

ESTUDIOS SOBRE LA PROPAGACION SEXUAL Y ASEJUAL
DEL ACHIOTE

(Bixa orellana L.)

P O R

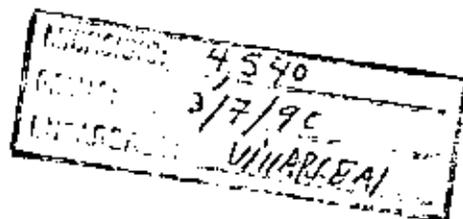
Enrique Ramón Valdez Hernández

T E S I S

PRESENTADA A LA
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA LA OBTENCION
DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO



El Zamorano, Honduras
Noviembre, 1991 .

ESTUDIOS SOBRE LA PROPAGACION SEXUAL Y ASEXUAL DEL ACHIOTE

(Bixa orellana L.)

Por :

ENRIQUE RAMON VALDEZ HERNANDEZ

TESIS

BIOTECNOLOGIA WILSON FLORENDO
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
EL ZAMORANO, HONDURAS

PRESENTADA A LA

ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA LA OBTENCION

DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

EL ZAMORANO, HONDURAS

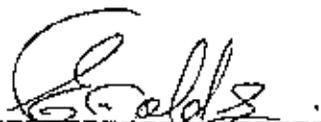
NOVIEMBRE 1991

ESTUDIOS SOBRE LA PROPAGACION SEXUAL Y ASEXUAL DEL ACHIOTE
(Bixa orellana L.)

POR

ENRIQUE RAMON VALDEZ HERNANDEZ

El autor concede a la Escuela Agrícola Panamericana
permiso para reproducir y distribuir copias de este
documento para los usos que considere necesarios.
Para personas y fines ajenos a la Escuela
Agrícola Panamericana, se reservan
los derechos de autor.



Enrique Ramón Valdez Hernández

NOVIEMBRE 1991.

DEDICATORIA

A mis profesores Bruce Minnick y Gaspar Gonzalez. Ellos me han motivado a seguir aprendiendo.

A Filomena, Becky, Nadia y Tricia, quienes a pesar de la distancia me han animado constantemente.

A mis padres, Pablo y Gregoria, por la disciplina y el amor que forjaron en mí.

En especial a mis hermanas Emelida y Rosalba, por sus consejos y ayuda.

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Dr. Ronald D. Cave y al Decano de la Escuela Agrícola Panamericana, Dr. Jorge Román, por su valioso apoyo brindado en tiempos críticos.

A los dirigentes de los Ministerios de Educación y Establecimiento de Belice, porque supieron valorar con sabiduría la necesidad de aprender.

A mis consejeros Odilo Duarte, Leonardo Corral y Daniel Kaegi, por su ayuda, apoyo y guía para la realización de este trabajo. Sin duda, cuanto me han enseñado servirá de una forma u otra en los pasajes de mi vida.

A mis maestros, porque el conocimiento que me han transmitido lo ofrecieron con dedicación, en especial a los profesores Roberto Salas y Dr. Alfredo Montes.

A quienes me han ayudado de una u otra forma en la realización de esta obra, especialmente a Jenny Castro, Luis Restrepo y Yanire Melgar.

INDICE

	PAG.
Título.....	I
Aprobación.....	II
Derechos de Autor.....	III
Dedicatoria.....	IV
Agradecimiento.....	V
Índice general.....	VI
Índice de cuadros.....	VII
Índice de Figuras.....	VIII
Índice de Apéndices.....	X
Resumen.....	XI
Introducción.....	1
Revisión de Literatura.....	3
Materiales y Métodos.....	15
Resultados y Discusión.....	23
Conclusiones.....	53
Recomendaciones.....	54
Literatura Citada.....	55
Apéndice.....	58

INDICE DE CUADROS

	PAG.
Cuadro 1. Cuadrados medios para la variable porcentaje de germinación semanal de las líneas 2, 3, 4, y 5 de achiote. El Zamorano, 1990.....	24
Cuadro 2. Porcentaje de germinación de cuatro líneas de achiote durante cuatro semanas de germinación. El Zamorano, 1990.....	25
Cuadro 3. Cuadrados medios para las variables germinación total a los 31 días y altura de plántula. El Zamorano, 1990.....	27
Cuadro 4. Separación de medias para las variables germinación total en porcentaje y altura en cm de las líneas de achiote 2, 3, 4 y 5. El Zamorano, 1990.....	28
Cuadro 5. Cuadrados medios para las variables germinación y altura de plántula, de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con diversos niveles de ácido giberélico. El Zamorano, 1990.....	31
Cuadro 6. Porcentajes de germinación de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con distintos niveles de ácido giberélico. El Zamorano, 1990.....	32
Cuadro 7. Altura de planta (cm) de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con distintos niveles de ácido giberélico. Datos tomados a los 31 días de iniciada la germinación. El Zamorano, 1990.....	35

Cuadro 8. Cuadrados medios para las variables días a germinación, porcentaje de germinación y altura de plántula (cm) a los 31 días, de semillas de la línea # 3 de achiote remojadas en diversas concentraciones de ácido giberélico durante distintos períodos. El Zamorano, 1990.....	37
Cuadro 9. Días a germinación de semillas, de la línea # 3 de achiote, tratadas con distintas concentraciones de ácido giberélico por diferentes períodos. El Zamorano, 1990.....	38
Cuadro 10. Medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo para la variable días a germinación, al mes de su iniciación. El Zamorano, 1991.....	39
Cuadro 11. Medias de porcentaje de germinación de semillas de la línea # 3 de achiote, tratadas con distintas concentraciones de ácido giberélico por diferentes períodos. El Zamorano, 1990.....	41
Cuadro 12. Separación de medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo para la variable porcentaje de germinación, al mes de iniciada. El Zamorano, 1991.....	42
Cuadro 13. Medias de altura de plántula de la línea # 3 de achiote, tratada con distintas concentraciones ácido giberélico por diferentes períodos. El Zamorano, 1990.....	43

- Cuadro 14. Medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo, para la variable altura de plántula (cm), al mes de iniciada la germinación. El Zamorano, 1991..... 44
- Cuadro 15. Cuadrado medio para la variable porcentaje de estacas enraizadas, de las líneas # 2, 3 y 4 de achiote tratadas con 3000 ppm de ácido indol butírico (A.I.B.). El Zamorano, 1990-1991..... 47
- Cuadro 16. Separación de medias de la variable porcentaje de estacas enraizadas de las líneas No. 2, 3 y 4, de achiote tratadas con A.I.B. El Zamorano, 1990-1991..... 48
- Cuadro 17. Medias de la variable porcentaje de enraizamiento de estacas basales, medias, terminales con y sin hoja, de las líneas # 2, 3 y 4 de achiote, tratadas con ácido indol butírico (A.I.B.) y puestas en cámara hermética de plástico transparente, bajo sombra. El Zamorano, 1990-1991..... 49

INDICE DE APENDICES .

	PAG.
Apendice 1. Calidad de raíces de estacas basales, medias y terminales con y sin hojas de las líneas # 2, 3 y 4 de achiote con y sin ácido indol butírico (A.I.B.) y puestas en cámara hermética de plástico transparente, bajo sombra. El Zamorano, 1990-1991.....	58

RESUMEN

Se realizaron tres ensayos de propagación sexual del achiote (Bixa orellana) con el fin de determinar la rapidez de germinación, la viabilidad de las semillas y el efecto del ácido giberélico sobre semillas almacenadas en bolsas plásticas a temperatura ambiente.

En el primero se determinó que la línea # 3, seguida de la # 2, tenía el más alto porcentaje de germinación durante la primera semana de germinación y que al mes de iniciada ésta presentó mayor germinación que las líneas 2, 4 y 5. En el segundo se determinó que el remojo en ácido giberélico durante 24 horas a concentraciones de 500, 1000, 2500 y 5000 ppm no mejoró el porcentaje de germinación, en relación al remojo en agua durante 24 horas, pero sí tendió a causar un aumento en la altura de plántula, sobre todo en la línea # 3.

