberelinas (GA) influyendo en la activación de la α -amilasa, la cual, degrada las sustancias de reserva promoviendo la germinación (Casal *et al.*, 1997; Benvenuti *et al.*, 2000). Por lo tanto, al ser más elevada la temperatura en el fitotrón (Lab-Line ® REF. 844), el fitocromo actuó de manera positiva en la síntesis de giberelinas (GA) reflejándose en la disminución del tiempo de germinación entre vivero y laboratorio.

Finalmente, aunque con las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB), en laboratorio se obtuvieron mejores resultados en cuanto a velocidad de germinación con respecto a las semillas de frutos con endocarpo café (TFA) en vivero, no es recomendable utilizar este tipo de semillas puesto que, la capacidad germinativa (GC) en vivero fue de 0%, lo cual se atribuyó a las características de la testa (consistencia húmeda, que se desprende al contacto con el agua o que permanece en el endocarpo) lo cual se relaciona con el efecto del grado de madurez, así mismo, las condiciones de mantenimiento aparentemente favorecieron la producción de microorganismos que contaminaron las semillas. Por consiguiente, el grado de madurez de las semillas de frutos con endocarpo amarillo (TFB) no es el adecuado para realizar propagación en campo o en vivero.

Sin embargo, si la propagación se va a realizar bajo condiciones controladas de temperatura, humedad relativa y papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®), si se podría utilizar este tipo de semillas, si bien, este estudio no contempla la evaluación del crecimiento y desarrollo, las plántulas que se obtuvieron a partir de las semillas de los dos tipos de frutos endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) en condiciones de laboratorio, han tenido un crecimiento similar (Figura 21), además, las que ya fueron trasplantadas a campo sobrevivieron y se han desarrollado adecuadamente (Fernández *com pers.*, 2007).



Figura 21. Plantas de *Pouteria lucuma* obtenidas a partir de semillas de Frutos con endocarpo café (TFA) y endocarpo amarillo (TFB) colocadas en papel de germinación (Seedbuero KimpackPaper®).

7. Conclusiones:

1. La época de cosecha, el tamaño y forma de los frutos y las semillas de los individuos de *Pouteria lucuma*, varían en La Reserva Forestal Bremen, La Popa (Quindío) y en La Reserva Natural Privada el Secreto (Boyacá).
2. Se identificaron tres grados de madurez de los frutos y de las semillas, con base en la consistencia y color del endocarpo y de los cotiledones, color y textura de la testa y el contenido de humedad.
3. Las características de la testa influyen en la toma de agua, lo cual se refleja en la germinación de las semillas con relación a los grados de madurez de los frutos.
4. Los resultados de las pruebas de viabilidad y germinación, en las condiciones de este estudio, indican que las semillas de esta especie no presentaron dormancia.
5. El grado de madurez del fruto así como las condiciones de siembra influyen en la capacidad germinativa (GC) y en la velocidad de germinación de las semillas de *Pouteria lucuma*.

8. Recomendaciones:

1. Ubicar otras poblaciones de *Medicago* en el Eje Cafetero y realizar estudios de fenología de los individuos, con el fin de estimar los tiempos de cosecha en que se presenta mayor producción de frutos y establecer metodologías para su recolección.
2. Evaluar el efecto de la procedencia de los frutos de diferentes zonas de Colombia y otros países, sobre la fisiología de la semilla de *Pouteria lucuma*.
3. Realizar ensayos de germinación en condiciones de invernadero.
4. Realizar estudios de crecimiento y desarrollo de plantas de *Pouteria lucuma*.

9. Bibliografía:

1. ACMA (Asociación para la Conservación del Medio Ambiente). 2003. Solicitud Registro Reserva Natural Privada de la Sociedad Civil El Secreto. 4 p.
2. Aguirre, R. & Peske, S.T. 1992. Manual para el beneficio de semillas. CIAT. Segunda Edición. Cali (Colombia). 248 p.
3. Alves, E. U., Sader, R., Alcántara, R. & Alves, A. U. 2005. MaturaÇão Fisiológica de Sementes de Sabia. Revista Brasileira de Sementes, vol. 27, n° 1. 1-8 p.
4. Anasac. 2000. Usos de la Arena como Sustrato. [En línea] <www.anasac.cl/saveasdialog.asp?cod_cont=1850&bogus=Usos_Arena.pdf> [Consulta: 02/02/08].
5. Arango, M. R & Craviotto, R. M. 2001. Calidad de Semillas de Soja. INTA Oliveros, Santa Fe. 23-28 p.
6. Arteaga, L. L. 2007. El Tamaño de las Semillas de *Vismia glaziovii* Ruhl. (Guttiferae) y su Relación con la Velocidad de Germinación y Tamaño de la Plántula. Rev. Peru. Biol. 14(1) : 17-20 p.
7. Azcón-Bieto, J & Talón, M. 1993. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Interamericana. Mc Graw – Hill. España. 581 p.
8. Azcón-Bieto, J & Talón, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Interamericana. Mc Graw – Hill. España. 519 p.

