

“Aspectos de la biología reproductiva y manejo poscosecha de la semilla sexual de *Heliconia champneiana* cv Splash, para el posterior establecimiento de almácigos comerciales”

María José Moya Rodríguez

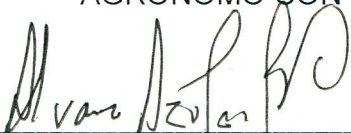
TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO CON EL GRADO DE LICENCIADO EN AGRONOMÍA

ESCUELA DE AGRONOMÍA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
AÑO 2017


“Aspectos de la biología reproductiva y manejo poscosecha de la semilla sexual de *Heliconia champneiana* cv Splash, para el posterior establecimiento de almácigos comerciales”

María José Moya Rodríguez

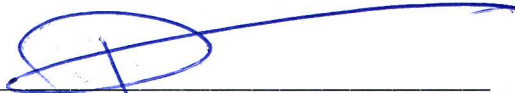
TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO CON EL GRADO DE LICENCIADO EN AGRONOMÍA


Álvaro Azofeifa Delgado. M. Sc.

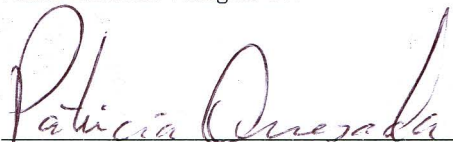
DIRECTOR DE TESIS


Luis Barboza Barquero. Dr.

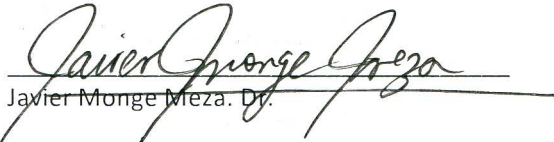
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Pablo Bolaños Villegas. Dr.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Patricia Quesada Rojas. M. Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Javier Monge Meza. Dr.

DIRECTOR DE ESCUELA


María José Moya Rodríguez. Bach.

SUSTENTANTE

2017

I. Dedicatoria

A mi madre Alejandra por siempre brindarme su apoyo incondicional, siendo mi ejemplo a seguir por su lucha interminable y deseos de vivir. También a mi hermano Guillermo, sin su ayuda esto no hubiera sido posible.

A Dios y a la Virgen por permitirme finalizar una etapa más.

II. Agradecimientos

Deseo extender mi más sincero agradecimiento quienes fueron clave para culminar este proceso.

A Álvaro Azofeifa, mi director tesis por darme la oportunidad de desarrollar este proyecto, por sus consejos y apoyo durante todo el proceso que me sirvieron mucho para crecer como profesional, también a todos los miembros del comité asesor.

A Carolina Porras por todos sus consejos y conocimientos que fueron fundamentales para el desarrollo de mi trabajo, así como sus consejos y apoyo.

Al personal de CIGRAS, especialmente a Verónica Campos y Guillermo Solano por todos sus consejos, apoyo y tiempo que siempre compartieron conmigo, son grandes profesionales.

A Pamela Portugués por su gran apoyo y todo el tiempo dedicado en el análisis estadístico, así como a todos los compañeros que de una u otra manera me brindaron su ayuda durante este tiempo.

A mis amigos por su apoyo y consejos que me ayudaron a seguir adelante.

III. Índice General

I.	Dedicatoria.....	3
II.	Agradecimientos.....	4
III.	Índice General.....	5
IV.	Índice de Cuadros.....	7
V.	Índice de Figuras.....	8
VI.	Índice de Anexos.....	10
1.	INTRODUCCIÓN	12
3.	MARCO TEÓRICO	16
4.	METODOLOGÍA	24
4.1.	<i>Lugar experimental</i>	24
4.2.	<i>Material vegetal</i>	24
4.3.	<i>Parte experimental</i>	24
4.3.1.	<i>Descripción de la inflorescencia</i>	24
4.3.2.	<i>Sistema de embolsado</i>	25
4.3.2.1.	Diseño experimental.....	26
4.3.2.2.	Variables de respuesta	27
4.3.2.3.	Análisis estadístico.....	27
4.3.2.	<i>Poscosecha de la semilla</i>	28
4.3.2.1.	Determinación del contenido de humedad inicial	28
4.3.2.2.	Tiempo y temperatura de almacenamiento	29
4.3.2.2.1.	Diseño experimental.....	31
4.3.2.2.2.	Variables de respuesta.....	32
4.3.2.2.3.	Análisis estadístico	33
4.3.2.3.	Prueba de tetrazolio	34
4.3.3.	<i>Evaluación de sustratos</i>	35
4.3.3.1.	Diseño experimental	36
4.3.3.2.	Variables de respuestas.....	36
4.3.3.3.	Análisis estadístico.....	36
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
5.1.	Descripción de la inflorescencia de <i>Heliconia champneiana</i> cv Splash.....	38
5.2.	Embolsado de la inflorescencia.....	44

5.3.	Efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento sobre la semilla de <i>Heliconia champneiana</i>	50
5.4.	Almácigos de <i>H. champneiana</i> cv. Splash.....	62
6.	CONCLUSIONES	69
7.	RECOMENDACIONES	70
8.	LITERATURA CITADA	71
9.	ANEXOS	78

VI. Índice de Cuadros

Cuadros	Título	Página
1	Cantidad de inflorescencias embolsadas y sin embolsar según grado de desarrollo.	27
2	Resultados de los efectos del embolsado en las inflorescencias sobre la producción de frutos según el grado de desarrollo de estas, y el promedio de frutos reportados por inflorescencia según tratamiento.	44
3	Razones de ventaja entre los tratamientos utilizados que presentaron una significancia positiva.	51
4	Porcentaje de germinación acumulada luego de 8 semanas de evaluación de las semillas de Heliconia a 5 °C, 15 °C y 25 °C durante 0, 2, 4 y 6 meses de almacenamiento.	52

VII. Índice de Figuras

Figura	Título	Página
1	Diseño del tipo de funda evaluado para el sistema de embolsado sobre las inflorescencias de <i>H. champneiana</i> cv. Splash.	26
2	Detalle de semilla. a) con el opérculo. b) con opérculo removido.	30
3	Bandeja utilizada con la distribución de los tratamientos (T1= 5°C, T2= 15 °C, T3= 25°C) y utilizadas para la prueba de germinación.	31
4	Semilla germinada de <i>H. champneiana</i> cv. Splash.	32
5	Prueba de tetrazolio para las semillas de <i>H. champneiana</i> cv. Splash. a) Semilla viable; b) Semilla no viable.	34
6	Inflorescencia de <i>H. champneiana</i> cv Splash.	39
7	Flor de <i>H. champneiana</i> cv Splash, indicando sus sépalos y pétalos. b) Distribución de las flores dentro de la bráctea.	40
8	a) Frutos de <i>H. champneiana</i> cv Splash; b) Frutos maduros e inmaduros representando una maduración escalonada; c) Producción de frutos por bráctea.	41
9	Semillas sexuales de <i>H. champneiana</i> cv Splash. a) Parte superior de la semilla, b) Parte inferior de la semilla, indicando el opérculo.	42
10	Inflorescencias de <i>H. champneiana</i> cv Splash, clasificadas en grado 1, 2 y 3 según el estado de desarrollo relacionado a la cantidad de brácteas completamente abiertas.	43
11	Fructificación de la inflorescencias de <i>H. champneiana</i> cv Splash luego de cuatro meses de evaluación. a) Inflorescencia sin embolsar y b) Inflorescencia embolsadas.	45
12	Estado representativo de la Inflorescencia luego de 4 meses de evaluación. a y c) embolsadas grado 2 y 1; b y d) sin embolsar grado 2 y 1 respectivamente.	47
13	Inflorescencias de <i>H. champneiana</i> cv Splash: a) residuos florales; b) humedad en las brácteas; c) restos de material vegetal; d) presencia de patógenos.	48
14	Plántulas normales de <i>H. champneiana</i> cv Splash.	56
15	Plántulas anormales de <i>H. champneiana</i> cv Splash.	57
16	Porcentaje de plántulas normales y anormales registradas después del almacenamiento de las semillas de <i>H. champneiana</i> cv Splash.	59

17	Porcentaje de semillas de <i>H. champneiana</i> cv Splash no germinadas después del periodo de evaluación, catalogadas como semillas viables o muertas.	60
18	Semillas muertas con presencia de patógeno.	61
19	Altura promedio alcanzada por las plantas de <i>H. champneiana</i> cv. Splash, en diferentes sustratos.	63
20	Presencia de manchas en las hojas ocasionadas por quema de sol.	67

VIII. Índice de Anexos

Anexo	Título	Página
1	Razones de ventaja obtenidas de análisis mediante una regresión logística para los tratamientos de tiempo de almacenamiento y temperatura empleadas en semillas de <i>H. champneiana</i> cv. Splash.	78
2	Análisis de varianza realizado para el contenido de humedad de las semillas.	79
3	Cantidad de brácteas obtenidas luego de 4 meses de embolsado y análisis estadístico mediante una distribución de Poisson.	80
4	Análisis químico de suelos realizado a los sustratos empleados.	81
5	Análisis químico de retención de humedad y porosidad de los sustratos utilizados.	82

Resumen

El mercado de plantas ornamentales es dinámico, requiere de constante innovación e investigación para cumplir con tendencias y exigencias de compradores y consumidores, especialmente en lo referente al cultivo de plantas exóticas tropicales como lo son las heliconias. Es por esto que se planteo el generar información que permita un mayor conocimiento sobre estas plantas, del manejo poscosecha de la semilla y de la elaboración de almácigos comerciales. Se realizó una descripción de la inflorescencia con el fin de que sirva como guía para productores. Se observó el efecto de un sistema de embolsado a inflorescencias en dos grados diferentes de desarrollo sobre la producción de frutos, obteniendo un producción de frutos 145-146 % más que en aquellas inflorescencias no embolsadas, tampoco se observó una afectación sobre el continuo crecimiento de la inflorescencia alcanzando entre 13-15 brácteas completamente abiertas. En cuanto al manejo poscosecha de la semilla, el almacenamiento a temperatura ambiente por un período no mayor a 2 meses, fue el que produjo los mejores resultados con un 92 % de germinación y la mayor razón de ventaja (60,3) en comparación a todos los demás tratamientos. Luego de 6 meses de almacenamiento se produce una pérdida significativa de la viabilidad, incrementando la cantidad de semillas muertas y plántulas anormales, especialmente a temperatura ambiente donde no supero un 16% de germinación. La cantidad de semillas germinadas se mantuvo superior al 75% durante todo el periodo de almacenamiento a temperaturas de 5 y 15 °C. Por la capacidad de mantenerse con una viabilidad alta y con una humedad inicial baja, opuesto a lo esperado para semillas del trópico, se puede decir que las semillas de *H. champneiana* cv. Splash presentaron un comportamiento ortodoxo. En cuanto a la elaboración de almácigos comerciales, el utilizar suelo como sustrato generó las mejores condiciones para un mayor crecimiento de las plantas, no se presentaron diferencias significativas en la producción de hojas, ni presencia de plantas enfermas, muertas o brotes laterales.

1. Introducción

La floricultura es una actividad económica que ha formado parte del desarrollo agrícola desde muchos años atrás, caracterizándose por ser un sector muy dinámico que sienta sus bases en tendencias y exigencias de compradores y consumidores, por lo que se ha logrado una amplia diversidad de plantas con características deseables, así como una extensa investigación para la obtención y mejora de especies y variedades para satisfacer estas demandas.

En el mundo existen unas 400 mil hectáreas destinadas al cultivo de flores de corta y plantas ornamentales, lo que significó en el 2011, un consumo anual de flores de entre 40 y 60 mil millones de USD, concentrándose el 80% de la demanda, en los mercados de la Unión Europea, Japón y Estados Unidos (Hagiwara y Villanova 2016), lo que demuestra que el mercado de plantas ornamentales, flores de corta y follajes, es de importancia para el desarrollo y economía agrícola en muchos países.

En Costa Rica, según el último Censo Nacional Agropecuario, hay un total de 6215 hectáreas que tienen dentro sus actividades la producción de cultivos ornamentales, donde se incluyen plantas vivas, follajes y flores de corta (INEC 2015). Este sector representó en el año 2016, un 5,2% de la composición total del valor de las exportaciones agropecuarias y que generó en el mismo período 139,6 millones de USD al país por concepto de exportaciones (PROCOMER 2017).

Dentro de este mercado, las plantas exóticas tropicales, como las heliconias, han tenido una aceptación creciente. Las heliconias pertenecen al Orden de las *Zingiberales* donde son los únicos miembros de la familia *Heliconiaceae*. Son plantas herbáceas, monocotiledóneas y perennes, que producen rizomas y presentan un pseudotallo aéreo (Jerez 2007). Entre las características particulares que facilitan su reconocimiento, se encuentran las inflorescencias de vistosos colores, formas (Sosa, 2008) e inclusive texturas. Los frutos, por lo general, son de color azul intenso al madurar y pueden contener hasta tres semillas, que presentan testa dura. Se distribuyen principalmente en la zona tropical de

América, que va desde el centro de México hasta Suramérica, así como en el Caribe (Berry & Kress 1991).

A pesar de que la información disponible acerca de las heliconias resulta ser escasa, dispersa y en ocasiones contradictoria, se sabe que su propagación se puede realizar por vía sexual y asexual. En esta última, la propagación por rizoma es la más frecuente a nivel comercial y además brinda la posibilidad de mantener las características genotípicas y fenotípicas de la planta madre (Iracheta *et al.* 2013). En cuanto a la vía sexual, es poco utilizada debido a que se reporta a las semillas con bajos porcentajes de germinación y los períodos de latencia suelen ser extensos (Ospina y Piñeros 2006).

Otro factor ligado al poco empleo de semilla sexual como vía de propagación, está relacionado con la escasa producción de frutos y por ende de semillas en condiciones normales. Por las razones anteriores, estudiar los componentes de la inflorescencia como las flores, es un primer paso para determinar los puntos a seguir para la obtención de mayor cantidad de frutos. Iracheta *et al.* (2013) destacan que la polinización para la obtención de semilla es sencilla, siempre que se tenga el conocimiento de la morfología de la inflorescencia y sus flores.

Por otro lado, en cuanto al manejo poscosecha de la semilla sexual, en particular el almacenamiento, presenta un gran vacío de información. Conocer factores como la temperatura, humedad y el tiempo adecuado, es indispensable para conservar la calidad de la semilla durante el almacenamiento, debido al efecto directo que generan sobre estas (Meneghello 2014). También el almacenamiento de las semillas tiene gran importancia en la producción de los cultivos, al favorecer la disponibilidad de semillas en el tiempo (Amaral y Lemos 2009).

Así mismo, el poder contar con semilla limpia y viable resulta de importancia en el establecimiento del cultivo, ya que brinda la posibilidad de establecer almácigos a partir de semilla sexual, con lo que se aumentaría la capacidad de producción, al tener plántulas con buenas condiciones fitosanitarias e incrementar así el porcentaje de éxito en la plantación, al poder seleccionar las mejores plantas que

se llevarán a campo (Quesada y Méndez 2005). Lo que resulta en una nueva alternativa comercial y de producción, como también para futuras investigaciones en mejoramiento genético.

En vista de lo anterior, el presente estudio lo que pretende es realizar un aporte sobre del comportamiento reproductivo de *H. champneiana* cv. Splash, con el fin de facilitar la obtención de semilla sexual, así como, establecer parámetros iniciales para su adecuado almacenamiento. Además establecer un sustrato adecuado para la elaboración de almácigos, que cumplan con las condiciones óptimas para el desarrollo de las plantas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Generar información que permita un mayor conocimiento de la biología reproductiva, del manejo postcosecha de la semilla y de la elaboración de almácigos comerciales de *Heliconia champneiana* cv Splash.

2.2. Objetivos Específicos

- Describir la inflorescencia de *H. champneiana* cv. Splash, así como, observar el efecto de un sistema de embolse de la misma, sobre la producción de frutos.
- Evaluar el efecto del tiempo y de la temperatura, durante el almacenamiento de semillas sexuales de *H. champneiana* cv. Splash, sobre su germinación.
- Evaluar tres tipos de sustratos para la elaboración de almácigos comerciales de *H. champneiana* cv. Splash.