En el tercer ensayo, usando semillas de nueve meses de edad de la línea # 3, se determinó que el remojo durante 24, 48, 72 y 96 horas en ácido giberélico a 750, 1500 y 3000 ppm retrasó el

inicio de la germinación que fue de 10 días para el testigo y el remojo en agua, contra 13 días con 3000 ppm de ácido giberélico. Tampoco se obtuvo una mayor altura de plántula. Con remojo de 24 horas en agua se logró hasta 85 % de germinación.

En la propagación por estacas de tres líneas de achiote, puestas bajo túnel plástico, para determinar el mejor tipo de estaca (Basal, media, terminal con y sin hojas) y el efecto de 3000 ppm de ácido indol butírico en el enraizamiento, no se encontró diferencia significativa entre tipos de estacas o tratamiento de ácido indol butírico. Las diferencias sólo ocurrieron entre líneas, lograndose hasta 32.5 % de enraizamiento con estacas terminales sin hoja tratadas con A.I.B.

INTRODUCCION

El achiote (Bixa orellana L.), única especie del género Bixa, pertenece a la familia Bixáceas y es conocido a través del trópico americano, de donde es oriundo, por diversos nombres según la localidad y la cultura predominante. Tiene importancia como producto de consumo interno y de exportación.

La importancia internacional de esta planta radica primordialmente en su principio colorante, la bixina, contenida en la masa pulposa que rodea la semilla. Dicha masa contiene más de 80 % de bixina, pigmento de estructura carotenoides que tiene diversos usos, por ejemplo: para cosméticos, cerámica, vestuario y alimentos.

La demanda para uso en alimentos y cosméticos resulta cada día mayor por la necesidad de eliminar cuanto antes colorantes que son potencialmente cancerígenos. Para ese fin el achiote ofrece dos ingredientes que han probado ser no cancerígeno y de aceptación general al público consumidor: la bixina y la orellina en orden de su importancia. La bixina,

C15 H18 O4, es de color bermejo, amorfa y fácilmente soluble en alcohol hirviendo.

En el caso de Honduras se puede inferir su importancia por medio de datos económicos y proyecciones. Según el informe de PROHDAI (1985), en 1983 se importó 21,790 kg y se proyectaba para 1989 la importación de 32,893 kg.

Se conoce relativamente poco acerca del achiote y esta falta de información constituye un estímulo para la investigación sobre el cultivo, mejoramiento y selección de variedades. El presente trabajo trató de estudiar algunos aspectos de la germinación de semillas de achiote y de su propagación por estacas.

II. REVISION DE LITERATURA

Origen e Importancia

El achiote, según la Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana (1978), es originario de las regiones tropicales de América y se lo ha encontrado en sepulturas antiguas del Perú. Esto coincide con lo que indican Bailey (1924) y Hill (1952) en lo referente a su lugar de origen. Por otro lado, Schery (1956) lo considera nativo del Brasil.

Standley (1923) indica que probablemente Oviedo es la primera persona que describió la planta del achiote, señalando que crecía en "Hispaniola", otras islas y tierra firme. El mismo Standley cita a Heckel, diciendo que el nombre específico de orellana le fue dado en honor a Francisco Orellana, descubridor del Amazonas.

Según la Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana (1978), esta planta se cultiva en las regiones cálidas de América y de su fruto se hace una bebida refrescante, extrayéndose además del mismo una sustancia de

color encarnado con que se adornaban los "indios" en los días de fiesta. Se lo considera como tónico y purgante. La semilla de sabor amargo-aromático, se emplea como estimulante del corazón y del estómago. También se ha usado para teñir de color anaranjado el chocolate, la lana y la seda. En Inglaterra, utilizase el achiote para teñir el queso. Sus fibras se emplean en la fabricación de cuerdas, etc.

Según el Diccionario Enciclopédico U.T.E.H.A. (1980), Achiote, del azteca achiotl, es el nombre de la materia colorante obtenida de las semillas de la planta Bixa orellana. Se conoce en América principalmente en Argentina, Colombia, Cuba y México. El árbol o arbusto Bixa orellana es de la familia de las Bixáceas. De las semillas se prepara una pasta roja que los antiguos empleaban para teñir y hoy se usa principalmente como condimento y para dar color a ciertos guisos.

Schery (1956) dice que la bija, producto del achiote en el comercio, procede de la pulpa anaranjada que rodea las semillas de la Bixa orellana. La pasta se usa principalmente como colorante de alimentos y es importada a los Estados Unidos de Norteamérica para colorear el queso, la mantequilla

y antiguamente la margarina. Según el mismo Schery, los pueblos tropicales suelen poner bija al arroz como condimento. Esto mejora la dieta deficiente en vitamina A, pues el colorante tiene un 2% de dicha vitamina. También se usa como colorante rojo o amarillo para jabón, pomadas, diversos tejidos, etc., indicando que los principales productores son Jamaica, Ecuador y Brasil y que los Estados Unidos de Norteamérica importa unas 500 toneladas anuales.

Maftei (1989) en su reporte al Centro de Comercio Internacional dice que la producción mundial anual varía entre 8,400 y 10,000 toneladas: 62% viene de Latinoamérica, 30% de Africa, y 8% de países asiáticos, siendo Perú el mayor productor mundial. Menciona a los E.U.A., Reino Unido, Irlanda, Canadá, Francia, Alemania y Japón como importadores potenciales y que estos países, América Latina y el resto del mundo consumen unas 8,600 toneladas de semillas de achiote, estimando que para 1995 la demanda mundial alcanzará entre 11,300 y 12,900 toneladas. Indica Maftei que varias propiedades físicas confieren ventajas a los colorantes con base a achiote. Una de ellas es la facilidad y exactitud con que se puede determinar el contenido de colorante mediante la fotometría espectral, dando así la posibilidad de producir

alimentos de muy alta calidad. El achiote también es bastante estable a temperaturas de hasta 120°C y relativamente estable en la luz.

Standley (1923) dice que el achiote es de uso diario como medicina doméstica en América tropical, atribuyéndosele propiedades diuréticas, antidisentéricas, afrodisíacas y otras y que crece desde Sinaloa, hasta Veracruz, las Indias Occidentales, Centro América y Sur América. Según éste autor el nombre Achiote se deriva de la palabra Nahuatl "achiotl", pero se conoce por varios nombres, por ejemplo: achiotillo, annatto, anato, urucu, bija, achuete, achote y onoto. Little, Jr., et al. (1974) coinciden con Standley en el nombre achiote, añaden el nombre anatto e indican que se planta en Puerto Rico y las Islas Vírgenes.

Taxonomía y Botánica

Standley (1923) señala que Bixa orellana L. es la única especie de género Bixa perteneciente a la familia BIXACEAE. Little, Jr., et al. (1974) concuerdan en esto. Sin embargo algunos autores no están en acuerdo con Standley (1923). Tal

es el ejemplo de León (1987), quien dice que Bixa es el único género de la familia BIXACEAE, siendo la única especie cultivada la orellana L., pero que existen varias otras especies silvestres nativas del área de la cuenca del Amazonas.