9. Ballesteros, J. & Rubio, A. 1999. Efecto de Sustratos en el Desarrollo del Chile Picante *Capsicum frutescens* Bajo Invernadero en el Trópico húmedo. Ingeniero Agrónomo con el Grado de Licenciatura. Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda. EARTH. Guácimo. Costa Rica. 63 p.
10. Barrera, A. 1987. Fisiología de Semillas : Curva de Imbibición, Calidad Fisiológica, Efectos de Factores Ambientales Sobre la Germinación. 2 (7). Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia. 43-48 p.
11. Baskin, C & J, Baskin. 1998. Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and germination. Academic Press. U.S.A. 666 p.
12. Bawa, K.S & Webb, C.J. 1984. Flower, Fruit and Seed Abortion in Tropical Forest Trees: Implications for the Evolution of Paternal and Maternal Reproductive Patterns. American Journal Botany. 71(5): 736-751 p.
13. Benvenuti, S., Macchia, M & Miele, S. 2000. Light, Temperature and Burial Depth Effects on *Rumex obtusifolius* Seed Germination and Emergence. Blackwell Science Ltd. Weed Research. 41: 177-186 p.
14. Berjak, P & Pammenter, N.W. 2003. Orthodox and Recalcitrant Seeds. Cap 4. In: Vozzo, J.A. Tropical Tree Seed Manual. 899 p.
15. Besnier, F. 1989. Semillas: biología y tecnología. Primera edición. Ediciones mundi-prensa. España. 637 p.
16. Bewly, D & M, Black. 1984. SEEDS Physiology of Development and Germination. Plenum Press. New York. 367 p.

17. Bewley, D. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plan Cell*, 9. 1055-1066 p.
18. Bolaños, L. 2005. Universidad Autónoma de Madrid [En línea]: Parte III: Tema24:Fructificación. www.uam.es/personal_pdi/ciencias/bolarios/FisioVegetal/fisioVegetal200506/Resumenes200506/tema24.htm [Consulta: 10/05/07].
19. Buodet, A.-M. 2007. Evolution and Current Status of Research in Phenolic Compounds. *Pytochemistry*. doi: 10.1016/j. 1-14 p.
20. Broadhead, J,S., Ong, C,K & Black, C,R. 2003. Tree Phenology and Water Availability in Semiarid Agroforestry Systems. *Forest Ecology and Management* 180 62-73 p.
21. Calderón, F. 2002. La Cascarilla de Arroz “Caolinizada”; una Alternativa para Mejorar la Retención de Humedad como Sustrato para Cultivos Hidropónicos. [Enlínea]<http://www.drcalderonlabs.com/Investigaciones/Cascarilla_Caolinizada/La_Cascarilla_Caolinizada.htm>. [Consulta: 02/02/08].
22. Canini, A., Alesiani, D., D’Arcangelo, G & Tagliatesta, P. 2007. Gas Chromatography-mass Spectrometry Analysis of Phenolic Compounds from *Carica papaya* L. leaf. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 20. 584-590 p.
23. Casal, J.J., Sánchez, R.A & Yanovsky, M.J. 1997. The Function of Phytochrome A. *Plant, Cell and Enviroment* 20: 813-819 p.
24. CENICAFE. 2003. Árboles encontrados en las zonas cafetaleras. Colombia. 149 p.