3. Marco Teórico

3.1. Importancia de las heliconias

La producción de flores y en especial de flores tropicales, resulta una actividad generadora de ingresos económicos y de fuentes de trabajo a los países productores, convirtiéndose en una alternativa de inversión en el sector agrícola. Por lo general, estos cultivos requieren de poca área cultivable y presentan ciclos de producción relativamente cortos, lo que permite un rápido retorno del capital de inversión (Santos *et al.* 2006).

Resulta difícil determinar con exactitud los datos económicos generados por el concepto de exportación de heliconias. Se conoce que en el año 2004 se exportaron entre 24.000 a 30.000 tallos procedentes de Colombia, Ecuador y Costa Rica (Instituto Alexander von Humboldt 2003 citado por Sosa 2013), y esto representó en términos de producción comercial, 21 mil millones de USD a nivel mundial (Saldaña 2004 citado por Ortiz 2010).

Otra de las ventajas que poseen las heliconias a nivel agronómico, es su rusticidad, lo que favorece la adaptabilidad a condiciones climáticas diversas, una mayor resistencia al ataque de plagas y enfermedades; largos períodos de floración e inflorescencias con larga vida poscosecha, que hacen a estas plantas ser muy aptas y atractivas para el mercado ornamental (Álvarez 2013 citado por Jerez 2007).

Sumado a lo anterior, las heliconias tienen un papel importante en los ecosistemas tropicales, ya que forman parte de diversas interacciones bióticas, al actuar como hábitat y fuente de alimento para aves y gran cantidad de insectos como moscas, escarabajos y hormigas, que se pueden encontrar en las brácteas o en hojas jóvenes enrolladas (Seifert 1982 citado por Santos *et al.* 2009). También se desempeñan como plantas pioneras en el proceso de regeneración de vegetación y ayudan en la recuperación de suelos degradados (Nakano 2008).

En Costa Rica, al ser parte del centro de origen, área de dispersión y diversidad de las heliconias, se tienen condiciones climáticas y edáficas adecuadas para su producción. Se ha reportado alrededor de 47 especies nativas, por lo que se considera que es el cuarto país con mayor cantidad de especies luego de Colombia (94), Ecuador (60) y Panamá con (56) (Castro *et al.* 2007 citado por Londoño 2014).

En la zona de Guácimo, en la provincia de Limón, es donde se concentra la mayor cantidad de empresas dedicadas al cultivo de heliconias. Así que Costa Rica cuenta con gran diversidad de especies endémicas e introducidas al país, lo que amplía las posibilidades de mercado y la búsqueda de mejoras y nuevas opciones en el sistema productivo, esencial en una actividad que cambia rápidamente y que necesita de innovación constante.

3.2. Características de las heliconias

Como se ha mencionado, las heliconias son plantas tropicales que naturalmente se encuentran en lugares abiertos, en áreas de crecimiento secundario, a lo largo de caminos y orillas de ríos (Berry & Kress 1991). Es justamente en el trópico donde las heliconias encuentran las condiciones apropiadas para su máximo desarrollo vegetativo, al estar provistas de una abundante cantidad de agua, temperaturas adecuadas e incidencia de luz, que favorecen la durabilidad y colorido de las inflorescencias (Sosa 2013).

Con frecuencia las zonas húmedas o lluviosas son las ideales para localizarlas, aunque algunas se pueden encontrar en zonas con una fuerte estación seca. A una altura media entre los 800-1500 m.s.n.m. es donde se pueden localizar la mayor parte de las heliconias; sin embargo, algunas se encuentran desde los 0 m.s.n.m. y otras pocas a una altura superior a los 2000 m.s.n.m. (Kress 1990).

Este grupo de plantas presenta órganos subterráneos especializados o rizomas, que tienen como función ser fuente de reservas de nutrientes y de agua, así mismo, son los rizomas los que utilizan a nivel comercial para la propagación vegetativa o asexual de las heliconias (Castro 1995 citado por Melo 2011).

En las brácteas de las heliconias es donde se encuentra su mayor atractivo, al presentar una gama amplia de colores, texturas y tamaños, que las hacen encantadoras, mientras que sus flores no destacan mucho al ser más pequeñas y de una coloración blanca, verde o amarilla (Terao *et al.* 2005 citado por Melo 2011). También son productoras de néctar rico en carbohidratos y de frutos carnosos, que son atractivos a polinizadores y dispersores de semillas (Ribeiro *et al.* 2012), lo que es importante cuando son utilizadas como parte de jardines.

Las heliconias presentan tres tipos básicos de crecimiento (Berry & Kress 1991), establecidos según la orientación de las hojas y la longitud de los pecíolos. Estos arreglos se mantienen constantes dentro de las especies y son:

- Musoide: las hojas están orientadas verticalmente y presentan pecíolos largos.
- Zingiberoide: las hojas están levemente horizontales y con pecíolos cortos.
- Canoide: los pecíolos tienen longitud corta o media con hojas que se sostienen oblicuamente.

De la biología reproductiva de las heliconias se conoce poco. Berry & Kress (1991) indican que la mayoría de las especies son auto-compatibles; sin embargo, para la producción de semilla es necesario la transferencia de polen por medio de un polinizador, que puede ser natural o artificial. Los colibríes tienen un papel importante especialmente en la polinización natural de aquellas inflorescencias de color rojo, amarillo, naranja y rosado y los murciélagos en las inflorescencias verdes. Estos autores también indican que, la polinización cruzada entre especies de heliconia es generalmente ineficaz, porque el polen de una especie es usualmente rechazado por otras especies.

3.3. Propagación de las heliconias

Melo (2011) indica que uno de los principales problemas que encuentra la expansión del cultivo de heliconias, es la producción de plántulas. Tradicionalmente la propagación de especies de interés comercial se ha realizado por medio de rizomas, debido a la facilidad y rapidez de la técnica, que implica

menores costos, evita períodos juveniles largos y se obtiene una homogeneidad en el cultivo. En contraste, la semilla sexual presenta dificultades para ser obtenida y algunos problemas como baja germinación (Iracheta *et al.* 2013).

Sin embargo, la propagación vegetativa puede conducir a la diseminación y acumulación de agentes causales de enfermedades (hongos, bacterias, virus y nematodos), que son transmitidas entre plantaciones sucesivas contaminadas, lo que dificultan la expresión del verdadero potencial productivo de las plantas (Santos *et al.* 2006). Por lo tanto, para un adecuado establecimiento vegetativo de las heliconias, es ideal establecer lotes de plantas madre con rizomas de buena calidad y seleccionados por la belleza de su flor, la tolerancia a plagas y enfermedades y la resiliencia a condiciones ambientales adversas (Alarcón y Bernal 2012).

Es importante establecer que en términos de producción comercial, ambas formas de propagación (sexual y asexual) son equivalentes. Al comparar la eficiencia de la semilla sexual y el rizoma como métodos de propagación. Las semillas sexuales presentan una lenta y baja germinación, así como del lento crecimiento de las plántulas, contrario a la propagación por rizomas que produce rápidamente vástagos adultos, pero este último es un sistema lento para la obtención de nuevos rizomas (Montgomery 1986 citado por Alarcón y Bernal 2012).

También se cuenta con otra técnica vegetativa que puede ser una alternativa, como es el caso de la micropropagación, donde se pueden producir las plántulas de heliconia a gran escala y con alta calidad genética y fitosanitaria (Nathan *et al.* 1992). A pesar de presentar similitudes con el género *Musa*, el cual es ampliamente propagado en condiciones *in vitro*, la oferta comercial de heliconias micropropagadas es escasa y suele restringirse a algunos cultivares como *H. psittacorum* (Criley y Broschat 1992 citado por Jerez 2007).

La propagación por semilla sexual es un sistema que se utiliza muy poco, ya que como se ha mencionado, presenta bajos porcentajes de germinación, expone una latencia que puede extenderse desde unos meses y hasta inclusive años y el

tiempo requerido desde la siembra a inicio de la floración, se prolonga en algunos materiales de 3 a 4 años (Criley 1988 citado por Jerez, 2007; Melo 2011).

Aún así, el uso de semilla sexual resulta en una alternativa tanto en la parte de investigación como de mercado, brindando la posibilidad de introducir material sano a áreas nuevas de producción, así como para generar variabilidad genética que puede ser aprovechada en el mercado ornamental, de la mano con programas de mejoramiento.

Conocer y comprender los sistemas de reproducción de cada especie resulta de gran importancia para la obtención de semilla de interés comercial y agronómico (Kress 1983). El empleo de un aislamiento de las estructuras reproductivas es una técnica común en muchos cultivos, especialmente en el mejoramiento genético y la obtención de semilla, ya que es usada con el fin de evitar la polinización cruzada y llevar a cabo este proceso artificialmente. También se utiliza para estudiar la vía principal o vías alternas de reproducción (Ortiz y Fernández 2000), favoreciendo así su establecimiento en campo e investigaciones.

3.4. Manejo poscosecha de semilla sexual

En el manejo poscosecha de las semillas se incluyen algunas etapas básicas como: transporte, secado, acondicionamiento, almacenamiento y análisis de calidad (Meneghello 2014). En el caso del almacenamiento, su función principal es la conservación de la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas, por lo que reducir la velocidad de deterioro y de los efectos que esto trae a las semillas, se vuelve prioritario. Sin embargo, existe una amplia diversidad entre especies en relación con el potencial de almacenamiento que poseen las semillas (Amaral y Lemos 2009).

La tasa de deterioro que presentan las semillas en almacenamiento, va a depender de las condiciones bajo las cuales se realice ese almacenamiento (Stubsgaard s.f.), por lo que se hace necesario controlar y conocer los factores que afectan la calidad de la semilla durante este proceso, entre ellos la humedad y la temperatura, para reducir la velocidad de deterioro. Un exceso de humedad

acelera el metabolismo de las semillas, lo que ocasiona el incremento en la velocidad de deterioro, así mismo, se genera condiciones favorables para el crecimiento de patógenos (Meneghello 2014). A su vez, la temperatura entre 23 °C a 30 °C favorece el desarrollo de insectos, afectando el potencial de germinación al reducir el peso, la pureza física y la calidad fisiológica (Amaral y Lemos 2009).

Siendo así, las semillas se han agrupado en ortodoxas y recalcitrantes, con base en la capacidad que tienen las semillas en disminuir el contenido de agua sin perder su viabilidad (Herrera *et al.* 2006). Las semillas ortodoxas son tolerantes a bajas temperaturas, así como a la desecación sin que sufran daños. Por otro lado, las semillas recalcitrantes no toleran la desecación hasta ciertos límites y su tiempo de almacenamiento es reducido (Stubsgaard, s.f). Lo que determinan estas dos agrupaciones son los requerimientos de humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento necesarios para mantener la viabilidad de las semillas de manera óptima, durante el proceso.

Las semillas de *Eucalyptus deglupta* y *Eucalyptus microtheca* al almacenarse a temperatura ambiente incrementan la velocidad de deterioro, pero al colocarse en recipientes herméticos entre 3 a 5 °C, la condición mejora. Las semillas de otras especies, como las de madero negro (*Gliricidia sepium*) y del cocobolo (*Dalbergia retusa*), pueden ser almacenadas durante 4 años y 5 años a 4 °C y a una humedad de 5,7- 5,8 %, en recipientes herméticos (Trujillo 1994 citado por Trujillo 1995).

En el caso de las semillas de palmas tropicales, se conoce que la mayoría pierde la viabilidad si son almacenadas por debajo de los 15 °C, por lo que es recomendable para estas especies que las semillas se almacenen en bolsas de plástico selladas y se mantengan a una temperatura entre los 18 °C y 23 °C, ya que algunas son intolerantes a la desecación (Meerow 1991).

Criley y Broschat (1992) indican que el efecto del almacenamiento de la semilla de heliconia no se conoce a fondo, a pesar de que es un factor de importancia si se desea conservar la viabilidad de la semilla. Si este proceso no se realiza

adecuadamente, la tasa de deterioro se incrementa, reflejándose en bajas tasas de germinación y aumento en la cantidad de plántulas anormales, entre otros, por lo que las condiciones en las que se realice el almacenamiento se deben conocer con exactitud (Stubsgaard, s.f).

3.5. Producción de almácigos

La elaboración de almácigos para el establecimiento de diversos cultivos, es una técnica empleada por sus múltiples beneficios como el establecimiento de un cultivo homogéneo y precoz en campo o invernadero, ya que brinda la oportunidad de seleccionar las plantas más aptas y sanas, y porque se puede realizar un manejo eficiente de la semilla como insumo, ya que su precio en muchos cultivos es muy elevado (Quesada y Méndez 2005).

Uno de los aspectos más importantes a considerar para el establecimiento de almácigos es la elección del sustrato, dado que determina en gran medida la calidad y el éxito de estos. Los sustratos deben cumplir con los requerimientos de las plantas, como brindar soporte, fomentar el enraizamiento, aportar condiciones de humedad óptimas, permitir el intercambio de gases y servir como depósito de nutrientes. Con un buen sustrato, se puede obtener plantas con buen desarrollo y sanas, hasta su posterior establecimiento en campo (Alvarado y Solano 2002). Idealmente los sustratos deben ser de fácil obtención y de bajo costo (Quesada 2004).

Las materias primas utilizadas deben tener condiciones de humedad y oxígeno suficientes, así como una porosidad adecuada que permitan la aeración, presentar un nivel bajo de salinidad y disponibilidad de nutrientes, sumado a las buenas características de volumen, firmeza y sanidad (Amaral 1992 citado por Melo 2011). La selección de estas materias primas debe ser viable para la propagación del cultivo, así como aprovechar algunos residuos generados en la agroindustria local, generando un impacto mayor a nivel social y ambiental (Rocha *et al.* 2009).

Dentro de las materias primas más utilizadas en nuestro país se encuentran la fibra de coco (*Cocus nucifera*) y la granza de arroz (*Oryza sativa*). En el caso de la

fibra de coco es obtenida del coco envejecido antes de ser molido, y es a partir de esta molienda que se obtienen las partículas finas y fibras medianas que son empleadas como sustrato. Este material tiene la ventaja de que se puede encontrar con facilidad en la zona Caribe del país (Quesada y Méndez 2005), donde se localiza la mayor cantidad de plantaciones de heliconia. Es un material ampliamente aprovechado por su alta porosidad, además de que es un material de bajo costo y alta disponibilidad (Carrijo *et al.* 2002).

En cuanto a la granza de arroz, se obtiene como un subproducto de la actividad arrocera, también es de bajo costo y se consiguen en grandes volúmenes (Quesada y Méndez 2005). Como sustrato contribuye a mejorar la disponibilidad de agua y aumenta la porosidad. Ambos materiales son considerados como sustratos prácticamente inertes, que no reaccionan con los nutrientes aportados cuando se fertiliza y poseen una larga durabilidad sin alterar sus características físicas (Carrijo *et al.* 2002).

En cuanto a la producción de almácigos de heliconia, la información resulta ser dispersa y variada, donde se hace mayor referencia al establecimiento de almácigos para el proceso de aclimatación de plántulas establecidas en cultivo *in vitro* antes de ser llevadas a campo. Sin embargo para el establecimiento de almácigos a partir de semilla sexual la información es muy escasa. De forma general, se recomienda establecer los almácigos de heliconia a partir de semilla, en lugares calientes donde la temperatura ronde entre los 25°C a 35°C, trasplantando las plantas cuando tengan de 2 a 4 cm de altura (Ortiz 2010).

4. Metodología

4.1. Lugar experimental

Este estudio se realizó en el Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), de la Universidad de Costa Rica en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, ubicada en Montes de Oca, San Pedro, provincia de San José, Costa Rica (09° 56' N y 84° 00 O, 1205 m.s.n.m.).