Standley (1923) hace referencia a Bixa L. y describe la planta de achiote como un arbusto o pequeño árbol de dos a nueve metros de altura; de hojas alternas con pecíolos largos, anchamente ovadas, de 8 a 20 cm de largo, acuminadas, truncadas o redondeadas en la base, enteras, menudamente lepidotadas por debajo; con flores perfectas, en panículas terminales, rosadas, con cinco sépalos imbricados y deciduos, cinco pétalos de 1.5 a 2.5 cm de largo. El fruto es una cápsula, subglobosa u ovoide de 2 a 3.5 cm de largo, cubierta con espinas, raramente lisa, de numerosas semillas, con una cubierta carnososa de color naranja encendido. Little, Jr., et al. (1974) agregan que tiene savia de color naranja en la corteza y pistilo con ovario superior, unilocular, con dos placentas parietales y bastantes óvulos, que la flor es bisexual y que la cápsula que contiene las semillas se abre en dos partes. La descripción hecha por Standley (1923) y Little, Jr. et al. (1974), coincide con la de León, (1987) quien da

una descripción mas fácil de comprender y detallada de Bixa orellana L., indicando que cultivares de fruto más pequeño son las más primitivas y que la testa es dura y el centro de la semilla está ocupada por endosperma y embrión; éste último contiene sustancias venenosas.

Longevidad de las Semillas

En Costa Rica, en el Centro Agronomico Tropical de Investigación y Enseñanza (C.A.T.I.E.), se han realizado alguna investigación sobre el achiote, como consecuencia buena parte de la información es de ese origen.

Goldbach (1979) en un estudio sobre el comportamiento de semillas de achiote determinó que las condiciones de almacenaje para mantenerlas viables son distintas a las de semillas comúnmente almacenadas, por ejemplo las del maíz. En el caso del achiote resultó mejor el almacenaje con 9.8% de humedad de la semilla en vez del 4.2%. Las bajas temperaturas produjeron un efecto detrimental y redujeron significativamente la germinación de semilla con 9.8% de humedad después de un año a -20°C , pero no encontró disminución de viabilidad a 23°C .

Mendoza (1965) discute la botánica y propagación desde el vivero hasta el punto previo al establecimiento en el campo, pero no menciona la germinación ni viabilidad o longevidad de las semillas.

Morera (1983) opina que la única alternativa factible de conservación para el achiote son las colecciones vivas, debido a que el almacenamiento de las semillas en cámaras frías causa un rápido decaimiento de su poder germinativo. Esto mismo indica Morales (1962).

Según Arce (1983), la capacidad germinativa del achiote al igual que semillas de otras plantas, baja según avanza su edad, por lo que recomienda no usar semilla de más de un año.

Catalán (1974) indica que para la propagación sexual del achiote deben seleccionarse árboles sanos, productivos, vigorosos y de buena formación, escogiendo las mejores cápsulas, de buen tamaño y en estado sazón y no usar semillas de más de 12 meses de edad, que tienen bajo poder germinativo.

En cuanto al uso del ácido giberélico, según Hartman y Kester (1983), éste se puede usar para superar el letargo

fisiológico en semillas de varias especies mediante su aplicación exógena. Este regulador también mejora el porcentaje y velocidad de germinación, el crecimiento de plántulas de varias especies, así como el porcentaje de germinación de semillas viejas. Esto ha sido demostrado en diversas especies.

En un ensayo hecho en la Escuela Agrícola Panamericana, Miño (1990) encontró que la línea # 3 de achiote fue la que tuvo mayor porcentaje de germinación, seguida de la línea # 2. Los meses donde hubo mayor porcentaje de germinación fueron septiembre y noviembre, seis y ocho meses después de la cosecha, el mejor ambiente para almacenar la semilla fue el de bolsas plásticas bajo techo. Asimismo, encontró que los días a germinación fueron 12, aunque un remojo por 24 horas en agua redujo el período a 7 días y que la pérdida de viabilidad se inició a partir del sexto al octavo mes de edad de la semilla.

También encontró que la aplicación de ácido giberélico a 0, 10, 100, y 1000 ppm no tuvo efecto en acelerar los días a emergencia, que fueron siete; ni mejoró el porcentaje de

germinación que varió de 35 a 69 % según la línea; ni en aumentar el crecimiento de las plántulas que varió en las líneas de 6.4 a 10.6 cm, a los 25 días y de 11.17 a 13.70 cm a los 50 días de la siembra.

Propagación Asexual

Uno de los problemas del achiote, al igual que con muchas plantas de polinización cruzada, es que se propaga generalmente por semilla, produciendo así una plantación desuniforme con una serie de inconvenientes, destacándose la baja eficiencia productiva. Refiriéndose a eso, Rivera (1973) indica que la propagación asexual tiene mayores ventajas que la sexual en este tipo de plantas, pues la propagación asexual o clonal evita la desuniformidad genética y la diversidad en la eficiencia productiva.

La literatura sobre enraizamiento de estacas demuestra que en diversas especies de plantas la aplicación de auxinas ayuda en la iniciación de raíces. Se conoce que la división celular inicial para la formación de éstas depende de la presencia de auxinas.

Hartman y Kester (1983) sugieren que ramas leñosas de un año o más de edad, han acumulado carbohidratos en sus bases y posiblemente debido a la influencia de promotores de enraizamiento originados en yemas y hojas, se estimulará la iniciación de raíces. Para estimular el enraizamiento de estacas de tallo de la mayoría de especies se recomienda el ácido indol-butírico (AIB) y el ácido naftaleno-acético (ANA). También se recomienda herir la base de las estacas al aplicar auxinas para estimular la división celular y producción de primordios radiculares. Esto obedece a la acumulación natural de auxinas y carbohidratos alrededor de las heridas, incremento en la respiración y la producción de etileno que promueve la formación de raíces adventicias. Estos autores indican que las aplicaciones de auxinas proporcionan ciertos efectos como: aumentar el porcentaje de estacas que forman raíces, acelerar la iniciación de raíces, aumentar el número y calidad de raíces producidas y mejorar la uniformidad del enraizamiento de las estacas.

Entre los trabajos realizados en la propagación asexual en el cultivo de achiote está el de Ocampo (1983) quien recomienda enraizar estacas de madera dura, en cajas conteniendo arena o mezcla de arena con tierra, colocadas a la sombra.

Por otro lado, Aliaga (1985) sugiere el uso de ácido indol-butírico, indicando que hay mayor enraizamiento con estacas de madera semi-leñosa o dura, colocadas en cajas enraizadoras con tierra franco-arenosa, desinfectada.

Arce en 1989 (Comunicación personal con Miño) indica que estacas terminales de aproximadamente un año de edad, entre 25 a 30 cm, enraizan bien en presencia de ácido indol-butírico (AIB) a 2,000 ppm. También indica que estacones de 1 a 1.5 m plantados directamente en el suelo sin tratamiento con auxinas, enraizan bastante bien, obteniéndose 70% de enraizamiento en aserrín estéril y hasta 95% en musgo. También se obtienen buenos resultados con estacas recién cosechadas de 20 a 25 cm con brotes y 4-6 hojas maduras, tratadas con 2,000 a 2,500 ppm de ácido indol-butírico (IBA), colocadas en arena limpia de río, bajo túnel plástico, regando dos a tres veces al día para mantener la humedad.

Miño (1990), como resultado del ensayo de enraizamiento de estacas de achiote realizado en la Escuela Agrícola Panamericana, en que se evaluaron tratamientos con ácido indol-butírico a concentraciones de 1000 y 3000 ppm, obtuvo más de 70% de enraizamiento luego de 95 días, en cámara

de plástico herméticamente sellada, bajo 50% de sombra proporcionada por malla de polipropileno. El medio de propagación que utilizó fue tres partes de arena, una de aserrín y una de tierra. El mejor enraizamiento lo obtuvo con 3000 ppm de ácido indol-butírico en su forma comercial de "Hormodin 2" en polvo.

III. MATERIALES Y METODOS

El trabajo tuvo tres fases definidas. La primera fue comparar la germinación de cuatro líneas seleccionadas, la segunda estudiar el efecto del ácido giberélico (A.G.) en la germinación y crecimiento de plántulas y la tercera ver el método más adecuado para la propagación por estacas.