25. Copeland, L & M.B McDonald. 1995. Seed Science and Technology. Third Edition. Chapman & Hall. New York. USA. 409 p.
26. Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ).2006. Informe de Gestión y Resultados 2005. Plan de Acción Trienal 2004-2006. 91 p.
27. Czabator, F. 1962. Germination Value: An Index Combining Speed and Completeness of Pine Seed Germination. In: Forest Science Vol 8 (4): 386-396 p.
28. Daws, M, I., Garwood, N, C & Pritchard, H, W. 2005. Traits of Recalcitrants Seeds in a Semi-deciduos Tropical Forest in Panamá: Some Ecological Implications. Functional Ecology. Vol. 19. 874-885 p.
29. D'Eça-Neves, F & Morellato, P. 2004. Métodos de Amostragem e Avaliação Utilizados em Estudos Fenológicos de Florestas Tropicais. Acta bot. bras. 18(1): 99-108 p.
30. Diggle, P. K. 1995. Architectural Effects and the Interpretation of Patterns of Fruit and Seed Development. Anu. Rev. Ecol. Syst. 26: 531-552 p.
31. Fernández. F. 2007. Comunicación Personal. Reserva Natural Privada El Secreto. Garagoa. Boyacá.
32. Flores, E. 1995. Morfofisiología, comportamiento y germinación de semillas forestales. En: Mem. Simp. Avances en la producción de semillas forestales en América Latina. CATIE. 149-168 p.
33. García-Barriga, H. 1978. Una Sapotaceae nueva en la flora Colombiana. Rev. Caldasia. Vol. XII. N° 58.

34. García, J. 1991. Manual de Repoblaciones. Fundación Universitaria Salazar. Madrid, España. 793 p.
35. García, V., Herrera, J & Alizaga, R. 1993. Efecto de la Madurez de la Semilla Sobre la Germinación y el Vigor en Semillas de China (*Impatiens balsamina* L.). *Agronomía Costarricense* 17(1): 81-87 p.
36. Gentry, H. 1996. A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) With Supplementary Notes On Herbaceous Taxa. The University of Chicago Press. London. 895 p.
37. Gómez, J., Jasso-M, J., Vargas-H, J & M. R. Soto-H. 2006. Deterioro de Semilla de dos procedencias de *Swietenia macrophylla* King., bajo distintos métodos de almacenamiento. En: *Rev. Ra Ximhai* Vol. 2. (1). 223-239 p.
38. González, M & Cuevas, J. 2006. Cantaridofilia en *Annona cherimola*. ¿Puede el Hombre Hacerlo Mejor que un Escarabajo en la Plonización del Chirimoyo?. *Segundas Jornadas de Polinización en Plantas Hortícolas*. CIFA La Majonera-La Cañada IFAPA. España. 14 p.
39. Goyoaga, 2005. Estudios de Factores No Nutritivos en *Vicia faba* L. Influencia de la Germinación sobre su Valor Nutritivo. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Departamento de Nutrición y Bromatología II: Bromatología. 270 p.
40. Goulao, L. F & Oliveira, C. M. 2007. Cell Wall Modifications During Fruit Ripening: When a Fruit Is Not The Fruit. *Trends in Food Science & Technology*. Review. 1-22 p.

41. Gurevitch, J., Scheiner, S., & Fox, A. 2002. *The Ecology of Plants*. Sinauer Associates, Inc. Publisher. Sunderland, Massachusetts. 523 p.
42. Halloin, J. M. 1982. Localization and Changes in Catechin and Tannins During Development and Ripening of Cottonseed. *New Phytologist*. 90. 651-657 p.
43. Hartmann, H., D. Kester, F. Davies & R. Geneve. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices*. Sexta edición. Editorial Prentice Hall. New Jersey. 770 p.
44. Heschel, M. S., Selby, J., Butler, C., Whitelam, G. C., Sharrock, R. A. & Donohue, K. 2007. A New Role for Phytochromes in Temperature-Dependent germination. *New Phytologist*. 174: 735-741 p.
45. Instituto Geografico Agustín Codazzi. 2006. [En Línea] <http://www.finagro.com.co/colombia/departamento.asp?IDDepartamento=06&Tema=06>. [Consulta: 03/03/08].
46. International Seed Testing Association (ISTA). 2006. *International rules for seed testing*. ISTA. Zurich. Supplements rules (27): 333 p.
47. Jacobsen, S-E., A. Mujica & R. Ortiz. 2003. La importancia de los cultivos Andinos. *FERMENTUM*. Año 13-N° 38. Mérida-Venezuela. 14-24 p.
48. James, C. D., Hoffman, M. T., Lightfoot, D. C., Forbed, G.S. & Whitford, W. G. 1994. Fruit abortion in *Yucca eleata* and its implications for the mutualistic association with yucca moths. *Oikos* 69: 207-216 p.
49. Kermode, A. R. 1995. *Regulatory Mechanisms in the Transition from Seed Development to Germination: Interactions Between the Embryos and the Seed*

Environment. In: Kigel, J., Galili, G (Ed.) Seed Development and Germination. Marcel Dekker. New York. 273-332 p.