El material vegetal se obtuvo, en la finca Agropecuaria AZODEL localizada en Horquetas de Sarapiquí, provincia de Heredia, Costa Rica (10° 31' N y 83° 95' O, 68 m.s.n.m.), con una temperatura máxima de 31 °C y mínima de 21 °C aproximadamente, con una humedad relativa entre 80-90% y con un promedio de precipitaciones anuales de 4000 mm.

4.2. Material vegetal

Se empleó como material vegetal, plantas madres de *H. champneiana* cultivar Splash, provenientes de una plantación comercial establecida de manera asexual hace más de ocho años.

4.3. Parte experimental

4.3.1. Descripción de la inflorescencia

Se realizó una documentación fotográfica, que sirvió como apoyo para la realización de una descripción básica de las estructuras que forman la inflorescencia de la *H. champneiana* cv. Splash.

Para esto, se identificó una cepa representativa de la variedad, en ella se seleccionaron inflorescencias en buen estado fitosanitario, se procedió con su cosecha y transporte al laboratorio en el CIGRAS. En condiciones de laboratorio, se realizó la documentación fotográfica, con cámara digital SONY Cybershot DSC-

H7 de 8.1 MP con un zoom óptico 15x, una relación de aspecto de imagen de 42 cm x 29,7 cm. Inicialmente se fotografió la inflorescencia completa, luego se seccionaron en sus diferentes componentes como brácteas y flores, con la finalidad de tener una visión de cada una de las estructuras y realizar una documentación y descripción de aspectos como color, forma y tamaño.

4.3.2. Sistema de embolsado

Con el fin de observar el efecto de un sistema de embolsado a las inflorescencias de la *H. champneiana* sobre la producción de frutos, se procedió a evaluar dos condiciones: inflorescencia embolsada y sin embolsar, en combinación con dos grados de desarrollo de la inflorescencia.

Para lo anterior, se utilizaron fundas de tela tipo tergal con dimensiones de 0,5 m x1,5 m, con el extremo inferior abierto para favorecer la caída natural de las flores y evitar la acumulación de material vegetal dentro de la funda.

En campo se procedió a seleccionar dentro de la plantación, cepas sanas sin aparente deficiencia nutricional y que presentaran inflorescencias en diferentes grados de desarrollo. Se definieron los siguientes grados de desarrollo:

- Grado 1 o pequeña: inflorescencia iniciando desarrollo y hasta con un máximo de 4 brácteas completamente abiertas.
- Grados 2 o intermedia: inflorescencia que presenta entre 5 y hasta 8 brácteas completamente abiertas.

Las fundas se mantuvieron cubriendo las inflorescencias (Figura 1) por un período de 4 meses. Cada cepa seleccionada presentaba tanto inflorescencias en grado 1 como grado 2.



Figura 1. Diseño del tipo de funda evaluado para el sistema de embolsado sobre las inflorescencias de *H. champneiana* cv. Splash.

4.3.2.1. Diseño experimental

Dentro de la plantación, se seleccionaron cepas al azar, que presentaran buenas condiciones fitosanitarias (sin presencia de patógenos, plagas, adecuada nutrición) y que tuvieran inflorescencias en grado 1 y 2 de desarrollo. Se evaluó un total de 22 inflorescencias embolsadas y 17 sin embolsar. La distribución de las

inflorescencias según el grado de desarrollo y condición se presenta en el cuadro siguiente:

Cuadro 1. Cantidad de inflorescencias embolsadas y sin embolsar según grado de desarrollo.

Grado de desarrollo de la inflorescencia	Embolsado	Número de inflorescencias	Plantas madre (cepas) utilizadas
Grado 1	Sí	8	9
Grado 1	No	5	9
Grado 2	Sí	14	9
Grado 2	No	12	9

4.3.2.2. Variables de respuesta

Para determinar el efecto del embolsado sobre la producción de frutos, se realizó luego de la cosecha, un conteo de frutos por inflorescencia, Simultáneamente, se procedió al conteo de brácteas completamente desarrolladas por inflorescencia.

4.3.2.3. Análisis estadístico

Se utilizó un modelo lineal generalizado, mediante la distribución de Poisson, esto con el objetivo de determinar la significancia de los efectos simples y su interacción. El nivel de significancia utilizado fue del 5%. Para el análisis se utilizó el programa estadístico JMP versión 9 de Statistical Analysis Software (SAS).

El modelo utilizado fue:

$$e^{\mu + \beta_1 + \gamma_1 + \beta_1 * \gamma_1 + \epsilon_{ijk}}$$

Donde:

β_1 : Efecto del grado de desarrollo.

γ_1 : Efecto del sistema de embolsado.

$\beta_1 \gamma_1$: efecto de interacción entre grado de desarrollo y sistema de embolsado.

ϵ_{ijk} : error aleatorio.

i: 1, 2 factores

j: 1, 2. factores

4.3.2. Poscosecha de la semilla

4.3.2.1. Determinación del contenido de humedad inicial

Para conocer el contenido de humedad inicial de las semillas, se utilizaron dos metodologías. Estas fueron definidas con base en las normas de la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA, por sus siglas en inglés), para otras especies tomando en cuenta el tamaño, peso y textura de la testa de la semilla.

Una vez realizado el acondicionamiento de las semillas, se colocaron en una bolsa plástica para facilitar la mezcla de estas y así tomar las muestras para la determinación del contenido de humedad. Las muestras se maceraron con una herramienta de martillo, hasta que no quedaran fracciones superiores a 0,5 cm de ancho. Se utilizaron las siguientes metodologías:

La primera se denomina de “alta temperatura”. Para esta se tomó 1,5 gramos (g) de semilla macerada y se colocaron en un recipiente metálico de 100 ml de volumen (6 cm de diámetro por 4,5 cm de alto) con tapa de presión, adecuado para ser colocado en horno de convención forzada, marca Imperial modelo IV. Los recipientes cerrados fueron pesados en una balanza analítica digital marca ADAM, modelo PW254 antes y después de colocar la muestra de 1,5 g de semilla macerada. Posteriormente fueron colocados en el horno a 130 °C por un periodo de 2 horas.

Para la segunda metodología, denominada de “baja temperatura”, se realizó el mismo procedimiento, con la diferencia de que las muestras se mantuvieron en el horno por 18 horas a 105 °C.

Una vez transcurridos los respectivos tiempos en el horno, se sacaron los recipientes y se dejaron reposar por 30 minutos en un deseador, para posteriormente proceder a determinar el peso.

4.3.2.1.1. Diseño experimental y análisis de datos

Se trabajó con una muestra correspondiente a 35 semillas, tomadas al azar.

Para cada metodología se establecieron cinco repeticiones con tres réplicas cada una, para un total de 15 muestras.

El porcentaje de humedad se obtuvo de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Masa de la semilla húmeda (g)}}{\text{Masa de la semilla seca(g)}} \times 100$$

Una vez obtenidos los datos, se sometieron a verificación de normalidad y homocedasticidad con ayuda del programa informático INFOSTAT versión 12. Al verificar el supuesto, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANDEVA) y una comparación múltiple con LSD (Least Significant Difference) Fisher con una significancia del 5%.

4.3.2.2. Tiempo y temperatura de almacenamiento

Para determinar la influencia del tiempo de almacenamiento y temperatura sobre la germinación de la semilla sexual de la *H. champneiana* cv. Splash, se evaluaron cuatro tiempos de almacenamiento 0, 2, 4 y 6 meses después de la cosecha, en combinación con tres temperaturas 5 °C, 15 °C y 25 °C.

Una vez cosechados los frutos, se procedió con el acondicionamiento de las semillas. Luego de esto se procedió a evaluar la germinación inicial y el almacenamiento de las demás semillas.

Para la evaluación inicial de germinación (0 meses), se utilizó semillas recién beneficiadas. A estas se les retiró el opérculo (Figura 2b) y se les puso en imbibición. Para esto, las semillas fueron colocadas en beaker de 500 ml, con 200 ml de agua destilada, garantizando que cubriera totalmente las semillas. El tiempo de imbibición fue de 24 horas. Las semillas vanas o que flotaron fueron eliminadas.

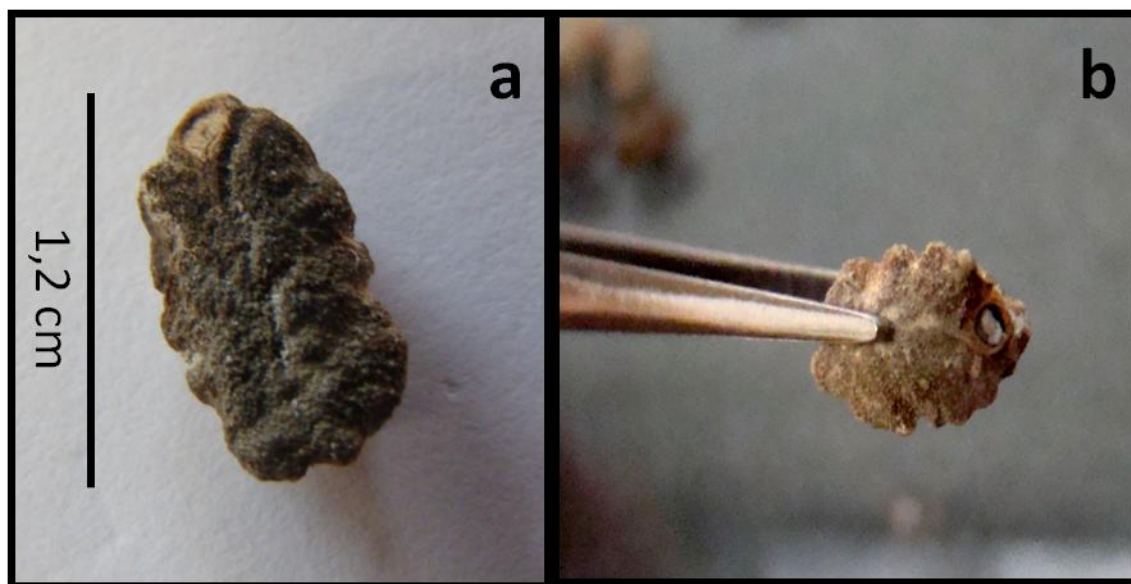


Figura 2. Detalle de semilla. a) con el opérculo. b) con opérculo removido.

Transcurrido el tiempo, las semillas se colocaron en papel para germinación, a base de celulosa marca Anchor, soportado en una bandeja de acero (37,5 cm x 42 cm). Luego la bandeja se colocó en un cuarto de crecimiento a una temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, y una humedad relativa cercana al 100% y un fotoperiodo de 12 horas. Las evaluaciones se realizaron cada siete días durante ocho semanas. A la última semana de evaluación, las semillas sin germinar se sometieron a una prueba de tetrazolio.

En cuanto a las semillas que se colocaron en almacenamiento, una vez terminado el acondicionamiento se dividieron en tres lotes iguales y se colocaron en bolsa plástica transparente de 12 cm x 8 cm, para ser almacenadas en las diferentes temperaturas. Para esto se utilizó un cuarto de almacenamiento con temperatura

promedio de 5 ± 2 °C y una humedad aproximada del 65 %, una incubadora de temperatura baja, marca Precision Scientific modelo 815, con temperatura promedio de 15 ± 2 °C e igual porcentaje de humedad. Por último, las semillas almacenadas a 25 °C se mantuvieron en laboratorio hasta que se cumpliera el período de almacenamiento a evaluar.

Para cada lote de semillas almacenadas (2, 4 y 6 meses) se realizó el mismo procedimiento descrito.

4.3.2.2.1. Diseño experimental

Una bandeja se estableció como unidad experimental. Esta fue dividida en cuatro cuadrantes que correspondieron a las repeticiones (R1, R2, R3, R4).

En cada repetición se utilizaron 25 semillas, para un total de 100 semillas por tratamiento en bandeja (Figura 3). Este diseño se repitió para cada tiempo de almacenamiento en estudio.

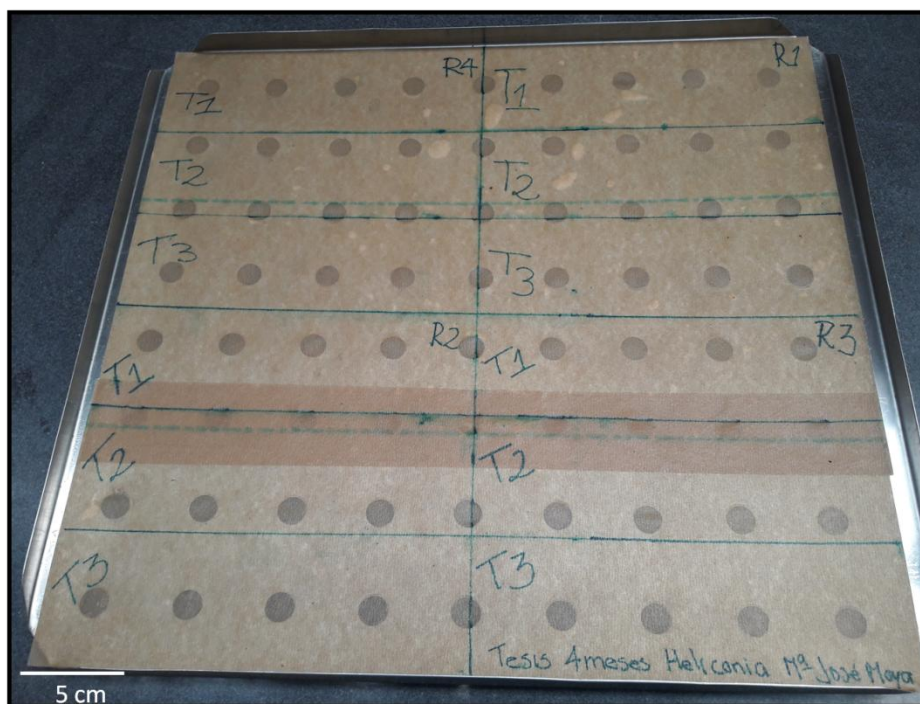


Figura 3. Bandeja utilizada con la distribución de los tratamientos (T1= 5°C, T2= 15 °C, T3= 25°C) y utilizadas para la prueba de germinación.

4.3.2.2.2. Variables de respuesta

Se evaluó la cantidad de semillas germinadas, definiendo germinación como la emergencia de al menos 0,2 cm de la vaina cotiledonear (Figura 4).



Figura 4. Semilla germinada de *H. champneiana* cv. Splash.

Las plántulas germinadas se clasificaron en normales y anormales, para luego contabilizarse, tomando los siguientes aspectos dados por las normas ISTA:

- *Normales:* presentan todas las estructuras (raíces, tallo, hojas) bien desarrolladas, completas, proporcionadas y sanas o muestran defectos leves, así como la presencia de patógenos no originados en la semilla que comprometan la capacidad de establecerse en campo.
- *Anormales:* No muestran el potencial para desarrollarse bajo condiciones ideales, al no presentar alguna de las estructuras esenciales o daños irreparables, deformación o desproporción; aquellas con desarrollo débil y presencia de patógenos que evidencia que se encontraba presente dentro en la semilla.

Así mismo se evaluó semilla viable, aquellas donde el embrión permaneció vivo pero no logró germinar durante el tiempo establecido (8 semanas). Esto se determinó con ayuda de la prueba de tetrazolio al final del periodo de evaluación.

También fue contabilizada la semilla muerta, la cual incluye aquellas semillas que por la presencia de patógenos no lograron germinar o aquellas en que el embrión no se encontraba viable, esto se determinó con la prueba de tetrazolio.

4.3.2.2.3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la variable de respuesta: cantidad de semilla germinada, al ser de naturaleza dicotómica, se transformaron a logit para luego ser sometidos a un análisis bajo un modelo de regresión logística asumiendo una distribución binomial, usando el programa estadístico JMP 9 de Statistical Analysis Software (SAS). Con un nivel de significancia del 5% y empleando razones de ventaja para la interpretación de los datos.

La función logit fue:

$$y = \log \left(\frac{p}{1-p} \right),$$

Donde:

y: Valor del logit.

p= Probabilidad de que ocurra con éxito germinación en n (número de semillas utilizadas por tratamiento) cantidad de semillas.