Las características sobre las líneas de achote que provienen del C.A.T.I.E.-Turialba utilizadas en el ensayo se encuentran en la siguiente página.

I PROPAGACION SEXUAL

a. Secuencia de germinación

En este trabajo se comparó la germinación de las cuatro líneas de achote a lo largo de cuatro semanas. El diseño experimental fue de parcela dividida en bloque al azar. Las líneas ocuparon las parcelas principales y las semanas las subparcelas. Los datos de germinación total a los 31 días de

Características de las líneas de achiote utilizadas en el ensayo.

Características	Líneas			
	2	3	4	5
Origen	CATIE	CATIE	CATIE	CATIE
# En Banco de germoplasma CATIE	11395-2	11546-3	11180-4	11550-1
Forma de planta	Alargada	Alargada	Redondeada	Achatada
Tallo: color	Naranja	Marrón	Marrón	Marrón
Hoja: tamaño (cm)	25 x 15	25 x 15	15 x 10	15 x 10
color	Verde amarillento	Verde	Verde	Verde rojozo
Flor: color	Rosa-lila	Blanca	Rosa-lila	Rosa-lila
Cápsulas:	Marrón		Marrón	
color	claro	Chocolate	oscuro	Marrón
forma	Alargada	Alargada	Redonda	Redondeada
superficie	Aspera	Suave	Asperaa	Aspera
espínas	Ausentes	Suaves	Cortas	Largas
dehiscencia	Normal	Baja	Alta	Normal
Cápsulas/racimo	11.2	12.2	19.8	15.4
Semillas/cápsula	33.8	39.4	37.4	31.9
Rendimiento. kg				
Semilla seca por planta por año.	0.68	1.08	1.25	0.88
Semillas/100 g	4701	3517	4731	5705
% de Bixina	1.60	1.95	1.23	1.70
Trillabilidad	Difícil	Fácil	Fácil	Fácil
Susceptibilidad a oidium	Baja en hojas, alta en cápsulas.	Menor que # 2, alta en hojas tiernas.	Menos que 2 y 3, baja en hojas tiernas.	Hojas tiernas muy suscept.

su iniciación se analizaron con un diseño experimental de bloques completos al azar; igual que el crecimiento inicial de las plántulas. Se utilizó el método de Duncan para la separación de medias en los tres análisis.

Se hicieron cuatro repeticiones y la unidad experimental constó de 25 semillas sembradas en bandejas de "Espumaflon" de 67*34*6 cm con 128 hoyos. Estas bandejas se llenaron con una mezcla de partes iguales de tierra, compost y casulla quemada de arroz, desinfectada con bromuro de metilo (0.45kg/m³).

El ensayo se inició en septiembre de 1990 con semillas cosechadas en junio del mismo año y almacenadas en bolsas de polietileno y puestas en un cuarto oscuro.

Las bandejas se colocaron en invernadero tipo "Quonset", del departamento de Horticultura, con cubierta de plástico transparente, recibieron riego por nebulización cada media hora para mantener la temperatura entre 25 y 35°C durante el día. Durante la noche las temperaturas oscilaron entre 20 y 30 °C.

Se tomaron diariamente datos de germinación y se reunieron en cuatro grupos de germinación semanal para el primer análisis. También se analizó la germinación acumulada y la alturas de plántulas al mes de iniciada la germinación.

b) Efecto del ácido giberélico en la germinación

1) Efecto de diversas dosis sobre las cuatro líneas en estudio.

El ensayo se realizó durante el mes de noviembre, seis meses después de cosechadas las semillas. Se probaron las mismas líneas utilizadas en el primer ensayo. Los tratamientos fueron: remojo por 24 horas en 0, 500, 1000, 2500, 5000 ppm de ácido giberélico (AG.), más un testigo que no se remojó ni se trató con AG. Se esperaba que esto permitiese evaluar la influencia de la giberelina sobre la germinación y posterior desarrollo de las plántulas.

El experimento para evaluar la germinación y la altura de plántula a los 31 días se hizo con un diseño experimental de bloques completos al azar, con dos factores. El factor A

fueron las dosis de giberelina y el factor B las líneas de achiote.

Este ensayo se llevó a cabo de igual manera que el ensayo número uno, utilizándose bandejas y material de propagación en un ambiente protegido de invernadero. Las lecturas diarias se agruparon en un mes para los análisis estadísticos. La lectura de altura de plantas también fue hecha al mes de iniciada la germinación.

A las 24 horas de remojo en las distintas dosis se procedió a sembrar las semillas, de acuerdo al plan previamente elaborado, rotulando cada bandeja y cada tratamiento. La unidad experimental constó de 25 semillas y se hicieron 4 repeticiones.

2. Efecto de tiempo de remojo y dosis de ácido giberélico en la germinación y crecimiento de la línea # 3 de achiote

Se inició el ensayo en el mes de febrero, nueve meses después de cosechadas las semillas, utilizando la línea # 3. Esta línea mostró mejor comportamiento, según el análisis estadístico de los primeros dos ensayos. Los tratamientos

utilizados fueron nivel de giberelina: 750, 1500 y 3000 ppm de ácido giberélico, agua y un testigo (semilla seca); y tiempos de remojo: 24, 48, 72 y 96 horas. El procedimiento fue similar al del ensayo anterior, con la excepción de habersele dado 10 minutos de aireación cada 24 horas de remojo, para evitar la asfixia de las semillas. La unidad experimental estuvo constituida por 20 semillas, y se hicieron cuatro repeticiones.

Se usó un diseño de bloques completos al azar para determinar posibles diferencias entre tratamientos en número de semillas germinadas, días a germinación y altura de planta. El diseño de parcela dividida en bloques al azar se empleó para estudiar los efectos de la giberelina (factor A) y del tiempo de remojo (factor B).

Se hicieron las comparaciones agua vs. AG. y testigo vs. remojo. La separación de medias, cuando fue necesaria, se hizo con el método de Duncan.

Se buscó establecer el tratamiento más adecuado para obtener el mayor porcentaje de germinación y mejor crecimiento de las plántulas.

II PROPAGACION ASEXUAL

a) Propagación por estacas

Se inició el ensayo en diciembre de 1990. Se utilizaron dos niveles de la hormona de enraizamiento "Hormodin 2" [ácido indol butírico (AIB)] y cuatro tipos de estacas (basal, media, terminal con hoja y terminal sin hoja) de las líneas 2, 3, y 4.

Las estacas basales y medias medían 1.5 a 2 cm de diámetro y 25 a 30 cm de largo y las terminales, con y sin hojas, tuvieron 1.0 a 1.5 cm de diámetro y 15.0 cm de largo.

El diseño utilizado fue de parcela dividida en bloques al azar. Las líneas, factor A, constituyeron las parcelas principales. El factor B ("Hormodin", AIB a 3000 ppm y 0 ppm) y el factor C (tipo de estaca) se combinaron en subparcelas dentro de las parcelas principales.

Se hicieron cuatro repeticiones de diez estacas por tratamiento. Las estacas fueron desinfectadas con "Benlate" al 3 por 1000 y luego se trataron con 3000 ppm de ácido indol-

butírico en forma de "Hormodin 2" en la base. Las estacas testigo sólo se desinfectaron.

Las estacas se colocaron bajo una cámara herméticamente cerrada hecha de polietileno transparente de 2 milésimas de cm de espesor. La cámara se colocó debajo de una estructura con 50% de sombra proporcionada por malla de polipropileno. El medio de enraizamiento constó de tres partes de arena, una de aserrín descompuesto y una de tierra. Este fue desinfectado con bromuro de metilo (0.45kg/m^3) antes de ser colocado en las bolsas de polietileno negro de 30x40cm y 20 milésimas de espesor. Las bolsas fueron perforadas para permitir el drenaje de la humedad excesiva. Las estacas se enterraron $3/4$ de su longitud. Se regó a capacidad máxima el medio enraizante y las bolsas rotuladas fueron colocadas en sus bloques respectivos. Se instalaron encima de ellas arcos de alambre, sobre los que se colocó la lámina de polietileno transparente, cuyas orillas inferiores se sellaron con material del substrato, para formar así una cámara hermética.