50. Köhne, J.S. 1998. Floración, Desarrollo de Fruta y Manipulación de la Producción en Paltos. [En línea] http://www.avocadosource.com/Journals/VinaDelMar1998/KohneJS1998d_es.pdf [Consulta: 04/02/08].

51. Kozłowski, T. T., Kramer, P. J & Pallardy, S, G. 1991. The Physiological Ecology of Woody Plants. Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich. Publisher. San Diego, California. 657 p.

52. Lambers, H., Chapin, F, E & Pons, T, L. 1998. Plant Physiological Ecology. Springer. New York. 540 p.

53. Liu, W., Peffley, E.B, Powell, R. J., Auld, D. L & Hou, A. 2007. Association of Seed Coat Color with Seed Water Uptake, Germination, and Seed Components in Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). Journal of Arid Environments. 70. 29-38 p.

54. Lizana, A. 1990. Lucuma. Cap. 19, págs. 373-381 en: Fruits of Tropical and Subtropical Origin: Composition, Properties and Uses. Nagy, S., E, Philip & W. Wardowski (eds.). USA. 193-196 p.

55. Manual de Instrucciones de Balanzas.OHAUS Modelo MB45. 2007.[En línea] <<http://www.clubdediagramas.com/archivo/instrumental-a29/medidor-de-humedad-m1772/acr561-tmp-pdf-f11931.html>> [Consulta: 04/02/08].

56. Mauseth, J. 2003. Botany: An Introduction to Plant Biology. Third Edition. Jones and Bartlett. 848 p.

57. Moreno, F., G, Plaza & S, Magnitskiy. 2006. Efecto de la Testa Sobre la Germinación de Semillas de Caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.). *Agronomía Colombiana* 24 (2): 290-295 p.
58. Moore, R. P. 1985. Manual de Ensayos de Tetrazolio. Edición Versión Español. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Estación de Ensayos de Semillas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. España. Publicación Original. Zürich, Switzerland. 72 p.
59. Mujica, M. M & Rumi, C. P. 1998. El Crecimiento Inicial de *Lotus glaber* Afectado por la Remoción y el Sombreado de los Cotiledones. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103 (2). 127-133 p.
60. Muñoz, A. 2006. Especies Focales de Flora para el Departamento del Quindío. SIRAP-EC. Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ). 152 p.
61. Muñoz. A. 2007. Comunicación Personal. Biólogo U. Q. Corporación Autónoma del Quindío. Adrian2350@hotmail.com.
62. Niembro, A. 1980. Estructura y Clasificación de Semillas de Especies Forestales Mexicanas. Instituto de Investigaciones forestales. México. 440 p.
63. Otegui, M., M, A, Pérez & M, De Souza Maia. 2005. Efecto de la Temperatura y la Luz en la Germinación de las Semillas de *Paspalum Guenoarum*. *Revista Brasileira de Sementes*. Vol, 27. N° 1. 190-194 p.
64. Padilla, I. M. G., E, Carmona, N, Wesrendorp & C. I. Encina. 2006. Micropropagation and Effects of Mycorrhiza and Soil Bacteria on Acclimatization and Development of Lucumo (*Pouteria lucuma* R and Pav.)

Var. La Molina. In vitro Cellular & Developmental Biology. 42, 2. ProQuest Biology Journals.