Este modelo permite la evaluación de un conjunto de variables independientes sobre una variable de respuesta, que es este caso es binomial. Así mismo, permite relacionar la probabilidad de que un evento en este caso la germinación ocurra exitosamente.

Para las variables de plántula normal y anormal, semilla muerta y viable, de los datos se obtuvo un porcentaje de semillas en estas condiciones para cada tratamiento.

4.3.2.3. Prueba de tetrazolio

Se consideró como una semilla viable aquella donde el embrión presentó una coloración roja (Figura 5 a), mientras que las semillas no viables, el embrión se observó completamente blanco (Figura 5b).

Esta prueba ayuda a estimar de forma rápida la condición biológica de la semilla en lo referente al vigor y viabilidad de la misma. Esta consiste en la reacción bioquímica de algunas enzimas de las células vivas del embrión con la sal del tetrazolio, la cual sufre una reducción y forma el compuesto rojo o formazán. El color rojo característico se observa en los tejidos del embrión debido a la reacción del hidrogeno de la respiración de células vivas y el tetrazolio, que es absorbido por los tejidos embrionarios (Moreno 1984).

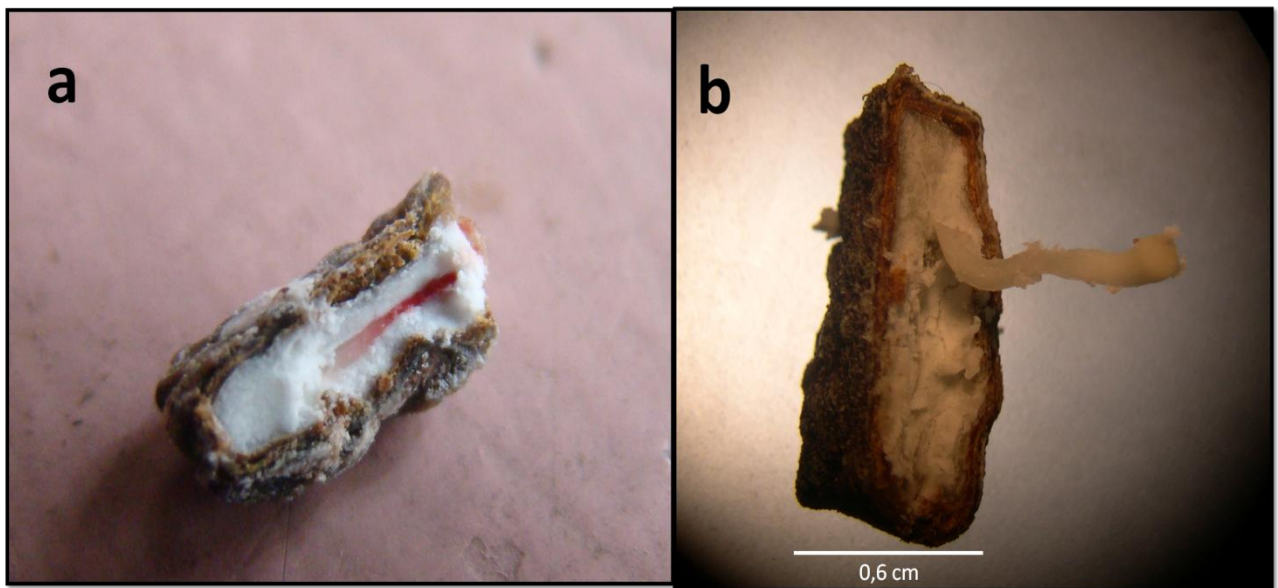


Figura 5. Prueba de tetrazolio para las semillas de *H. champneiana* cv. Splash. a) Semilla viable; b) Semilla no viable.

4.3.3. Evaluación de sustratos

Se evaluó tres tipos de sustratos para el establecimiento de almácigos de *H. champneiana* cv. Splash, con el fin de determinar cuál de ellos proporciona el mejor desarrollo de las plántulas.

Los sustratos evaluados fueron:

- 1) suelo (S)
- 2) Suelo + fibra de coco, en proporción 1:1 (v/v) (SFC)
- 3) Suelo + granza de arroz, en proporción 1:1 (v/v) (SGA)

Se utilizaron plántulas originadas de semilla sexual, cultivadas previamente en bandejas de almácigo y con peatmoss como sustrato de siembra, que presentaran al menos 2 hojas desarrolladas y unos 5 cm de altura.

Se utilizaron bolsas de almácigos de 20 cm × 25 cm, las cuales se llenaron con uno de los diferentes sustratos en estudio. Se sembró una plántula por bolsa. El almácigo se mantuvo en campo. Para evitar el sol directo se utilizó un sarán del 40%. Las plántulas duraron 6 meses en almácigo.

Se realizó un análisis físico-químico de los sustratos utilizados. Para esto las muestras se llevaron a los Laboratorio de Suelos y Foliare y Recursos Naturales, ubicados en el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

En el caso de las materias primas, la fibra de coco se compró en la zona de Siquirres, provincia de Limón, cuyo grado de molienda fue medio con una granulometría heterogénea (0,5-0,8 mm). Mientras que la granza de arroz se obtuvo del Laboratorio de Análisis de Semillas del CIGRAS. El suelo fue un Inceptisol, propio de la finca donde se realizó el ensayo.

4.3.3.1. Diseño experimental

El diseño utilizado para este ensayo consistió en un irrestricto al azar, donde se establecieron tres parcelas de 72 plantas cada una. Se tomaron dos hileras como bordes a ambos lados, quedando cinco repeticiones con cinco réplicas, es decir 25 plantas por tratamiento, para cada uno de los tres tratamientos evaluados.

4.3.3.2. Variables de respuestas

Luego de los 6 meses del almácigo, se evaluaron las siguientes variables productivas:

- a) Altura de plantas en centímetros medida desde la base del pseudotallo, hasta la inserción del peciolo de la hoja más joven completamente desarrollada.
- b) Número de hojas completamente desarrolladas.
- c) Número de brotes por planta.
- d) Número de plantas enfermas (aquellas con síntomas de enfermedad o signos de patógenos).
- e) Plantas con clorosis o plantas muertas.

4.3.3.3. Análisis estadístico

Los datos de altura de planta fueron sometidos a verificación de normalidad y homocedasticidad con ayuda del programa estadístico INFOSTAT versión 12. Al verificar el supuesto, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANDEVA) y una comparación múltiple con LSD Fisher con una significancia del 5%.

Los datos de número de hojas por planta obtenidos, se sometieron a un modelo lineal generalizado, mediante la distribución de Poisson, esto con el objetivo de determinar la significancia de los efectos simples y su interacción. El nivel de significancia utilizado fue del 5%. Para el análisis se utilizó JMP versión 9.

En cuanto a la cantidad de brotes laterales, plantas muertas, enfermas y presencia de clorosis, los datos se analizaron como un porcentaje de semillas en estas condiciones para cada tratamiento.

5. Resultados y Discusión

5.1. Descripción de la inflorescencia de *Heliconia champneiana* cv Splash.

De las observaciones realizadas en campo y laboratorio, se determinó que la inflorescencia de *H. champneiana* es terminal, erecta y succulenta (Figura 6). La tonalidad de esta tiene como base un color amarillo-dorado y presenta machas rojizas de diversos tamaños que se van uniendo entre sí, principalmente en los bordes superiores de las brácteas. Las puntas de las brácteas presentan una tenue coloración verde. Está formada también por un pedúnculo redondo, de color predominantemente rojo con algunas manchas de color morado, mide aproximadamente 8 cm de largo y 3 cm de ancho.

Las brácteas son membranosas, triangulares o en forma de canoa, que mide hasta 8 cm de largo y 5 cm de ancho, dependiendo del grado de desarrollo de estas. Se encuentran distribuidas de forma dística a lo largo de un raquis, cuyo color es mayoritariamente rojo. Las inflorescencias pueden llegar a medir hasta 70 cm de largo y desarrollar completamente hasta 13 brácteas. Lo anterior concuerda con lo reportado por Berry & Kress (1991) y Santos *et al.* (2009) para esta especie de heliconia.

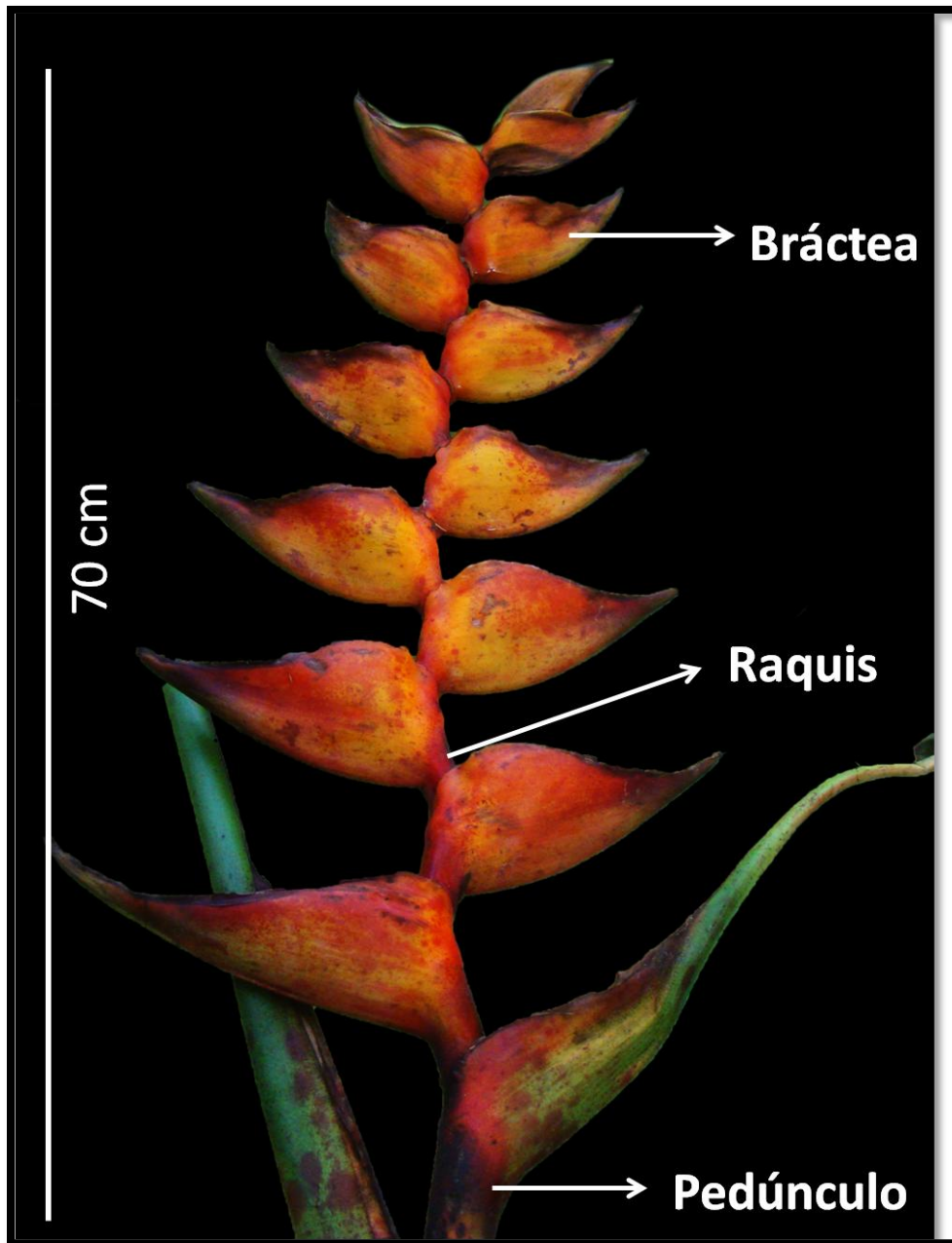


Figura 6. Inflorescencia de *H. champneiana* cv Splash.

Dentro de las brácteas se encuentran las flores, las cuales son hermafroditas y presentan un color de amarillo a verde, midiendo en promedio 5 cm de largo. Se contabilizaron cinco estambres con anteras amarillas, estos eran de color amarillo-crema y delgados, concordando con lo mencionado por Berry & Kress (1991), quienes también indican que es común la presencia de un estaminodie, que puede funcionar como guía para los polinizadores.

En cuanto a los sépalos, como se observa en la Figura 7a, presentan un color verde, los cuales envuelven a la flor y al abrirse tienden a posicionarse hacia atrás, mientras que los pétalos son amarillos. Iracheta *et al.* (2013) indican que el número de flores puede variar en cada bráctea y que estas permanecen únicamente un día abiertas. En la figura 7b se observa la distribución de las flores dentro de la bráctea.

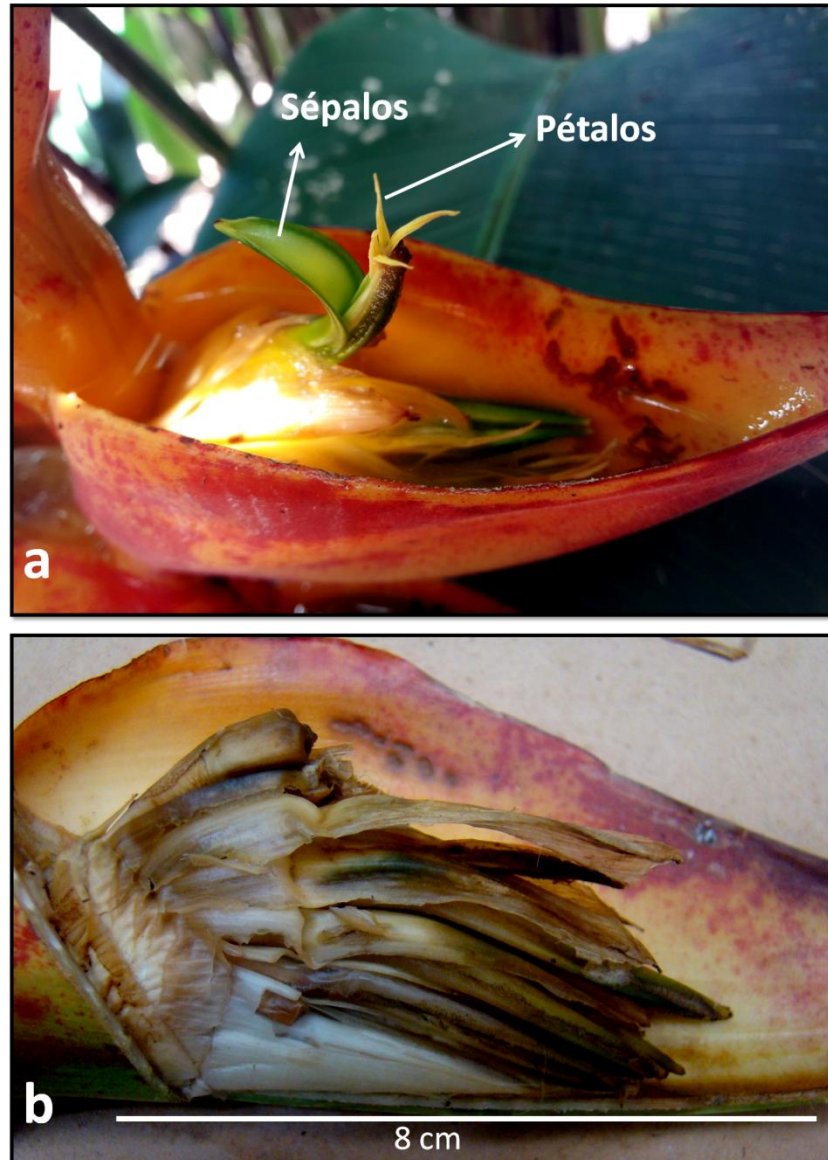


Figura 7. a) Flor de *H. champneiana* cv Splash, indicando sus sépalos y pétalos. b) Distribución de las flores dentro de la bráctea.