A los 120 días se evaluó el porcentaje de estacas enraizadas y número de raíces por estaca, dándoseles la calificación: 1 = 1 a 5 raíces, 2 = 6 a 10 raíces, 3 = 11 a 15 raíces y 4 = 16 a 20 raíces.

RESULTADOS Y DISCUSION

I PROPAGACION SEXUAL

a. Secuencia de germinación

La interacción líneas por semanas (Cuadro 1) es altamente significativa, por el hecho que las semillas son de líneas distintas. Las líneas 4 y 5 necesitan un período largo para la germinación, mientras que las líneas 2 y 3 germinan más rápidamente (Cuadro 2). Esa diferencia es atribuible en gran parte a la diferencia genética como consecuencia de la necesidad de adaptación para su sobrevivencia en las regiones tropicales de la América de donde es nativa la planta del achiote. Este hecho también explica el alto coeficiente de variación.

Las líneas 2 y 3 tuvieron una germinación descendente a lo largo de las cuatro semanas, esto es lo esperado en semillas provenientes de plantas mejoradas, mientras que la germinación de la línea 4 fue similar durante las cuatro

Cuadro 1. Cuadrados medios para la variable porcentaje de germinación semanal de las líneas 2, 3, 4, y 5 de achiote. El Zamorano, 1990.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado medio
Repeticiones	3	2.430
Líneas	3	83.091*
Error	9	18.632
Semanas	3	241.813**
Líneas/Semanas	9	328.398**
Error	36	32.111
C.V.		30.02%

*, Diferencia estadísticamente significativa al 5 % de probabilidad.

** , Diferencia estadística e interacción significativa al 1 % de probabilidad.

Cuadro 2. Porcentaje de germinación de cuatro líneas de achiote durante cuatro semanas de germinación. El Zamorano, 1990.

Líneas	Semanas			
	1	2	3	4
2	28 a	7 b	8 b	3 b
3	43 a	10 b	7 b	6 b
4	8 a	9 a	13 a	10 a
5	2 c	10 b	20 a	8 c

* Medias de una línea seguidos de una letra en común no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Duncan al 1 % de probabilidad.

semanas y la de la 5 aumentó hasta la tercera semana (Cuadro 2). Se sabe que semillas de muchas especies de plantas no germinan rápidamente al proporcionárseles óptimas condiciones de germinación, como un mecanismo de autodefensa y preservación de la especie (Bidwell 1990). Esto puede ser la causa del bajo porcentaje de germinación inicial de las líneas # 4 y 5 a sólo tres meses de ser cosechadas, ya que éstas permanecieron viables por largo tiempo, germinando esporádicamente por varios meses después de concluido el ensayo, lo cual en el estado natural significaría una mayor posibilidad de supervivencia al germinar algunas en momentos más favorables. Esta desuniformidad de germinación puede ser causada por la testa dura, que según León (1987), cubre al endosperma y embrión.

Los cuadrados medios para la germinación total y altura de planta se presentan en el Cuadro 3. La línea # 3 tuvo el mayor porcentaje al mes de iniciada la germinación (Cuadro 4). Las líneas # 2, 4 y 5 tuvieron porcentajes estadísticamente similares entre sí, pero menores que la línea # 3. Una posible causa de la baja germinación de las cuatro líneas, a tan sólo 3 meses de ser cosechadas, es la

Cuadro 3. Cuadrados medios para las variables germinación total a los 31 días y altura de plántula. El Zamorano, 1990.

Fuente de variación	Grados de libertad	Germinación total	altura de plántula
Repeticiones	3	8.2	0.41
Líneas	3	152.9*	0.76*
Error	9	32.3	0.17
C.V.		11.28 %	7.46 %

*, Diferencias significativas al 5 % de probabilidad.

Cuadro 4. Separación de medias para las variables germinación total en porcentaje y altura en cm de las líneas de achiote 2, 3, 4 y 5. El Zamorano, 1990.

	<u>Líneas</u>			
	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Total germinación (%)	54 b *	75 a	55 b	53 b
Altura de plántula (cm)	5.3 b *	6.2 a	5.5 b	5.2 b

* Letras distintas en una línea denotan diferencia significativa de acuerdo con Duncan al 5 % de probabilidad.

persistencia de parte del tejido conectivo entre la semilla y la cápsula, que forma una barrera a la entrada de agua, que al ser escarificada, permite a la semilla germinar con rapidez. Esta observación fue realizada por Goldbach (1979).

En lo referente a la altura promedio de plantas al mes de iniciada la germinación (Cuadro 3), la línea # 3 tuvo altura mayor que las otras tres, que representaron alturas similares entre sí (Cuadro 4). Esto se puede deber a que la línea # 3 tuvo una mayor germinación inicial por lo que al mes había un mayor porcentaje de plantas con más edad y por ende tamaño, que en las otras tres líneas, por lo que su promedio de altura fue mayor.

De acuerdo con la información obtenida de este ensayo, la línea # 3 resultó ser mejor que las otras en rapidez de germinación, porcentaje de germinación y crecimiento inicial de plántulas; características deseables para el establecimiento de plantaciones uniformes.

La línea # 2 presentó características similares a la # 3, siendo mejor que las líneas # 4 y 5 solamente en rapidez de germinación.

b. Efecto del ácido giberélico en la germinación

1. Efecto de diversas dosis sobre las cuatro líneas en estudio.

No se observó interacción entre la giberelina y las líneas para la variable en estudio (Cuadro 5). Solamente hubo diferencia estadística, altamente significativa, entre líneas para porcentaje de germinación. Las medias se presentan en el cuadro 6. La germinación en todos los casos se inició a los ocho días de la siembra. El remojo por 24 horas en las distintas concentraciones de ácido giberélico no ayudó a acelerar la germinación, que fue de nueve días en el primer ensayo. Sobre esto, Miño (1990) reportó una reducción significativa de 12 a 7 días en el inicio de la germinación de semillas remojadas por 24 horas en agua, de la línea # 3, seguida de la # 2. Esta diferencia puede deberse a un ritmo distinto de imbibición por parte de las semillas, ya que después de 24 horas en las soluciones, algunas semillas aún permanecían con apariencia normal sin indicios de imbibición. Esta observación es corroborada por Goldbach (1979), quien reportó hasta 18% de semillas no germinadas y viables después de un año. Este factor y el ritmo frecuente de riego ligero

Cuadro 5. Cuadrados medios para las variables germinación y altura de plántula, de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con diversos niveles de ácido giberélico. El Zamorano, 1990.

Fuente de variación	Grados de libertad	Germinación total	Altura de plántula
Repeticiones	3	67.3	0.6
A.G.	5	66.8	0.3
Líneas	3	2375.6**	38.7**
A.G. x Líneas	15	51.9	3.3**
Error	69	46.5	0.4
C.V.		15.35%	14.64%

** , Diferencia significativa al 1% de probabilidad.

Cuadro 6. Porcentaje de germinación de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con distintos niveles de ácido giberélico. El Zamorano, 1990.

A.G. (ppm)	Líneas			
	2	3	4	5
Testigo	77.3	61.0	52.0	28.6
0	52.1	67.1	52.2	27.8
500	50.0	67.2	48.0	28.0
1000	58.1	68.8	50.0	26.6
2500	55.3	66.1	35.7	25.1
5000	56.1	62.3	39.8	26.9
Medias * Totales de las Líneas	58.4 a	65.4 a	46.2 b	26.9 c

* Medias, en una línea, con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Duncan al 5 % nivel de probabilidad.

para mantener la temperatura del invernadero constante, pudieron ser la causa de la diferencia entre los resultados en días a germinación encontrada por Miño y los de este ensayo. Estas variaciones pueden darse entre años, de acuerdo con las condiciones climáticas que afecten la formación de las semillas, a la forma de extracción y secado de éstas y a las condiciones de germinación.