65. Pammenter, N. W & Berjak, P. 2000. Aspects of Recalcitrant Seed Physiology. R. Bras. Fisiol. Veg, 12 (EdiÇão Especial): 56-69 p.
66. PBOT GARAGOA. 2002. Plan Básico de Ordenamiento Territorial. Garagoa-Boyacá. Diagnóstico del componente rural y urbano. 305 p y 350 p.
67. Pedrozo, J. A. 2004. Productos Naturales Vegetales: Generalidades Químicas, Papel Biológico e Importancia Industrial. Ed. GIFUJ. Santa Fe de Bogotá. Cuadernillo N° 3. 35 p.
68. Pennington, T. D. 1990. Flora Neotrópica. Monograph 52. SAPOTACEAE. Organization For Flora Neotrópica. The New York Botanical Garden. New York. 770 p.
69. Pulle, A. 1932. Flora of Surinam (Dutch Guyana). Vol. 4. Kon. Ver. Kolonial Instituut te Amsterdam. Amsterdam. 513 p.
70. Ricklefs, R. E & Miller, G. L. 2000. Ecology. Four Edition. Freeman. USA. 822 p.
71. Rivas, M. 2000. Algunos Aspectos Sobre La Germinación de *Capsicum chinense* Jacq. Estudiados en Semillas de 5 Localidades del País. Tesis de Pregrado. Licenciada em Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. 68 p.

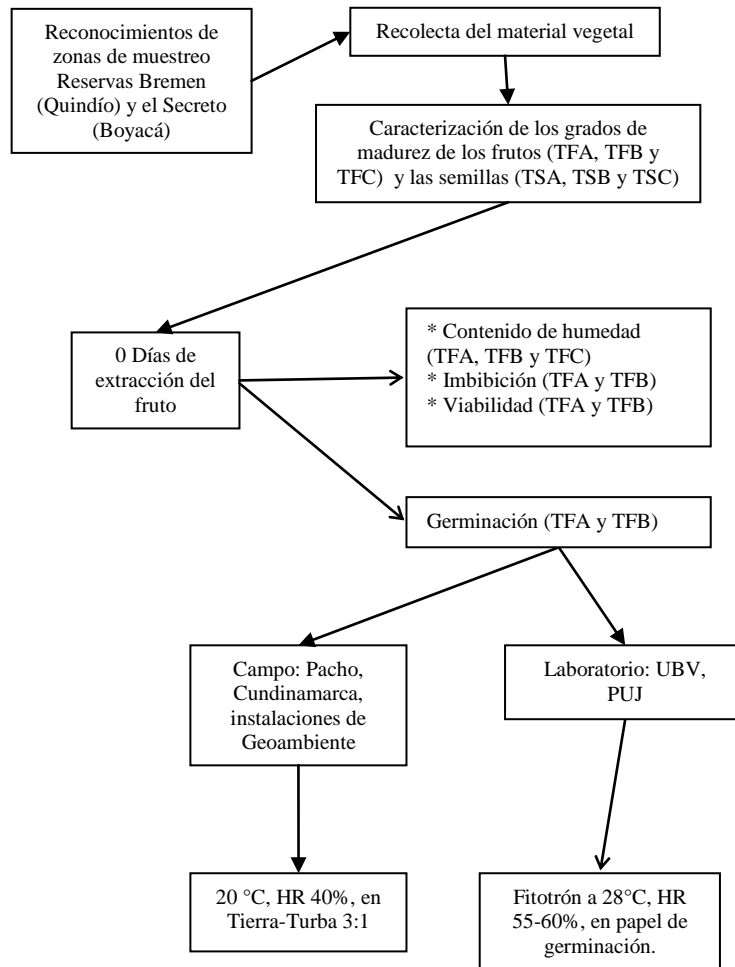
72. Riverfilco – (Sustratos Minerales – Sustratos Orgánicos – Insumos Técnicos – Forestales).2006.[Enlínea]:http://riverfilco.com.uy/estructura/sustratos_minerales/perlita/index.html. [Consulta: 01/02/08].
73. Ruiz, M., M.A. Pérez., J.A. Arguello & F.J. Babinec. 2003. Madurez fisiológica de la semilla de *Bromas auleticus* Trin. (Cebadilla Chaqueña). En: RIA Vol 32(2): 3-20 p.
74. Salazar. A. 2000. Evaluación del Efecto de la Procedencia y el Grado de Madurez de los Frutos de dos Especies de Passiflora: *Passiflora mollissima* (H.B.K) Bailey y *Passiflora ligularis* Juss Sobre la Germinación de sus Semillas. Tesis de Pregrado. Bióloga. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 275 p.
75. Salazar, D.M., Melgarejo, P., Martínez, R., Martínez, J.J., Hernández, F, & Burguera, M. 2004. Phenological Stages of the Guava Tree (*Psidium guajava* L.). Scientia Horticulturae 108 (2006) 157-161 p.
76. Samperio, G. 2003. Germinación de Semillas. [En línea] <<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/aup/pdf/mexico.pdf>>. [Consulta: 01/02/08].
77. Schmidt, L. 2000. Introduction. Cap 1, en: Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Center. 1-10 p.
78. Schwartz, M.D. 2003. Phenology: An Integrative Environmental Science. Springer. Kluwer Academic Publisher. 592 p.