Por su parte, los frutos son ovalados y miden en promedio 1,6 cm de largo y 1,2 cm de ancho (Figura 8a). Se pudo observar que en estados inmaduros presenta coloración crema a verde claro y al madurar se tornan azul intenso y brillante, lo cual concuerda con lo descrito por Berry & Kress (1991). Se determinó que pueden tardar hasta 4 meses para alcanzar la madurez fisiológica; sin embargo, Iracheta *et al.* (2013) indican que sería entre 2 a 3 meses.

También se observó que los frutos presentan una maduración escalonada, es decir que no todos los frutos se encuentran en el mismo estado de maduración en la bráctea (Figura 8b), aspecto también mencionado por De Sousa *et al.* (s.f). Al igual que las flores, cada bráctea puede tener un número variable de frutos encontrándose en promedio 15 frutos en una sola bráctea (Figura 8c).

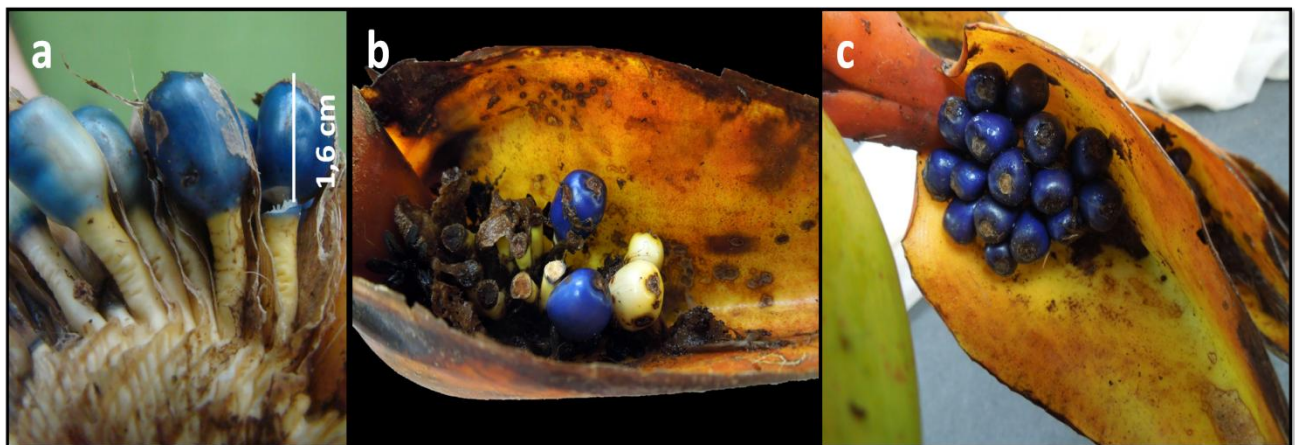


Figura 8. a) Frutos de *H. champneiana* cv Splash; b) Frutos maduros e inmaduros representando una maduración escalonada; c) Producción de frutos por bráctea.

En cada uno de los frutos fue posible observar mayoritariamente tres semillas por fruto, aún así Alarcón y Bernal (2012) indican que es posible encontrar desde 1 a 3 semillas por fruto. Las semillas presentan una testa dura, de color café y miden en promedio 1,2 cm de largo y 0,6 cm de ancho (Figura 9a). Las semillas son rugosas al tacto, alargadas e irregulares, y tienen un opérculo visible (Figura 9b), similar a

lo reportado por Benítez (2010), al describir semillas de diferentes especies de heliconia.

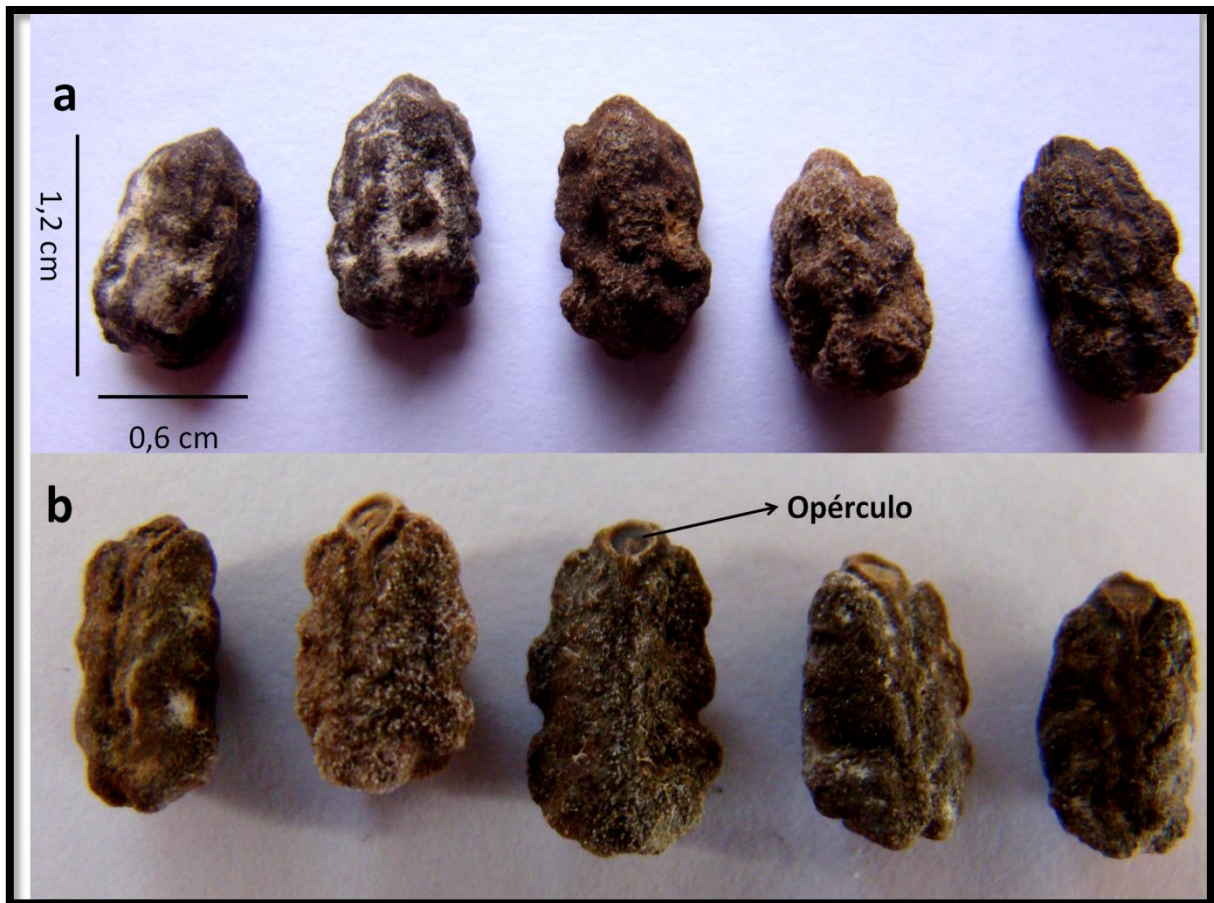


Figura 9. Semillas sexuales de *H. champneiana* cv Splash. a) Parte superior de la semilla, b) Parte inferior de la semilla, indicando el opérculo.

Según las inflorescencias observadas en el presente trabajo, se establecieron tres grados de desarrollo para las inflorescencias. Esto se hizo en base al número de brácteas completamente abiertas.

- Grado 1 o pequeña: inflorescencia iniciando desarrollo y hasta con un máximo de 4 brácteas completamente abiertas.
- Grado 2 o intermedia: inflorescencia que presenta entre 5 y hasta 8 brácteas completamente abiertas.

- Grado 3 o grande: inflorescencias con 9 o más brácteas completamente abiertas (Figura 10).

Lo anterior se realizó con el fin de que se pueda tomar como guía para los productores tanto para el embolsado, como se ampliará a continuación, como en la cosecha. Según Jerez (2007), este proceso se realiza generalmente cuando la inflorescencia presenta entre dos o tres brácteas abiertas, que se podría clasificar como grado 2. Lo que resulta importante según el mercado final, porque las brácteas no continúan abriendo luego de cortadas.



Figura 10. Inflorescencias de *H. champneiana* cv Splash, clasificadas en grado 1, 2 y 3 según el estado de desarrollo relacionado a la cantidad de brácteas completamente abiertas.

5.2. Embolsado de la inflorescencia

Al emplear un sistema de embolsado sobre las inflorescencias *H. champneiana* se pudo observar una influencia significativa sobre la producción de frutos, en comparación con aquellas inflorescencias que no fueron embolsadas, esto sin importar el grado de desarrollo de la misma ($p < 0,0001$) (Cuadro 2). Esto último es importante porque en el campo se encuentran las inflorescencias con diferente grado de desarrollo, lo que incrementa las posibilidades de embolsar más inflorescencias simultáneamente o a través del tiempo, lo que resulta en un aumento de frutos cosechados y por ende de semillas.

En inflorescencias grado 1 embolsadas, se obtuvo un 145% más frutos que en aquellas que no fueron embolsadas, y mismo patrón se presentó en las inflorescencias grado 2, donde el número de frutos fue de 146% más que en aquellas inflorescencias no embolsadas (Figura 11).

Cuadro 2. Resultados de los efectos del embolsado en las inflorescencias sobre la producción de frutos según el grado de desarrollo de estas, y el promedio de frutos reportados por inflorescencia según tratamiento.

Grado de Desarrollo de la Inflorescencia	Embolsado	Promedio de frutos
Grado 1	Sí	256,6 ± 131,2
Grado 1	No	81,3 ± 58,5
Grado 2	Sí	386,1 ± 117,0
Grado 2	No	17,7 ± 17,2

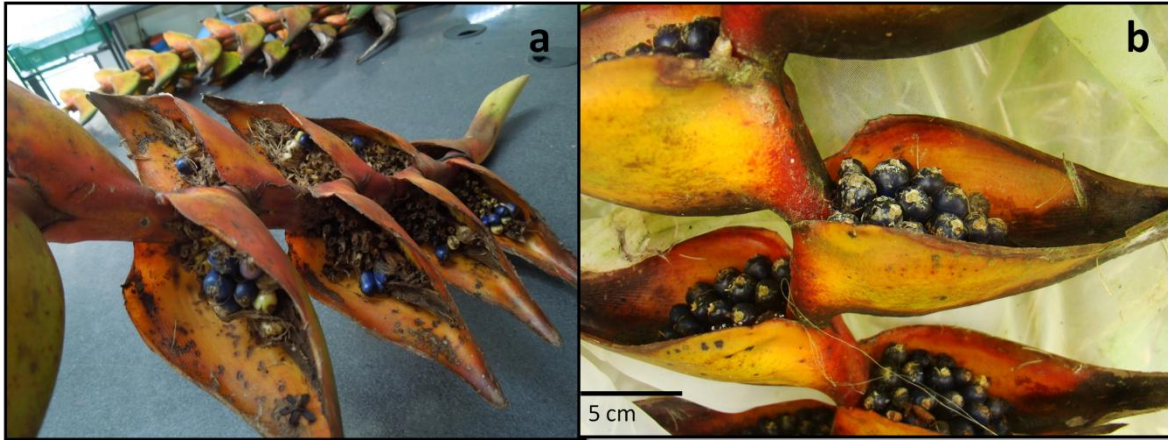


Figura 11. Fructificación de la inflorescencias de *H. champneiana* cv Splash luego de cuatro meses de evaluación. a) Inflorescencia sin embolsar y b) Inflorescencia embolsadas.

Se puede plantear la posibilidad de que esto esté relacionado con la presencia de algunos factores externos que dificultan la obtención de frutos de manera natural. Entre los factores se puede mencionar la depredación, que en este caso el embolsado actuó como barrera física, disminuyendo las posibilidades de acercamiento de los depredadores a los frutos. Esto concuerda con lo informado por Berry & Kress (1991), que la depredación de los frutos puede estar asociado al color azul brillante y lo carnoso que los hace atractivos para animales como aves o roedores. En adición, Castro (1995 citado por Melo 2011) indica que gracias a este mecanismo se favorece la dispersión de las semillas y su posterior germinación, ya que probablemente la testa se quiebra luego de ser digerida, regurgitada y defecada por el depredador.

Otro factor que puede limitar la formación de frutos está asociado a la forma de las brácteas ya que, estas al ser cóncavas tienden a acumular gran cantidad de agua de lluvia, lo que podría favorecer el desarrollo de patógenos en los frutos y semillas afectando su viabilidad, que concuerda con lo mencionado por De Sousa *et al.* (s.f), que un exceso de humedad contribuye a la presencia de organismos patógenos en las brácteas de la inflorescencia. No obstante, en esta investigación

fue posible observar también un desarrollo normal de las flores y apertura de las mismas.

Así mismo, se observó que las inflorescencias a través del tiempo de evaluación (4 meses) presentaron un crecimiento indeterminado y una fructificación escalonada. Este patrón conduce a observar frutos maduros e inmaduros en una misma bráctea o inflorescencia, lo que puede dificultar la recolecta de semilla con un mismo grado de madurez fisiológica.

Este resultado contrasta enormemente con lo reportado para otras especies en otras investigaciones, tal es el caso de Bruna *et al.* (2004), quienes reportaron que para *H. acuminata* la producción de frutos tuvo un valor medio de $0,30 \pm 0,24$ frutos por planta y, por lo tanto, la cantidad de semillas también fue baja con una media de 6. De igual manera, Lee *et al.* (1994) para *H. psittacorum* indican valores entre 3 % y 5 %. De Sousa *et al.* (s.f) en *H. bihaí* entre 1 y 2 frutos por inflorescencia y Correa (2011) para *H. spathocircinata* entre 20 a 66 frutos por inflorescencia. Entre los factores indicados por estos autores, que atentan con la formación de frutos son: las pocas visitas de polinizadores, limitación de nutrientes a la planta, aborto selectivo de frutos o a la mala germinación del polen en los estigmas.

Por otra parte, se observó que el crecimiento de la inflorescencia no se vio afectado por el confinamiento con el embolsado ($p > 0,5284$) (Anexo 3). Así entonces, se puede decir que el embolsado no influye sobre el continuo desarrollo de la inflorescencia. Esto es importante, ya que entre más brácteas tenga una inflorescencia, tendrá la posibilidad de obtener más flores y frutos (Temeles *et al.* 2005).

En cuanto a la apariencia física y sanidad de la inflorescencia, se observó que en ambas condiciones (embolsadas y sin embolsar) se presentaron patógenos y algunos daños mecánicos. Sin embargo, el embolsado favoreció a una mejor apariencia al final de los 4 meses de evaluación (Figura 12a, 12c). Las

inflorescencias no embolsadas mostraron necrosis y presencia de patógenos iniciando desde las puntas hacia el interior de las brácteas (Figura 12 b, 12d).

Esto da una evidencia visual acerca del efecto positivo de embolsar las inflorescencias de *H. champneiana*, tal y como se utiliza en diversos cultivos como banano, guanábana y granada, como un método de control cultural común y en muchos casos es esencial para producir frutos de alta calidad y libre de los daños ocasionados por las plagas (Vargas y Valle 2011).

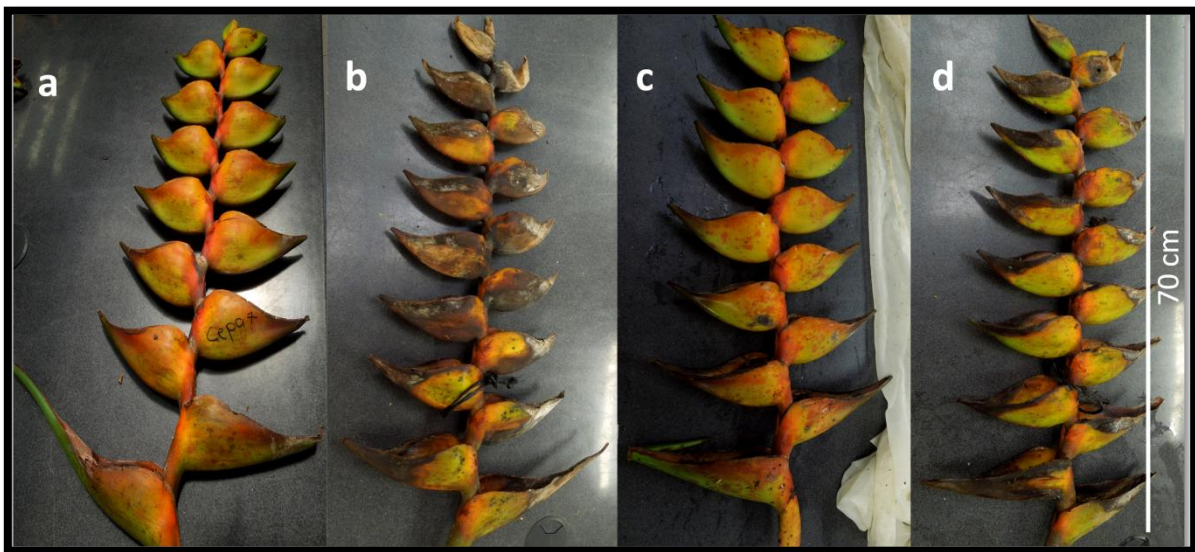


Figura 12. Estado representativo de la Inflorescencia luego de 4 meses de evaluación. a y c) embolsadas grado 2 y 1; b y d) sin embolsar grado 2 y 1 respectivamente.