Cabe destacar que a pesar de haberse iniciado al mismo tiempo la germinación, las líneas # 3 y 2 tuvieron mayor número de plantas germinadas, que las otras 2 (Cuadro 6); similar a lo ocurrido cuando no se usó ácido giberélico. En relación con el primer ensayo hecho a los tres meses de cosechada la semilla y sin tratamiento, hubo una disminución del porcentaje de germinación de las líneas 3, 4 y 5, en cambio la línea 2 aumentó ligeramente.

En cuanto a la altura de plántulas existió una interacción significativa entre dosis de giberelina y líneas para esta variable. Mientras la altura disminuyó con la aplicación de giberelina con relación al testigo en la línea 2, lo contrario fue cierto para la línea 3. En la línea 4 la altura tendió a disminuir con las dosis de giberelina,

mientras éstas parecieron no afectar a la línea 5. Esto se puede observar en el cuadro 7. En general, la altura de plántula fue mayor para la línea 3 pero este efecto puede estar asociado a una germinación más temprana y consecuentemente mayor desarrollo de las plántulas en esta línea.

Miño (1990) reportó algunas diferencias positivas entre los tratamientos con ácido giberélico en las líneas # 2 y 4, mientras que no las hubo en las líneas # 3 y 5. Esto lleva a pensar en un control físico-genético de la germinación de las semillas de achiote, que regula posiblemente el ritmo de imbibición, como lo expone Goldbach (1979) y Miño (1990). Esto obedece a lo planteado por Catalán (1974) y Miño (1990), puesto que se puede esperar semillas de mayor tamaño de árboles selectos, lo que implica una mayor retención de agua por la semilla, evitando así la condición de semilla dura (Goldbach, 1979). Por otra parte, la diferencia de altura mostrada en el Cuadro 7 obedece a la diferencia entre las líneas y no al efecto de la gibberelina. Esto implica un factor genético con influencia ambiental, puesto que la diferencia es entre líneas y no entre tratamientos. Es razonable pensar que plantas que germinan primero tendrán mayor tamaño, como en el caso de las líneas # 2 y 3.

Cuadro 7. Altura de planta (cm) de cuatro líneas de achiote tratadas durante 24 horas con distintos niveles de ácido giberélico. Datos tomados a los 31 días de iniciada la germinación. El Zamorano, 1990.

A.G. (ppm)	Línea			
	2	3	4	5
	Altura De Planta (cm)			
testigo	6.5	4.1	5.0	3.4
0	4.3	6.6	4.5	3.3
500	3.6	6.8	5.4	2.9
1000	5.0	6.2	4.9	3.2
2500	4.1	6.7	3.9	3.0
5000	5.0	6.8	4.3	2.8

2. Efecto de tiempo de remojo y dosis de ácido giberelico en la germinación y crecimiento de la línea # 3.

No hubo interacción entre las dosis de giberelina utilizadas y horas en remojo con relación al numero de días a germinación, porcentaje de germinación y altura de plántula de la línea 3 (cuadro 8).

La diferencia en "días a germinación" se debió a la giberelina, mientras que la de "porcentaje de germinación" se debió principalmente a las horas de remojo. En cambio, la altura de plántula no fue afectada por la giberelina ni por las horas de remojo.

Las semillas, del testigo seco y el remojo en agua germinaron en 10 días (Cuadro 9 y 10). Esto fue significativamente más rápido que el de los tratamientos con A.G. A pesar de la ventaja de varios días en un medio apropiado para iniciar la germinación, los tratamientos con A.G. no superaron al testigo, más bien aumentó el número de días a germinación a medida que se aumentó la concentración de A.G.

Cuadro 8. Cuadrados medios para las variables días a germinación, porcentaje de germinación y altura de plántula (cm) a los 31 días, de semillas de la línea # 3 de achiote remojadas en diversas concentraciones de ácido giberélico durante distintos períodos. El Zamorano, 1990.

Fuente de variación	Grados de libertad	Germinación Días	%	Altura de Plántula (cm)
Repeticiones	3	0.098	69.660	5.681
Tratamientos	16	5.086**	201.135**	0.288
Agua vs. A.G.	1	36.750**	660.929**	0.038
Testigo vs. Remojo	1	0.113	1.191	0.192
A.G.	3	23.557**	486.199*	0.736
Tiempo De Remojo	3	0.724	271.784*	0.161
A.G. x T. Remojo	9	0.405	93.147	0.164
Error	48	0.692	78.616	0.200
Total	67			
C.V.		7.35%	16.31%	11.13%

*, Diferencia estadística significativa al 5% de probabilidad.

** Diferencia estadística significativa al 1% de Probabilidad.

Cuadro 9. Días a germinación de semillas, de la línea # 3 de achiote, tratadas con distintas concentraciones de ácido giberélico por diferentes periodos. El Zamorano, 1990.

A.G. (ppm)	Horas de remojo			
	24	48	72	96
agua	10.00	10.25	10.00	10.00
750	11.00	11.25	10.50	11.00
1500	11.75	11.50	11.75	11.50
3000	12.50	13.75	12.50	13.00
Media del Testigo (semilla seca sin tratar): 10.25				

INSTITUTO NACIONAL POPULAR
 ESCUELA NACIONAL DE INVESTIGACIONES
 ZAMORANO
 ZAMORANO, GUATEMALA

Cuadro 10. Medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo para la variable días a germinación, al mes de su iniciación. El Zamorano, 1991.

A.G.		Remojo	
ppm	media	horas	media
agua	10.06	24	11.31
750	10.94	48	11.69
1500	11.63	72	11.19
3000	12.94	96	11.38

En cuanto al porcentaje de germinación un mes después de su iniciación, destacan 24 horas en 0 y 750 ppm de A.G. que fueron numéricamente pero no estadísticamente superiores al testigo, alcanzando 85% y 79% de germinación respectivamente (Cuadros 11 y 12). La giberelina y el tiempo de remojo tuvieron efecto estadísticamente significativo sobre los resultados (Cuadro 8), notándose una tendencia a deteriorarse al aumentar las dosis de A.G. (Cuadros 11 y 12); aunque también parece que a más horas de remojo disminuyó la germinación.

Si bien hubo un retraso en la germinación y una aparente disminución del porcentaje con los tratamientos de 750, 1500 y 3000 ppm A.G., no hubo diferencia estadística significativa entre los 17 tratamientos para altura de plántulas (Cuadro 8). Las alturas de plántulas de los tratamientos testigo y de remojo en agua, que germinaron primero (Cuadros 13 y 14), no fueron estadísticamente superiores. A pesar de varios trastornos observados en las plántulas tratadas con A.G. a 750, 1500 y 3000 ppm, posiblemente una lectura dos o tres meses más tarde pudo haber resaltado el efecto del A.G. sobre el crecimiento de las plántulas, al desaparecer el efecto de una posible sobredosis.

Cuadro 11. Medias de porcentaje de germinación de semillas de la línea # 3 de achiote, tratadas con distintas concentraciones de ácido giberélico por diferentes períodos. El Zamorano, 1990.

A.G. (ppm)	Horas de remojo			
	24**	48*	72*	96*
agua	85.2a	67.9ab	71.5a	71.7a
750	79.1a	54.3b	70.8a	53.7ab
1500	69.3ab	75.9a	73.5a	57.6ab
3000	50.0b	51.1b	65.4a	44.7b
Media del Testigo (semilla seca sin tratar): 73.5				

Resultados en una misma columna seguidos de una letra en común no difieren estadísticamente entre sí, con 5 % (*) ó 1 % (**) de probabilidad de acuerdo a la prueba de Duncan.