79. Sutherland, S. 1987. Why Hermaphroditic Plants Produce Many More Flowers Than Fruits: Experimental Test With *Agave mckelveyana*. *Evolution*, 41(4), 750-759 p.
80. Taiz, L & Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. Tercera Edición. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 690 p.
81. Tejero, J.J., Jasso, J., Vargas, M & Soto, M. 2006. Deterioro de Semillas de dos Procedencias de *Swietenia macrophylla* King., Bajo Distintos Métodos de Almacenamiento. *Ra Ximbai* 2 (1). 223-239 p.
82. Thomson, A. & Y. A. El-Kassaby. 1993. Interpretation of Seed-germination parameters. In: *New Forest* Vol 7: 123-132 p.
83. Trujillo, E. 1989. *Fundamentos para el manejo de semillas, viveros y plantación inicial*. Editora Guadalupe. Primera Edición. Serie técnica Número 1. Bogotá. 157 p.
84. Trujillo, E. 1997. La madurez de Frutos y Semillas Forestales, un Nuevo Enfoque en el Campo Forestal. En: *Notas Técnicas Amigos del Bosque Andino*. Magazín Trimestral del Jardín Botánico José Celestino Mutis. N°2. Bogotá. 27 p.
85. Ugarte, P & Zaragoza, K. 2000. *Lúcuma*. Seminario de Agro Negocios. Universidad del Pacífico. Facultad de Administración y Contabilidad. 55 p.
86. Urrego, L & Del Valle, J. 2001. Relación Fenología-Clima de Algunas Especies de los Humedales Forestales (Guandales) del Pacífico Sur Colombiano. *Interciencia*. Vol 26 (004). 150-156 p.

87. Vargas, W. 2002. Guía Ilustrada Plantas de las Montañas del Quindío de los Andes Centrales. Universidad de Caldas.
88. Veberic, R., Colaric, M & Stampar, F. 2007. Phenolic Acids and flavonoids of Fig Fruit (*Ficus carica* L.) in the Northern Mediterranean Region. Food Chemistry. 106. 153-157 p.
89. Vílchez, B & Rocha, O. 2004. Fenología y Biología Reproductiva del Nazareno (*Peltogyne purpurea* Pittier) en un Bosque Intervenido de la Península de Osa, Costa Rica, América Central. Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 1(1). 14 p.
90. Walters, C. 2000. Levels of Recalcitrance in Seeds. R. Bras. Fisiol. Veg., 12 (EdiÇão Especial): 7-21 p.
91. Werker, E. 1997. Seed Anatomy. Gebruder Borntrager. 424 p.
92. Willan, R. 1991. Almacenamiento de la Semilla. Cap 7, en: Guía para la Manipulación de Semillas Forestales. Centro de Semillas Forestales de DANIDA. 510 p.
93. Willson, M & Whelan, C. 1990. The Evolution of Fruit Color in Fleshy-Fruited plants. The American Naturalist. Vol. 136, N° 6. 790-809 p.
94. Ziegler, P. 1995. Carbohydrate Degradation During Germination In: Kigel, J., Galili, G (Rd.) Seed Development and Germination. Marcel Dekker. Mew Cork. 273.332 p.

10. Anexos:

Anexo A. Cuadro resumen de la metodología realizada con frutos y semillas de *Pouteria lucuma*.



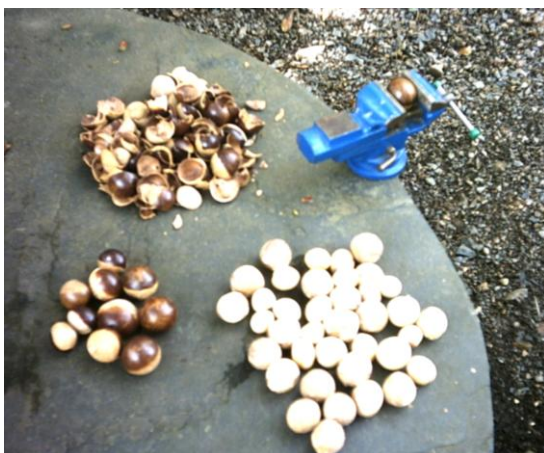
Anexo B. Ficha de campo. (Tomado de Pedrozo, 2004):