El material utilizado para la elaboración de la funda o bolsa es determinante, ya que influye sobre la calidad, apariencia poscosecha y transpiración de los frutos Fischer (2000). Referente a esto, se debe tomar en cuenta lo observado en campo y ya mencionado, acerca del llenado de agua de las brácteas, aunque las embolsadas no se encontraron anegadas, si se percibió mucha humedad en ellas (Figura 13 b). Esto es posiblemente ocasionado por el microclima generado asociado con el material de la funda, lo que da pie para considerar realizar nuevas investigaciones en las heliconias, que incluyan otros tipos de material e inclusive de diferentes colores de bolsa, con el fin de mejorar la calidad de las

inflorescencias enfocado a un ámbito comercial. En caso de que se utilice únicamente para la obtención de frutos conviene utilizar, algún material que facilite la transpiración y que no genere excesos de humedad para incrementar la calidad de los frutos.



Figura 13. Inflorescencias de *H. champneiana* cv Splash: a) residuos florales; b) humedad en las brácteas; c) restos de material vegetal; d) presencia de patógenos.

Se puede observar que dentro de algunas brácteas se presentaron residuos de otras flores cuando estas no se embolsaron (Figura 13a). Así mismo, se observaron también residuos florales cubriendo los frutos (Figura 13c), lo que puede resultar como consecuencia de la forma de las brácteas que favorece el acumulo de materiales y esto puede también favorecer la presencia de patógenos en los frutos, por el material en descomposición y la humedad generada en las brácteas (Figura 13d).

Otro factor a considerar es el relativo al mecanismo de polinización que ocurre en los diferentes tipos de heliconia. En este sentido, Kress (1983) indica luego de estudiar la auto-incompatibilidad de 19 especies de heliconia en Costa Rica, que estas presentan una respuesta muy variable entre las especies, obteniendo desde un rechazo total a la autopolinización hasta la total autocompatibilidad en la mayoría de las especies estudiadas. Esto coincide con Berry & Kress (1991) quienes indican que la mayoría de las heliconias son autocompatibles.

En el caso de *H. champneiana* cv Splash no se conoce con exactitud el tipo de polinización que emplea; sin embargo, con lo observado y de acuerdo a la afirmación de que la mayoría de las heliconias son autocompatibles, se podría decir que esta especie sigue ese patrón de polinización. En este trabajo se observó la formación de frutos en inflorescencias embolsadas, lo que hace pensar que al crear una barrera física que limitó el acercamiento de polinizadores naturales (colibríes) que efectuaran la transferencia de polen de una flor a otra, se dio una mayor producción de frutos, lo que haría suponer que el embolsado es una vía para favorecer la autopolinización para esta especie de heliconia.

El uso de una barrera física, como una bolsa, para estudiar a fondo características propias de la reproducción, es de uso común en muchos cultivos, tal como lo hicieron Nuñez y Rojas (2008), al aislar plantas de *Oenocarpus bataua* con malla sintética luego de realizar polinizaciones controladas, con el fin de determinar el tipo de sistema reproductivo predominante.

Cabe destacar que aunque la inflorescencia se encontraba embolsada, algunos insectos tienen la posibilidad de ingresar y ser mediante estos que se dé la transferencia de polen a través de sus patas. Esto porque durante la investigación se encontró gran cantidad de hormigas y escarabajos dentro de las brácteas.

También surge la posibilidad de que se presente otro fenómeno como la apomixis, donde se da la producción de semillas sin que ocurra fecundación, es decir una reproducción asexual donde la se mantienen las características genéticas de la planta madre (Pessino *et al.* 2008) sin embargo, es claro e importante hacer

énfasis en que se necesitan más estudios que comprueben de una manera más concreta que esta especie realiza esta forma de polinización o que sea una manera alterna de polinización ante circunstancias particulares como que, el cultivo se encuentre en un lugar no habitual, lejos de los polinizadores y es por esto que no logran producir semillas (Berry & Kress 1991).

5.3. Efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento sobre la semilla de *Heliconia champneiana*

De las 45 posibles combinaciones de tratamientos que relacionan el tiempo y temperatura de almacenamiento, 16 presentaron razones de ventaja significativa. La razón de ventaja de germinación mayor a 1, significa que el tratamiento 1 tiene ventaja sobre el tratamiento 2 (Cuadro 3).

Las semillas almacenadas durante 2 meses a 25 °C, tienen la mayor razón de ventaja de germinación en comparación a los demás tratamientos. Es decir, que en esas condiciones de almacenamiento por cada 60,3 semillas germinadas, lo hace 1 si se almacena durante 6 meses a 25 °C. Mientras que cuando se almacenaron las semillas de *H. champneiana* por 6 meses a 25 °C, se obtuvo una menor razón de ventaja de germinadas en comparación con todos los demás tratamientos.

Así mismo, algunos tratamientos presentaron una razón de ventaja significativa pero su efecto no se observó tan fuerte, este es el caso cuando la semilla se almacenó durante 2, 4 y 6 meses a 15 °C, en comparación a aquellas almacenadas por 4 meses a 25 °C. También, se observa que es mejor utilizar semilla fresca o con 2 meses de almacenamiento a 15 °C, que las almacenadas por 4 meses a 25 °C, al tener una razón de ventaja de 2,6 y 3, respectivamente sobre el segundo. Finalmente, la semilla almacenada por 2 meses a 25 °C, tiene razón de ventaja sobre aquellas almacenadas por 4 y 6 meses a 5 °C (Cuadro 3).

Cuadro 3. Razones de ventaja entre los tratamientos evaluados y que presentaron una significancia positiva.

Tratamiento 1 vrs. Tratamiento 2	Razón de Ventaja	Probabilidad
0 Meses a 25°C x 4 Meses a 25°C	2,69	0,01*
0 Meses a 25°C x 6 Meses a 25°C	42,47	<,0001*
2 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	27,56	<,0001*
2 Meses a 15°C x 4 Meses a 25°C	3,00	0,004*
2 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	47,25	<,0001*
2 Meses a 25°C x 4 Meses a 5°C	2,52	0,033*
2 Meses a 25°C x 4 Meses a 25°C	3,83	0,001*
2 Meses a 25°C x 6 Meses a 5°C	2,52	0,033*
2 Meses a 25°C x 6 Meses a 25°C	60,37	<,0001*
4 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	23,91	<,0001*
4 Meses a 15°C x 4 Meses a 25°C	2,69	0,01*
4 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	42,47	<,0001*
4 Meses a 25°C x 6 Meses a 25°C	15,75	<,0001*
6 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	23,91	<,0001*
6 Meses a 15°C x 4 Meses a 25°C	2,69	0,01*
6 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	42,47	<,0001*

* Diferencia significativa

Este comportamiento observado puede atribuirse a lo mencionado por Farrant *et al.* (1988 citado por González y Fischer 1989), en donde ante un almacenamiento a temperatura ambiente, algunos procesos metabólicos permanecen activos, como el caso de la respiración. Proceso que requiere de agua adicional para continuar y ocasiona una rápida pérdida de viabilidad de la semilla. Mientras que con una baja temperatura, el metabolismo de la semilla disminuye, generando una tasa de deterioro más lenta, lo que prolonga la viabilidad de la semilla (Stubsgaard s.f).

Este comportamiento también se ha reportado para otras especies, tal es el caso de la especie tropical *Hyeronima alchorneoides*, en la cual las semillas almacenadas a baja temperatura conservaron una germinación comparable al de las semillas frescas. No obstante, las semillas que se mantuvieron a temperatura

ambiente, presentaron una notable disminución en la germinación (González 1992).

Al observar el porcentaje de germinación acumulada (Cuadro 4), se puede reafirmar el patrón seguido por los tratamientos, al ratificar que el almacenamiento durante 2 meses a 25 °C obtuvo el mayor porcentaje de germinación, con un 92 % contra un 16 % a los 6 meses de almacenamiento a 25 °C, en este caso colocándolo como el tratamiento menos conveniente para las semillas de heliconia.

Cuadro 4. Porcentaje de germinación acumulada de semilla de *H. champneiana* almacenada a 5 °C, 15 °C y 25 °C durante 2, 4 y 6 meses.

Tiempo de Almacenamiento	Temperatura de Almacenamiento	% Germinación Acumulada
0 Meses	25°C	89
2 Meses	5°C	84
2 Meses	15°C	90
2 Meses	25°C	92
4 Meses	5°C	82
4 Meses	15°C	89
4 Meses	25°C	75
6 Meses	5°C	82
6 Meses	15°C	89
6 Meses	25°C	16

Con respecto a esto, la baja germinación de la semilla de heliconia es quizás el mayor problema que impide la propagación masiva de esta especie (Iracheta *et al.* 2013). Sin embargo, los porcentajes de germinación obtenidos en este estudio se consideran altos, exceptuando aquellas donde la semilla se almacenó por 6 meses a 25 °C. Esto concuerda con lo obtenido por Ortiz (2010), quien luego de 6 meses de almacenamiento obtuvo en *H. latispatha* una germinación del 7,5 %, y al

observar la primera plántula dos meses después de establecido el ensayo, demostró que luego de un periodo de almacenamiento a temperaturas elevadas, la semilla pierde viabilidad.

Es por esto que conocer los requerimientos en cuanto al tiempo adecuado y la tolerancia a temperatura y humedad de conservación que tiene la semilla, es importante para el éxito del almacenamiento. Herrera y Alizaga (2009) mencionan que estos requerimientos pueden variar según la especie e inclusive entre variedades, por lo que es importante determinar qué condiciones son las óptimas en cada caso particular.

El almacenamiento es una de las principales etapas dentro del manejo poscosecha de cualquier semilla, aparte de lo ya mencionado, realizarlo de la manera correcta, brinda la posibilidad de mantener la viabilidad y el vigor de las semillas, así como la disponibilidad de semilla en el tiempo (Gálvez 2012). También puede resultar importante en el caso de las heliconias; para incrementar la cantidad de semillas germinadas. En la literatura se menciona que tras un período de posmaduración se garantiza la ruptura de la latencia y maduración del embrión, ya que es frecuente que los embriones presenten períodos de maduración más lentos que los frutos, por lo que un almacenamiento en condiciones óptimas podría permitir que los embriones alcancen su desarrollo pleno (Castro 1995 citado por Melo 2011; Kress y Roesel 1987 citados por Benítez 2010).

Respecto a lo anterior, Kress y Roese (1987 citado por Criley y Broschat 1992), hacen referencia a que mantener almacenadas las semillas de *H. stricta* "Dwarf Jamaican" durante 2 semanas antes de la siembra. Esto dio lugar a una mayor velocidad y porcentaje de germinación, en comparación a aquellas sembradas inmediatamente. Sin embargo, en un experimento similar con la *H. aurantiaca*, no se observaron diferencias en la germinación entre las semillas almacenadas por 2 semanas o aquellas sembradas frescas. También Benítez (2010) menciona que el almacenamiento aumentó el porcentaje de germinación en 3 de las 4 especies

estudiadas, luego de sembrarlas en condiciones *in vitro* e indica además que un método para una especie no siempre resulta eficiente para otra.

Por otra parte, en cuanto a la determinación del contenido de humedad en la semilla, se obtuvo diferencias significativas entre las dos metodologías (Anexo 2), esto porque al emplear la metodología a “baja temperatura”, se determinó en promedio un 10,85 % de humedad, mientras que a “alta temperatura” se obtuvo 10,51 %, lo que podría estar relacionado a la temperatura y el tiempo de secado empleado. Como menciona Moreno (1984), al emplear métodos que remueven el agua como el secado en estufa (horno), el agua de absorción se elimina fácilmente considerándose como agua libre; sin embargo, cabe la posibilidad de remover una parte del agua de composición, lo que puede dar respuesta a la leve diferencia entre metodologías. Siendo así, es recomendable aplicar la metodología “alta temperatura”, que además puede resultar en un beneficio en cuanto al tiempo, así como a los costos en que se deben dedicar a esta determinación.

El contenido de humedad de 10% reportado se puede considerar bajo al compararlo con otras especies tropicales como *Hieronima alchorneoides*, *Virola koschnyi* y *Vochysia guatemalensis*, que presentan humedades iniciales en semilla entre 44 y 54 % (González y Fischer 1989). Es importante recordar que en la mayoría de las especies, las semillas y los frutos se deshidratan en forma natural en la maduración y diseminación. La humedad baja 30 % en la planta y durante la cosecha la semilla se seca aún más, hasta alcanzar un contenido de humedad en equilibrio con el ambiente, esto puede resultar acorde a lo reportado en semillas de girasol, maní y azafrán, que a humedades relativas entre 80 a 90 %, el contenido de humedad en semillas se encuentra en 8 % a 12 % (Moreno 1984; Ortiz 2010).

Así mismo, Ortiz (2010) destaca que cuando las semillas se secan a menos de 30-50 %, pierden rápidamente la capacidad de germinar al entrar en un período de latencia. Por esto, para que se dé la activación del metabolismo y disminuir los problemas de germinación, es indispensable la hidratación de las semillas, quedando en evidencia que un proceso de imbibición como el realizado a las

semillas de *H. champneiana* cv Splash, puede resultar clave para obtener porcentajes altos de germinación como los reportados.

Como se ha mencionado, la temperatura, el tiempo y la humedad tienen un papel determinante en el almacenamiento y es gracias a estos parámetros que las semillas se clasifican en ortodoxas y recalcitrantes. Es común que las semillas de plantas tropicales se comporten y se describan como recalcitrantes, es decir que tienen una vida corta y su almacenamiento sólo se puede dar si el contenido de humedad es relativamente alto, rondando entre 40 a 60 % de humedad al momento de la cosecha y que estas mueren si su contenido de humedad es menor al 20%, mientras que en el caso de las ortodoxas ese contenido ronda entre un 9 a 25 % (Jara 1996).

Basra (1995 citado por Herrera *et al.* 2006), menciona que la mayoría de las semillas recalcitrantes se originan en el bosque tropical húmedo, porque reúne las condiciones de alta temperatura y humedad relativa que son necesarias para el desarrollo y mantenimiento de las especies, asegurando que no es de extrañar que no toleren las bajas temperaturas. En el caso de las heliconias, no son la excepción. Vázquez y Toledo (1989 citado por Ortiz 2010), las catalogan como semillas recalcitrantes. En muchos casos se presentan excepciones entre semillas tropicales, tal es el caso de la semilla de *Hyeronima alchorneoides* que a pesar de ser una planta tropical, tolera humedades inferiores al 10 % sin perder la viabilidad y almacenadas a bajas temperaturas por hasta 6 meses (González y Fischer 1989).

De acuerdo a los resultados aportados en esta investigación con respecto al tiempo y la temperatura de almacenamiento de las semillas de *H. champneiana*, donde la germinación se mantuvo con valores altos e inclusive iguales a la semilla fresca, luego de un período de almacenamiento y temperatura baja, y contemplando también el contenido de humedad inicial, se podría decir que esta especie pareciera presentar un comportamiento similar al catalogado como ortodoxo.