Cuadro 12. Separación de medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo para la variable porcentaje de germinación, al mes de iniciada. El Zamorano, 1991.

A.G.		Remojo	
ppm	media	horas	media
agua	74.4 a *	24	71.7 a **
750	64.9 ab	48	62.6 ab
1500	69.3 a	72	71.4 ab
3000	52.9 b	96	57.0 b

Resultados en una columna seguidos de una letra en común no difieren estadísticamente entre sí, con 5 % (*) ó 1 % (**) de probabilidad, de acuerdo con la prueba de Duncan.

Cuadro 13. Medias de altura de plántula de la línea # 3 de achiote tratada con distintas concentraciones ácido giberélico por diferentes períodos. El Zamorano, 1990.

A.G. (ppm)	Horas de remojo			
	24	48	72	96
agua	4.0	3.8	4.0	4.0
750	4.1	4.3	4.1	4.2
1500	4.2	4.6	4.0	4.0
3000	4.0	3.8	3.4	3.8
Media del Testigo (semilla seca sin tratar): 3.7				

Cuadro 14. Medias totales de niveles de ácido giberélico y horas de remojo, para la variable altura de plántula (cm), al mes de iniciada la germinación. El Zamorano, 1981.

A.G.		Remojo	
ppm	media	horas	media
agua	3.97	24	4.06
750	3.73	48	4.11
1500	4.19	72	3.88
3000	4.18	96	4.02

Parece haber una acción retardadora por parte del ácido giberélico que puede deberse a un exceso causado por las altas dosis empleadas, induciendo su auto consumo en ausencia de oxígeno durante el tiempo que permanece la semilla en remojo. Quick (1962) y Bidwell (1990), mencionan un proceso de letargo, de autodestrucción o de envejecimiento y el requerimiento de postmaduración, respectivamente. Esta acción retardadora parece acentuarse a más de 2500 ppm de A.G. El menor porcentaje de germinación puede ser atribuido a una posible fitotoxicidad del ácido giberélico actuando sobre aquellas semillas que se imbibieron con rapidez, de tal modo que alcanzaron mayores niveles de concentración. Además, algunas semillas no se imbibieron, de modo que permanecieron como antes del remojo. Las plántulas provenientes de estos tratamientos resultaron atrofiadas, presentando un aspecto similar al daño causado por el herbicida 2, 4-D y las raíces de algunas mostraron un aspecto retorcido. Muchas semillas germinaron varios meses después de concluida la observación y otras permanecieron intactas y viables.

PROPAGACION ASEXUAL

El cuadro 15 contiene el análisis de varianza para porcentaje de enraizamiento de estacas basales, medias, terminales sin hoja y terminales con hoja tratadas con ácido indol butirico (A.I.B.) y provenientes de las líneas de achiote # 2, 3 y 4. El análisis muestra la ausencia de interacción y la diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las líneas.

La concentración de 3000 ppm de A.I.B. no tuvo efectos significativos en cuanto a porcentaje de estacas enraizadas de los cuatro tipos en las tres líneas estudiadas. Sin embargo, hubo diferencia estadísticamente significativa entre las tres líneas, siendo mayor la media de la línea # 3 (Cuadro 16).

En la línea # 2 las estacas medias, sin hormona, tuvieron el mayor porcentaje de enraizamiento alcanzando 20% (Cuadro 17). En la línea # 3 fue mejor la estaca media con 3000 ppm de A.I.B., con 32.5% de estacas enraizadas, el más alto del ensayo. En la línea # 4 enraizaron mejor las estacas terminales sin hoja con 3000 ppm de A.I.B., que alcanzaron un 22.5%. Sin embargo, las tendencias indicadas no fueron estadísticamente significativas.

Cuadro 15. Cuadrado medio para la variable porcentaje de estacas enraizadas, de las líneas # 2, 3 y 4, de achiote tratadas con 3000 ppm de ácido indol butírico (A.I.B.). El Zamorano, 1990-1991.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Cuadrado Medio
Repeticiones	3	317.472**
Líneas	2	687.177**
Error	6	48.809
A.I.B.	1	66.201
Líneas x A.I.B.	2	17.762
Tipo de estaca	3	249.294
Líneas x estaca	6	464.896
A.I.B. x estaca	3	34.051
Línea x A.I.B. x estaca	6	203.618
Error	63	230.271
C.V.		90.95%

**, Diferencia estadística significativa entre las medias al 1% de probabilidad.

Cuadro 16. Separación de medias de la variable porcentaje de estacas enraizadas de las líneas No. 2, 3 y 4, de achiote tratadas con A.I.B. El Zamorano, 1990-1991.

Línea	Porcentaje de estacas enraizadas
2	14.54 b
3	22.01 a
4	13.55 b

Letras distintas denotan diferencia estadística significativa al 1% de probabilidad, de acuerdo con la prueba de Duncan.

Cuadro 17. Medias de la variable porcentaje de enraizamiento de estacas basales, medias, terminales con y sin hoja, de las líneas # 2, 3 y 4 de achiote, tratadas con ácido indol butírico (A.I.B.) y puestas en cámara hermética de plástico transparente, bajo sombra. El Zamorano, 1990-1991.

Línea	A.I.B. (ppm)	Tipo De Estaca			
		<u>Basal</u>	<u>Media</u>	<u>Terminal</u> con hoja sin hoja	
		Porcentaje De Enraizamiento			
2	0	12.5	20.0	12.5	0.0
3	0	25.0	10.0	27.5	12.5
4	0	5.0	2.5	12.5	15.0
2	3000	15.0	15.0	5.0	10.0
3	3000	22.5	5.0	22.5	32.5
4	3000	22.5	15.0	7.5	2.5

En cuanto a la calidad de raíces, los porcentajes de enraizamiento no justificaron hacer un análisis estadístico, presentándose esto en el apéndice 1.

Según Miño (1990), los resultados de enraizamiento con estacas semi-leñosas medias sin hoja y terminales con hojas, no fueron como se esperaba en la prueba bajo túnel plástico, mientras que los del presente ensayo son más alentadores si bien el porcentaje de enraizamiento fue bajo. Se considera que estas estacas tuvieron mejor posibilidad de sobrevivir porque fueron las últimas que se cortaron, y además cuando se les aplicó el A.I.B., estaban húmedas en el área del corte. Muchas diferencias entre enraizamiento o muerte de las estacas dependen más del manejo que del tipo de estacas que se use.

En cuanto a las estacas basales leñosas, Miño (1990) no obtuvo buen resultado bajo 73% de sombra llegando a 20% de enraizamiento con 1000 ppm A.I.B. en la línea # 4. En cambio, estacas de similar edad bajo nebulización, respondieron mejor.

Bajo túnel plástico herméticamente cerrado, con 100% de H.R. se evita los riesgos de falta de humedad. Este sistema le rindió mejores resultados a Miño (1990), quien obtuvo hasta 71.87% de enraizamiento con la línea # 3 con estacas basales leñosas tratadas con 3000 ppm de A.I.B. Bajo condiciones y materiales similares en el presente ensayo, el máximo enraizamiento logrado fue de 25% sin A.I.B., Siguió de 3000 ppm de A.I.B. en que se logró 22.5%. Sin embargo el mejor resultado de la línea # 3 (32.5%) se logró con estacas medias y 3000 ppm de A.I.B. Esta tendencia, aunque no significativa podría deberse a que si bien a los 70 días en el túnel plástico había indicios de un alto porcentaje de supervivencia, al igual que en el caso de Miño, con el sistema de nebulización, el túnel quedó expuesto al sol por algunas horas en tres ocasiones, por trabajos de cambio de la malla de polipropileno. Esto como es lógico elevó notoriamente la temperatura interior causando una reducción visible en el número de estacas que sobrevivieron.