LOCALIDAD: País _____ Depto _____ Mpio _____ Otros _____ LONGITUD _____ LATITUD _____ ALTITUD _____ m.s.n.m
DESCRIPCION DE LA PLANTA Hábito _____ DAP _____ Tamaño _____ Látex _____ Resina _____ Goma _____ Flor _____ _____ _____ Fruto _____ _____ _____ Hojas _____ _____ _____ Tallos _____ Corteza _____
DATOS ECOLOGICOS Hábitat _____ Abundancia _____ Sociabilidad _____
USOS: _____ _____ _____
ESPECIE _____ NOMBRE VULGAR _____
Observaciones generales de la zona de recolección: _____ _____ _____ _____
COLECTOR _____ FECHA _____

Anexo C. Fitotrón (Lab-Line ®. REF. 844), cámara donde se mantuvieron las semillas de *Pouteria lucuma* colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®).



Anexo D: Prensa mecánica con la que se extraían las semillas de *Pouteria lucuma* del endocarpo.



Anexo E. Recipientes en que fueron colocadas las semillas de *Pouteria lucuma*.



Anexo F. Formato para las lecturas de germinación.

Grado de madurez del fruto:			Fecha de siembra:	
FECHA LECTURA	DDS	REP. N°1	REP. N°2	REP. N°3

Anexo G. Formato para consolidado de los índices de germinación.

MADUREZ	REPETICIÓN	GC	GRI	MDG	R ₅₀	R' ₅₀	PV	GV

Anexo H. Formato para la prueba de imbibición.

TIPO DE FRUTO:			
HORAS	REP. N°1 (g)	REP. N°2 (g)	REP. N°3 (g)
PESO SECO INICIAL			
PESO FRESCO FINAL			

Anexo I. Formato para la prueba de viabilidad.

TIPO DE FRUTO:

PATRONES	REP. N°1 (Número de semillas)	REP. N°2 (Número de semillas)	REP. N°3 (Número de semillas)

Anexo J. Formato para el contenido de humedad.

TIPO DE FRUTO:			
	REP. N°1 (g)	REP. N°2 (g)	REP. N°3 (g)
Peso fresco inicial			
Peso seco final			
Contenido de humedad (%)			

Anexo K. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de DUNCAN de semillas sembradas en tierra-turba en vivero.

```

The SAS System

The GLM Procedure

Class Level Information

Class          Levels  Values
MAD              2     A B

Number of observations   6

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: GC

Source          DF          Sum of
                Squares    Mean Square    F Value    Pr > F
Model            1    15000.00000    15000.00000    Infnty    <.0001
Error            4         0.00000         0.00000
Corrected Total  5    15000.00000

R-Square    Coeff Var    Root MSE    GC Mean

```

1.000000 0 0 50.00000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	15000.00000	15000.00000	Infty	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	15000.00000	15000.00000	Infty	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: GRI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	12.49926667	12.49926667	20269.1	<.0001
Error	4	0.00246667	0.00061667		
Corrected Total	5	12.50173333			

R-Square Coeff Var Root MSE GRI Mean
0.999803 1.720516 0.024833 1.443333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12.49926667	12.49926667	20269.1	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12.49926667	12.49926667	20269.1	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: R50

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001
Error	4	98.66667	24.66667		
Corrected Total	5	12338.83333			

R-Square Coeff Var Root MSE R50 Mean
0.992004 10.99606 4.966555 45.16667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: R50P

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001
Error	4	98.66667	24.66667		
Corrected Total	5	12338.83333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	R50P Mean
0.992004	10.99606	4.966555	45.16667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	12240.16667	12240.16667	496.22	<.0001

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: PV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001
Error	4	0.00000000	0.00000000		
Corrected Total	5	0.04335000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PV Mean
1.000000	0	0	0.085000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	-----------	-------------	---------	--------

MAD	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: MDG

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001
Error	4	0.00000000	0.00000000		
Corrected Total	5	0.04335000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MDG Mean
1.000000	0	0	0.085000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.04335000	0.04335000	Infty	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: GV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.00125282	0.00125282	Infty	<.0001
Error	4	0.00000000	0.00000000		
Corrected Total	5	0.00125282			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	GV Mean
1.000000	0	0	0.014450