Sin embargo, se debe realizar más estudios minuciosos para determinar con una mayor exactitud dicho comportamiento o en qué categoría de conservación ortodoxa se ubicaría, extendiendo el tiempo de almacenamiento y determinando las humedades a través del tiempo (Bonner *et al.* 1994).

Entre las variables evaluadas también se encuentra la clasificación de las plántulas como normales (Figura 14) y anormales (Figura 15). La cantidad de plántulas normales siempre fue superior a las plántulas anormales, a excepción de las semillas almacenadas por 6 meses a 25 °C, en donde de las plántulas obtenidas, la mayoría fueron anormales.



Figura 14. Plántulas normales de *H. champneiana* cv Splash.



Figura 15. Plántulas anormales de *H. champneiana* cv Splash.

Se presentó un aumento de las plántulas anormales a partir de los 4 meses de almacenamiento a los 5 °C y 15 °C, mientras que a 25 °C después de 2 meses de almacenamiento se reportaron plántulas en esta condición manteniéndose constante hasta los 6 meses (Figura 16).

Esto podría estar relacionado al proceso de deterioro que sufre la semilla, que ocasiona cambios perjudiciales con el paso del tiempo, causando daños en los sistemas vitales y disminuyendo la capacidad de desempeño de las semillas (Aristizábal y Álvarez 2006). Stubsgaard (s.f.) y Popinigis (1985) concuerdan en que el deterioro incrementa la eventualidad de tener plantas anormales, así como una germinación y crecimiento de la plántula más lento y lo que reduce el potencial de almacenamiento.

Aunque las plántulas anormales se presentó en todos los tratamientos, fue en las semillas almacenadas a temperatura ambiente donde se reportó el mayor porcentaje (11 %) alcanzando al cumplir 6 meses de almacenamiento (Figura 16).

Esto puede asociarse a que a bajas temperaturas ocurre un metabolismo más lento, por lo que también se disminuye la velocidad de deterioro (Doria 2010), haciendo esta condición levemente menor. Lo anterior concuerda con Pérez *et al.* (2013) quienes reportan un mayor número de plántulas anormales, semillas muertas y contaminadas, a un mayor tiempo de almacenamiento.

También Benítez (2010) observó que luego de un período de almacenamiento se da el consumo de las reservas de la semilla y los embriones presentan diferentes grados de deterioro, atribuibles a variación genética en sus respuestas a los procesos de estrés abiótico relacionados con su almacenamiento y que el daño observado varía según la especie de heliconia.

Es importante conocer la cantidad de plántulas anormales, ya que al no presentar alguna estructura esencial, no son aptas para establecerse en campo. Así mismo, plántulas desproporcionadas pueden presentar un atraso en su desarrollo y una menor producción y rendimiento (Sullivan y Perry 1976), lo que se debe tomar en cuenta al momento del establecimiento del cultivo.

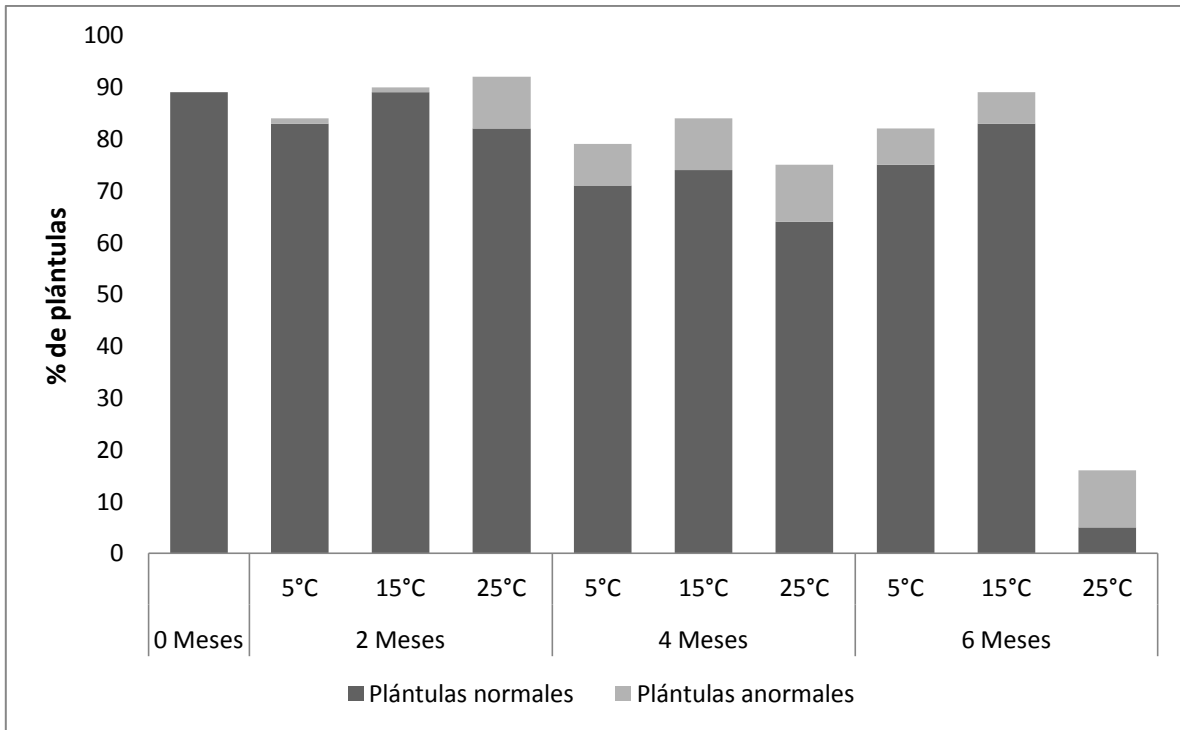


Figura 16. Porcentaje de plántulas normales y anormales registradas después del almacenamiento de las semillas de *H. champneiana* cv Splash.

Se consideró también la cantidad de semillas viables al finalizar el período de evaluación (8 semanas), para cada tiempo de almacenamiento (Figura 17). En general, la cantidad de semillas viables fue reducida. A 5 °C la cantidad tendió a disminuir con el tiempo, mientras que a 15 °C se mantuvo constante con alrededor de 2 % de las semillas y para aquellas semillas que se encontraban a 25 °C, la cantidad de semillas viables se incrementó levemente con el tiempo.

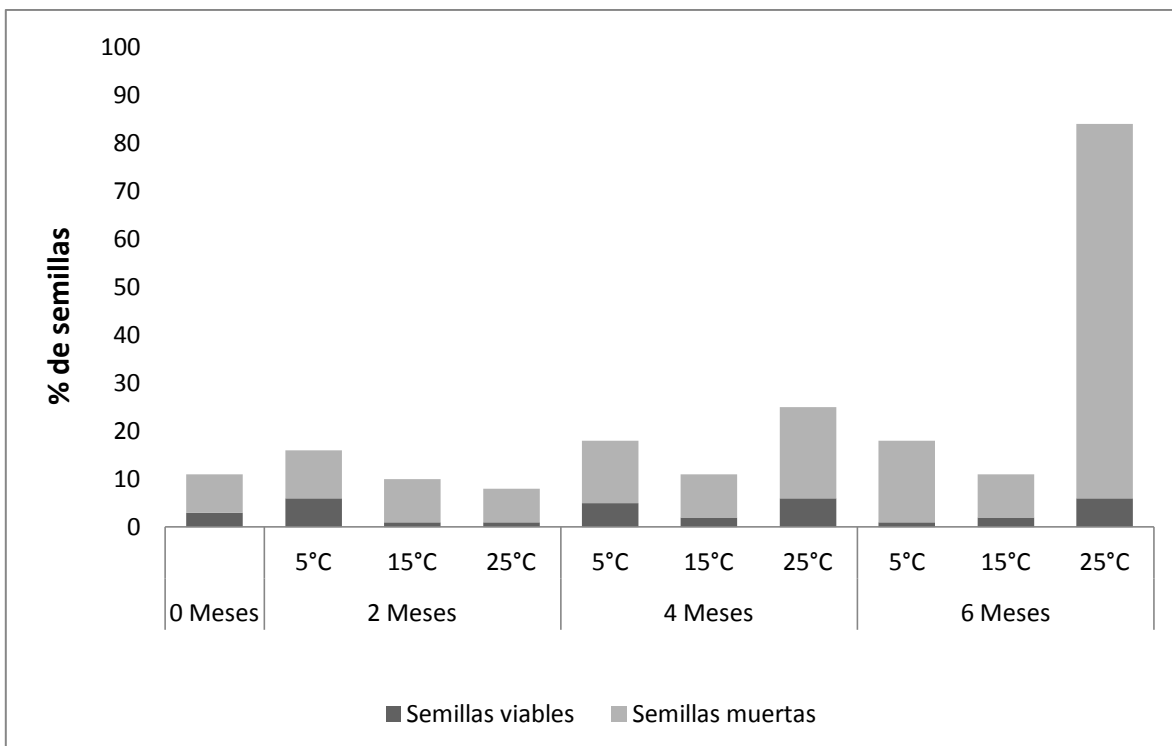


Figura 17. Porcentaje de semillas de *H. champneiana* cv Splash no germinadas después del periodo de evaluación, catalogadas como semillas viables o muertas.

La presencia de semillas que no germinan, a pesar de presentarse todas las condiciones adecuadas para esto, se puede deber a la presencia de un estado de latencia de las semillas, que tiene que ver, como se mencionó anteriormente, con el estado de desarrollo del embrión, la presencia de inhibidores de germinación o por la testa dura (Kamel *et al.* 1975 citado por Iracheta *et al.* 2013).

En la figura 17 se observa que, durante el almacenamiento a 25 °C presentaron un incremento en semillas muertas principalmente por la presencia de patógenos (Figura 18), alcanzando hasta un 78 % de las semillas a los 6 meses de almacenamiento. El mismo comportamiento ocurrió en aquellas almacenadas a 5 °C con un 17 % de mortalidad después de 6 meses. Por su parte, a 15 °C el comportamiento fue constante de 9 % a lo largo de los 6 meses de almacenamiento. Estos valores están relacionados con otra variable evaluada; las

semillas que no germinaron, por lo que al disminuir un valor en caso de las semillas viables, aumentó la cantidad de semillas muertas.

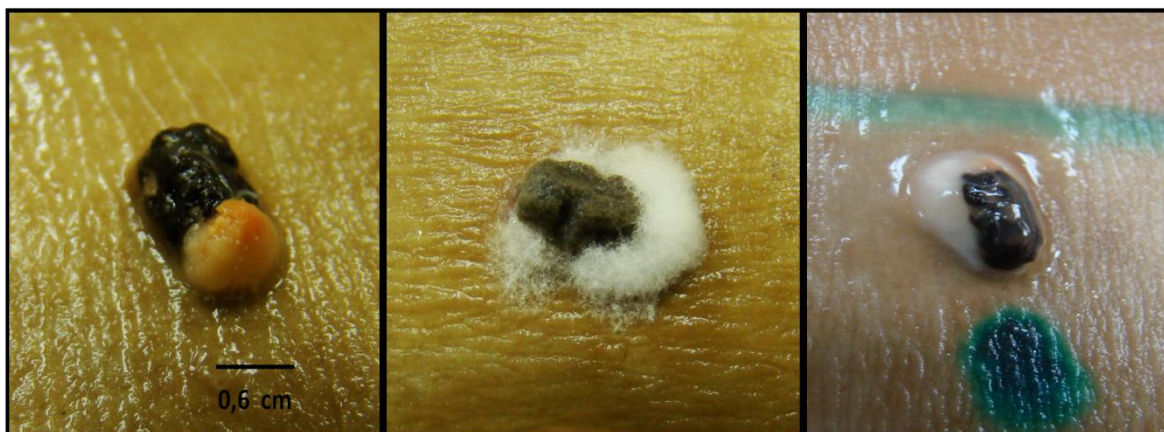


Figura 18. Semillas muertas con presencia de patógenos.

La tendencia fue ascendente a través del tiempo en todos los tratamientos, encontrándose la mayor cantidad de semillas con presencia de patógenos a los 6 meses y un promedio máximo de 8,7 semillas contaminadas en el tratamiento a 25°C. En este sentido, Benítez (2010) indica que es común encontrar la presencia de patógenos durante el proceso de germinación y logró identificar cinco hongos fitopatógenos en las semillas: *Aspergillus* sp, *Fusarium*, *Murcor*, *Nigrospora* y *Pythium*.

Además, es importante destacar que una semilla expuesta a una alta temperatura de almacenamiento, tiende a recalentarse como consecuencia de la alta actividad metabólica que presenta y es por esto que se da el crecimiento de microorganismos como hongos que generan un rápido deterioro de la semilla. Esto no se da con tanta rapidez en las semillas almacenadas a bajas temperaturas porque la tasa de respiración es muy reducida (Herrera *et al.* 2006).

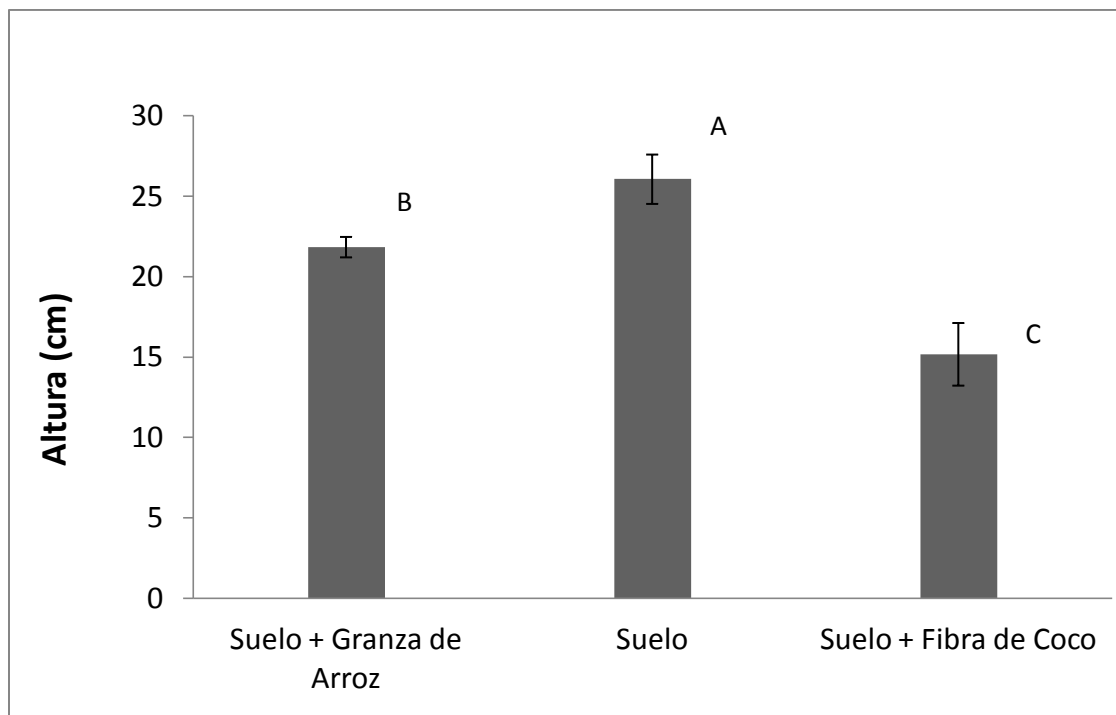
No se reportaron problemas con insectos, en ninguno de sus estadios. Lo que puede estar asociado con el hecho de que a temperaturas bajas (10 °C) los insectos cesan su actividad y si esas temperaturas se mantienen, los insectos mueren. A pesar de que las temperaturas entre 20 °C a 30 °C resultan ser óptimas

para el desarrollo de insectos (Moreno 1984), tampoco se encontraron en las semillas almacenadas a temperatura ambiente. Lo anterior, posiblemente se debe a que estas se encontraban en bolsa plástica cerrada, sumado a la buena calidad y sanidad de los frutos de donde se extrajeron.