Aunque no es de esperar que el material de las diversas líneas enraíce igual debido a su variación genética, es muy posible que pueda aumentarse el porcentaje de supervivencia evitando la exposición directa del túnel a la luz solar y

cortando el material de propagación con hojas, temprano en la mañana para evitar su deshidratación. Se debe colocar el material cosechado envuelto o metido en costales húmedos para el transporte al lugar de propagación. Posiblemente la exposición al sol directo del túnel, que ocurrió más de una vez durante el ensayo, fue la causa más importante de los bajos resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

1. La línea # 3 seguida de la # 2 de achiote presentó mejor viabilidad y vigor de semillas que las líneas # 4 y 5.
2. El uso de ácido giberélico en achiote pareció detrimental, causando muerte de algunas semillas y deformando las plántulas debido a un crecimiento muy acelerado.
3. El remojo en agua durante 24 horas ayudó a mejorar y a acelerar la germinación de las semillas.
4. Las condiciones en un túnel de plástico parecen ser favorables para propagar el achiote por estaca, pero hay que cuidar que no quede expuesto al sol directo. El túnel tiene la ventaja de bajo costo, facilidad de obtención de materiales y sencilla instalación.

RECOMENDACIONES

1. Remojar las semillas de achiote durante 24 horas en agua antes de sembrarlas para una mejor germinación, descartando las que floten.
2. Probar el uso de ácido giberélico después de la germinación con la idea de obtener un crecimiento más rápido de plántulas.
3. Usar un túnel plástico herméticamente sellado para propagar estacas, observando periódicamente el nivel de humedad en el sustrato, para humedecerlo si fuese necesario.
4. Proteger las estacas que tienen hojas de la deshidratación y calentamiento excesivo, cosechándolas y poniéndolas a la sombra o en un ambiente fresco y con humedad.
5. Realizar algún experimento en el que se estudie la latencia de las semillas, probando varios métodos de escarificación y remojo en agua a diversas temperaturas.

LITERATURA CITADA

1. ALIAGA, J. 1985. "Manual del cultivo de Achiote", Fondo de Promoción de Exportaciones (Fopex), Departamento de Investigación de Mercados, Gerencia Técnica. Lima Perú.
2. ARCE, J. 1983. El Achiote: Generalidades sobre el cultivo. II. Actividades, Turrialba. 11(4): 6-8.
3. ARCE, J. 1989. Propagación asexual del Achiote. CATIE. Turrialba Costa Rica. (Comunicación Personal).
4. BAILEY, L. 1924. Manual of cultivated plants. Revised edition, The Macmillan Company, New York, U.S.A. p. 682-683.
5. Banco Central de Honduras, Departamento de Investigación Industrial (Coordinador) 1985. Producción y empaque de achiote para consumo nacional (Informe preliminar). PROHDAI (Programa Hondureño de Desarrollo Agro-Industrial), Tegucigalpa, D.C. Honduras, C.A. 36p.
6. BIDWELL, R. G. S. 1990. Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español. Trad. Cano y Cano G.G. y M. Rojas Garcidueñas. Mexico. 784 p.
7. CATALAN, S. 1974. Achiote; Resumen de la información disponible. Ministerio de Agricultura. Guatemala. 16p.
8. DICCIONARIO ENCICLOPEDICO U.T.E.H.A. (Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana). 1980. Tomo 1, Mexico, 160 p.
9. ENCICLOPEDIA UNIVERSAL ILUSTRADA EUROPEO-AMERICANA. 1978. Tomo II. Editorial ESPASA-CALPE S.A., Madrid, Barcelona. p. 767-768.

10. GODLBACH, H. 1979. Germination and storage of Bixa orellana seeds. Seed science and technology. Turrialba 7(3): 399-402.
11. HARTMANN, H.T. y D.E. KESTER. 1983. Propagación de Plantas, Principios y prácticas. Trad. Antonio Marino. 3ra ed., C.E.C.S.A., México. 760 p.
12. HILL, A.F. 1952. Economic Botany, A textbook of useful plants and products. McGraw-Hill Book Company, Inc. U.S.A. p. 133 y 514.
13. LEON, J. 1987. Botánica de los Cultivos Tropicales. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica. 409-411 p.
14. LITTLE, Jr. E. L., WOODBURY R. A., and F. H. WADSWORTH. 1974. Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. U.S. Department of Agriculture Forest Service. Handbook no. 449. Vol. II, p. 568.
15. MAFTEI, M. 1989. El Creciente Mercado Mundial del Achiote como Colorante Natural Alimenticio. Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT, Proyecto No. Hon./47/14. 65 p.
16. MENDOZA, M. D. 1965. El cultivo del achiote, Asociación General de Agricultores # 83, Epoca III, Guatemala.
17. MINO, E. 1990. Ensayos en la propagación del achiote (Bixa orellana) por estacas y determinación de pérdida de viabilidad de sus semillas. Tesis, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras.
18. MORALES, N. 1962. Datos etnobotánicos sobre el cultivo del achiote. Educación 9 (30). San José, Costa Rica. pp.36-38.
19. MORERA J. A. 1983. Mantenimiento de Colecciones de Achiote en Banco de Germoplasma. Seminario, C.A.T.I.E., Turrialba, Costa Rica p. 124-135.

20. OCAMPO, R. A. 1983. Aspectos agronómicos sobre el cultivo del Achiote (Bixa orellana) en los cantones de Aguirre y Dota. En: Aspectos sobre el achiote y perspectivas para Costa Rica. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico no. 47. p. 43-57.
21. QUICK, C. 1962. Semillas. Anuario de Agricultura. Dept. de Agricultura de los EE.UU. Trad. Antonio Marino. C.E.C.S.A., México. p. 181-190.
22. RIVERA, R. 1973. El Achiote o Bija es planta que tiene muchos usos. Hacienda (EE.UU.). 68(5): 26-29.
23. SCHERY, R. 1956. Plantas útiles al hombre. Colección Agrícola Salvat, Imprenta Hispano-Americana, S.A. Barcelona. 335 p.
24. SNEDECOR, G. W., and W. G. COCHRAN, 1969. Statistical Methods, Sixth Ed. Ames, Iowa, U.S.A. 585 p.
25. STANDLEY, P. C. 1923. Trees and Shrubs of Mexico (OXALIDACEAE-TURNERACEAE) Vol 23, part 3. Smithsonian Institution. United States National Museum. p. 834-836.
26. STANDLEY, P. and S. J. RECORD. 1936. The Forests and Flora of British Honduras. Field Museum of Natural History-Botany, Vol. XII. Chicago, U.S.A. 264 p.

Apendice 1. Calidad de raíces de estacas basales, medias y terminales con y sin hojas de las líneas # 2, 3 y 4 de achiote con y sin ácido indol butírico (A.I.B.) y puestas en cámara hermética de plástico transparente, bajo sombra. El Zamorano, 1990-1991.

Línea	A.I.B. (ppm)	Tio De Estaca			
		<u>Basal</u>	<u>Media</u>	<u>Terminal</u> con hoja	<u>Terminal</u> sin hoja
2	0	1.5	1.0	-	1.0
3	0	3.3	3.0	3.3	2.5
4	0	-	-	1.0	-
2	3000	1.0	1.0	1.0	1.0
3	3000	2.0	2.0	4.0	3.0
4	3000	1.0	3.0	2.0	1.0

La calidad no han sido analizada estadísticamente y los datos se obtuvieron de acuerdo al criterio siguiente: La calidad de raíces se determinó así: 1 = 1 a 5 raíces, 2 = 6 a 10 raíces, 3 = 11 a 15 raíces y 4 = 16 a 20 raíces.