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.00125282	0.00125282	Infty	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.00125282	0.00125282	Infty	<.0001

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means	2
Critical Range	0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	100.0	3	A
B	0.0	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GRI

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0.000617

Number of Means	2
Critical Range	.05629

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	2.88667	3	A
B	0.00000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for R50

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	24.66667

Number of Means	2
Critical Range	11.26

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	90.333	3	A
B	0.000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for R50P

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	24.66667

Number of Means	2
Critical Range	11.26

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	90.333	3	A
B	0.000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means 2
Critical Range 0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	0.1700	3	A
B	0.0000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for MDG

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means 2
Critical Range 0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	0.1700	3	A
B	0.0000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means 2
Critical Range 0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
-----------------	------	---	-----

```

A      0.02890    3    A
B      0.00000    3    B

The SAS System

```

Anexo L. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de DUNCAN y de semillas colocadas en papel de germinación (Seedburo KimpackPaper ®) en laboratorio.

```

The SAS System

The GLM Procedure

Class Level Information

Class          Levels    Values
MAD              2      A B

Number of observations    6
The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: GC

Source          DF          Sum of Squares    Mean Square    F Value    Pr > F
Model              1              0              0              .          .
Error              4              0              0
Corrected Total    5              0

R-Square          Coeff Var    Root MSE    GC Mean
0.000000          0            0            100.0000

Source          DF          Type I SS    Mean Square    F Value    Pr > F
MAD              1              0              0              .          .

Source          DF          Type III SS    Mean Square    F Value    Pr > F
MAD              1              0              0              .          .

The SAS System

```

The GLM Procedure

Dependent Variable: GRI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.01306667	0.01306667	0.12	0.7484
Error	4	0.44266667	0.11066667		
Corrected Total	5	0.45573333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	GRI Mean
0.028672	5.081456	0.332666	6.546667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.01306667	0.01306667	0.12	0.7484

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.01306667	0.01306667	0.12	0.7484

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: R50

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002
Error	4	10.6666667	2.6666667		
Corrected Total	5	478.8333333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	R50 Mean
0.977724	7.838367	1.632993	20.83333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: R50P

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002
Error	4	10.6666667	2.6666667		
Corrected Total	5	478.8333333			

R-Square Coeff Var Root MSE R50P Mean
0.977724 7.838367 1.632993 20.83333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	468.1666667	468.1666667	175.56	0.0002

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: PV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.18026667	0.18026667	10816.0	<.0001
Error	4	0.00006667	0.00001667		
Corrected Total	5	0.18033333			

R-Square Coeff Var Root MSE PV Mean
0.999630 0.805753 0.004082 0.506667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18026667	0.18026667	10816.0	<.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18026667	0.18026667	10816.0	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: MDG

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.18375000	0.18375000	Infty	<.0001
Error	4	0.00000000	0.00000000		

Corrected Total 5 0.18375000

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MDG Mean
1.000000	0	0	0.505000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18375000	0.18375000	Infty	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18375000	0.18375000	Infty	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: GV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.18627864	0.18627864	102633	<.0001
Error	4	0.00000726	0.00000181		
Corrected Total	5	0.18628590			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	GV Mean
0.999961	0.470727	0.001347	0.286200

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18627864	0.18627864	102633	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MAD	1	0.18627864	0.18627864	102633	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means 2

Critical Range 0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	100.0	3	A
A	100.0	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GRI

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0.110667

Number of Means	2
Critical Range	.7541

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	6.5933	3	B
A	6.5000	3	A

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for R50

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	2.666667

Number of Means	2
Critical Range	3.702

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	29.667	3	A

B 12.000 3 B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for R50P

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	2.666667

Number of Means	2
Critical Range	3.702

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	29.667	3	A
B	12.000	3	B

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0.000017

Number of Means	2
Critical Range	.009255

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	0.680000	3	B
B	0.333333	3	A

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for MDG

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	0

Number of Means	2
Critical Range	0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	0.6800	3	B
B	0.3300	3	A

The SAS System

The GLM Procedure

Duncan's Multiple Range Test for GV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	4
Error Mean Square	1.815E-6

Number of Means	2
Critical Range	.003054

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MAD
A	0.462400	3	B
B	0.110000	3	A

The SAS System