Se puede decir que las semillas de *H. champneiana* cv. Splash se logran almacenar adecuadamente y mantener altos valores de germinación con plántulas normales durante 2 meses a una temperatura ambiente de 25 °C. A pesar de que a las temperaturas bajas empleadas, los porcentajes de germinación se mantuvieron por arriba de 70 % hasta los 6 meses de almacenamiento, se presentó un aumento de plántulas anormales (entre 7 a 10 %). También se puede considerar adecuado, si se desea almacenar por más de 2 meses las semillas, hacerlo a una temperatura de 15 °C para obtener un mayor porcentaje de plántulas normales y menor cantidad de semillas muertas.

5.4. Almacigos de *H. champneiana* cv. Splash

En la figura 19, se muestra la altura promedio alcanzada por las plantas según los distintos sustratos evaluados. La menor altura se consiguió al mezclar suelo + fibra de coco (SFC) con $15,2 \pm 1,9$ cm, seguido por suelo + granza de arroz (SGA) con $21,8 \pm 0,63$ cm y la mayor altura fue en suelo (S) con $26,1 \pm 1,5$ cm, mostrando diferencias estadísticas.



*Medidas con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Figura 19. Altura promedio alcanzada por las plantas de *H. champneiana* cv. Splash, en diferentes sustratos.

Como se aprecia en la figura 19, es evidente que hubo una influencia significativa del tipo sustrato sobre la altura de la planta. Esto se puede relacionar con lo indicado por Carrijo *et al.* (2002) y El-Naggar y El Nasharty (2009), en donde al tener únicamente suelo como medio, se brinda mayor disponibilidad de nutrientes y en formas fácilmente asimilables para las plantas, en comparación con los sustratos SFC y SGA, donde se utilizó la mitad de cantidad de suelo, en mezcla con materias primas consideradas inertes, dependiendo más del suministro de fuentes nutricionales externas.

Otra característica fue la acidez presente en los sustratos (Anexo 4), que puede afectar el crecimiento de las plantas, al influir sobre la disponibilidad de nutrientes, acumulo de sustancias tóxicas y reducción de la actividad microbiana (De Sousa 2009). Ortiz (2010) indica que a las heliconias se les puede encontrar mayoritariamente en suelos con pH ácido a neutro y con propiedades arcillosas, lo

que concuerda con lo reportado por Castro (1995 citado por De Sousa 2009), sobre la tolerancia de la *H. psittacorum* cv. Golden Torch a suelos ácidos, al no influir en altura y número de hojas desarrolladas ante un encalado. Esto puede indicar que el establecimiento de almácigos bajo estas condiciones no tiende a ser limitante para este cultivo.

Aunque la fibra de coco y la granza de arroz son materiales utilizados en la producción de almácigos de hortalizas, forestales y ornamentales, por características como el alto potencial de retención de humedad y la porosidad, que son indispensables para el crecimiento de las raíces y desarrollo de las plantas (Rosa *et al.* 2001; Terra *et al.* 2011), en este caso, no brindaron las condiciones para el buen desarrollo de las plantas, en comparación a las que se mantuvieron con el suelo.

El sustrato SFC presentó poca firmeza, se desintegraba con facilidad al manipularlo, tenía la presencia de muchas partículas segregadas y sueltas, aspecto que pudo haber influido en el pobre sistema radical observado, contrario a S y SGA que presentaron un sustrato con consistencia más firme y uniforme y un desarrollo radical abundante.

Así mismo, el sustrato SFC presentaba exceso de humedad posiblemente debido a una retención elevada (Anexo 5), por las características de los materiales utilizados, lo que ocasionaría la ausencia de oxígeno, en el medio por lo que las raíces se volvieron cortas, más gruesas, oscuras y con pocos pelos absorbentes. Eso también provoca la lixiviación de nutrientes y compromete el desarrollo de las plantas (Sturion 1981).

Un aspecto que se debería considerar sobre las mezclas de sustratos, es la proporción de cada materia prima empleada. Esto porque Quesada (2004) observó que los almácigos sembrados con una proporción mayor al 50% de fibra de coco, presentan una reducción del desarrollo de la planta, comparados con otros almácigos. Dichas reducciones son atribuidas a una fuerte inmovilización de

nitrógeno por actividad de microorganismos y una alta relación C/N con lo que sería conveniente el estudio de estas materias primas en otras proporciones.

En cuanto al número de hojas, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0,5007$), lo que indica que los sustratos no tuvieron una influencia sobre el desarrollo de la cantidad de hojas. En promedio se reportaron 3,3 hojas desarrolladas por planta, después de 6 meses de evaluación en cada tratamiento. De acuerdo a esto, todas las plántulas se encontraban en una etapa prioritaria que es la formación de nuevas hojas, que les permite incrementar la actividad fotosintética (Negreros *et al.* 2010).

Se puede decir que el crecimiento y cantidad de hojas obtenidas en los almácigos de heliconia en suelo, son comparables a lo reportado para almácigos de banano provenientes de rizomas, donde Coto (2009) indica que con esas condiciones de desarrollo (dos pares de hojas y 30 cm de altura), las plantas están listas para el establecimiento en campo. Sin embargo, el mismo autor establece un período entre 6 a 8 semanas para que las plantas alcancen ese desarrollo óptimo. Los almácigos de heliconia requirieron alrededor de 24 semanas, lo que confirma lo mencionado por Montgomery (1986 citado por Alarcón y Bernal 2012), que la propagación de heliconia por semilla sexual ocasiona un crecimiento lento de las plántulas.

También se debe considerar si las plantas luego de un tiempo tan prolongado disminuyeron el crecimiento normal, al verse limitado el espacio dentro de las bolsas lo que dificulta la continua expansión de las raíces para la obtención de nutrientes. Esto en el corto plazo puede afectar el crecimiento de las hojas y la elongación del tallo, como efecto de la falta de nitrógeno o de otros macronutrientes (Salamanca y Sadeghian 2008), por lo que posiblemente este aspecto también se relacione a la leve clorosis observada en todas las plantas y asociada principalmente a deficiencia de nitrógeno. Esta deficiencia es la más frecuente en este cultivo y se manifiesta con amarillamiento general en las hojas y en la disminución del crecimiento (Broschat y Donselman 1983 citado por Jerez 2007; Castro *et al.* 2007).

Algunas investigaciones como la de Beckmann *et al.* (2011), quienes estudiaron sustratos alternativos para el establecimiento de plántulas de *H. psittacorum*, al evaluar variables como altura, número de hojas y desarrollo de tallos, obtuvieron que los sustratos influyeron directamente en la mayoría de las variables. Cuando se utilizó únicamente suelo obtuvieron los valores más bajos en altura con una diferencia cercana al 80% si se compara con el mejor tratamiento (composta de los tallos de *Mauritia vinifera*, Mart), al igual que en la variable del número de hojas, mostrando un comportamiento inverso al obtenido en *H. champneiana*, lo que muestra los diferentes comportamientos de las especies.

En ensayos similares, Santos *et al.* (2006) evaluaron sustratos en la aclimatación de plantas de *H. bihai* regeneradas *in vitro*, obteniendo los mayores resultados en altura, diámetro del tallo, número de hojas y área foliar, en el sustrato combinando cascarillas de arroz carbonizadas con humos de lombriz y los menores en el sustrato de fibra de coco y abono natural (Vitasolo ®). Similar comportamiento se presentó en este estudio en cuanto al uso de fibra de coco.

Es importante tener en cuenta que las propiedades físicas particulares de las materias primas al ser utilizadas en mezclas de sustratos, ya que pueden variar originando propiedades muy diferentes, en especial cuando existen diferencias en el tamaño de las partículas. Esto ocasiona sustratos con características diferentes en cuanto a la capacidades de aireación y de retención de humedad (Burés 1997 citado por Pire y Pereira 2003), lo que pudo haber influido en los resultados obtenidos con respecto al uso de fibra de coco y granza de arroz.

Por otra parte, en ninguna de las plantas se presentaron brotes laterales, por lo que se considera necesario más tiempo para observar la emisión de brotes. Además como se ha mencionado, el desarrollo tiende a ser un poco más lento al emplear semilla sexual como vía de reproducción, en contraste con la emisión del primer brote cuando se utilizan rizomas, que según reporta Castro *et al.* (2007) se tarda entre 20- 21 días en observarlo. Esta diferencia posiblemente se debe a que en esa fase inicial, el desarrollo de los brotes se produce por las reservas de los

rizomas, mientras que en el caso de la plántula, va a depender del suministro o disponibilidad de nutrientes.

Se obtuvo un 100% de sobrevivencia, aspecto que se puede asociar al enraizamiento previo que se realizó, proporcionando el desarrollo de hojas fotosintéticamente activas y desarrollo de raíces que favorecieron la adaptación (Rocha *et al.* 2009).

Por otra parte no se reportaron plantas enfermas, contrario a lo que Alarcón (2007) reporta, ya que identificó en varias especies de heliconia hongos fitopatógenos, con mayor incidencia *Fusarium*, *Pestalotia*, *Helminthosporium* y *Colletotrichum* en diferentes partes de la planta, pero principalmente en hojas.

Fue posible observar que algunas plantas presentaban en las hojas, manchas translúcidas (Figura 20) que se asociaron a quema por sol, ya que el ensayo se estableció con una sombra de 40%. Rodrigues (2005) indica que un 80% de sombra es el límite máximo para el establecimiento de plantas de *H. bihai*.



Figura 20. Presencia de manchas en las hojas ocasionadas por quema de sol.

Un aspecto a considerar con respecto al uso de suelo como sustrato, es que se dio la presencia de arvenses, en todos los sustratos. Tal como lo menciona Iskander (2002), el suelo puede ser portador de estas semillas, así como de insectos y enfermedades que pueden resultar en inconvenientes en el establecimiento del almácigo, por lo que realizar una desinfección previa del suelo o contemplar la deshierba frecuente, es indispensable.

6. Conclusiones

1. Emplear un sistema de embolsado sobre la inflorescencia es útil para la obtención de frutos de *H. champneiana* cv. Splash y por ende de semilla sexual, al actuar como una barrera física ante factores externos como la depredación, sin afectar el crecimiento de la inflorescencia y brindando una mejor calidad visual de esta.
2. Se pueden embolsar las inflorescencias tanto en grado 1 o 2, ya que la cantidad de frutos va a ser igual de abundante.
3. Se puede decir que esta especie de heliconia presenta autopolinización, al poder producir frutos bajo un sistema de embolsado, donde sus polinizadores naturales no pudieron acercarse a las flores.
4. El almacenamiento de las semillas de *H. champneiana* cv. Splash a temperatura ambiente por un período no mayor a 2 meses, fue el que produjo los mejores resultados en cuanto a semillas germinadas. Luego de 6 meses de almacenamiento ocasiona una pérdida significativa de la viabilidad, incrementando la cantidad de semillas muertas y plántulas anormales.
5. Por la capacidad de mantenerse con una viabilidad alta y con una humedad inicial baja, opuesto a lo esperado para semillas del trópico, se puede decir que las semillas de *H. champneiana* cv. Splash poseen un comportamiento ortodoxo.
6. El suelo como sustrato generó las mejores condiciones para un mayor crecimiento de las plantas de *H. champneiana* cv. Splash.

7. Recomendaciones

1. Se recomienda realizar más investigaciones acerca de otros materiales que se puedan utilizar como fundas para proteger las inflorescencias, que sean de bajo costo, fáciles de adquirir y que permitan una transpiración adecuada a las inflorescencias, así como que no mantengan humedad, para prevenir infecciones o podredumbres de los frutos y de la inflorescencia.
2. El almacenamiento de las semillas de *H. champneiana* cv. Splash por más de 4 meses, se recomienda realizarlo a 15°C y tener en cuenta que bajo estas condiciones la aparición de plántulas anormales se incrementa levemente, por lo que es mejor no exceder ese tiempo de almacenamiento.
3. Se deben realizar los estudios correspondientes a contenidos de humedad en diferentes períodos de almacenamiento, así como extender el tiempo de almacenamiento, para corroborar el comportamiento ortodoxo de las semillas *H. champneiana* cv. Splash.
4. Es recomendable realizar más pruebas con respecto a los sustratos utilizados, como bajar las proporciones de cada materia prima, ya que puede que las heliconias necesiten un sustrato más firme para desarrollar plenamente su sistema radical.
5. Establecer un plan nutricional adecuado según el sustrato que se utilice, así como, de los requerimientos de la heliconia.
6. Contemplar un proceso de solarización al suelo previo al establecimiento de las plantas para eliminar semillas de malezas, patógenos o insectos, considerando esto como un manejo cultural necesario, si se utiliza suelo como sustrato.

8. Literatura Citada

- ALARCÓN, JJ; BERNAL, MO. 2012. El cultivo de heliconia: Medidas para la temporada invernal. Bogotá, Colombia. 36 p.
- AMARAL F., LEMOS N. 2009. El potencial del almacenamiento de cada una de las semillas. Seed News, Brasil. Consultado: 26 de octubre de 2017. Disponible en:http://www.seednews.com.br/html/site_es/content/reportagem_capa/imprimir.php?id=38
- ALVARADO M., SOLANO J. 2002. Producción de sustratos para viveros: Medios o sustratos en la producción de viveros y plantas. Consultado: 05 de octubre de 2017.
Disponible:<http://www.cropprotection.es/documentos/Compostaje/Sustratos-para-Viveros.pdf>
- ARISTOZÁBAL M.,ÁLVAREZ L. 2006. Efectos del deterioro de la semilla sobre el vigor, crecimiento y producción del maíz (*Zea mays*). Revista Agronomía. 14(1): 17-24
- BECKMANN M., AMARAL G., SILVA A., CAVALCANTE I., LIMA M. 2011. Alternative substrates for production of *Heliconia psittacorum* L. seedlings under shade and open field conditions. African Journal of Biotechnology 10(68): 15272-15277.
- BENÍTEZ L., GÓMEZ F., TREJO L., ROBLEDO A. 2010. Estudios anatómicos, fisiológicos y nutrimentales de semillas de Heliconia. Tesis de Maestría. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Texcoco, México. 100 p.
- BERRY F., KRESS J. 1991. Heliconia: An identification guide. Smithsonian Institute, Washington, USA. 337p.
- BRUNA E., KRESS J., MARQUES F., SILVA O. 2004. *Heliconia acuminata* reproductive success is independent of local floral density. Acta Amazonica 34(3): 467-471.
- CARRIJO OA., LIZ RS., MAKISHIMA. 2002. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. Horticultura Brasileira 20(4): 533-535

- CASTRO A., LOGES V., DA COSTA A., CASTO M., ARAGÃO F., WILLADINO L. 2007. Hastes florais de helicônia sob deficiência de macronutrientes. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42(9): 1299-1306.
- COTO, J. 2009. Guía para multiplicación rápida de cormos de plátano y banano. Segunda edición. Federación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). La Lima, Cortés, Honduras.
- CORRÊA C., CASTRO F. 2011. Fenologia reprodutiva, polinização e frutificação de *Heliconia spathocircinata* Aristeg. (Heliconiaceae) em fragmento de Floresta Atlântica do município do Rio de Janeiro. Biotemas 24(3): 13-23.
- CRILEY R., BROCHAT T. 1992. Heliconia: botany and horticulture of new floral crop. Horticultural Reviews Vol. 14: 1-55.
- DE SOUSA S., PEREIRA F., DA SILVA., CARVALHO B., LOGES V. Sf. Coleta de sementes em inflorescências de *Heliconia bihai* após a colheita. Consultado: 02 de octubre de 2017. Disponible en: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/r1006-1.pdf>
- DE SOUSA G., VIÉGAS I., FRAZÃO D. 2009. Crecimento de *Heliconia psittacorum* cv. Golden Torch em função de doses de calcário dolomítico. Revista de Ciências Agrárias 52: 49-59.
- EL-NAGGAR A., EL-NASHARTY A. 2009. Effect of growing media and mineral fertilization on growth, flowering, bulbs productivity and chemical constituents of *Hippeastrum vittatum*, Herb. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 6(3): 360-371.
- DORIA J. 2010. Generalidades sobre las semillas: Su producción, conservación y almacenamiento. Cultivos Tropicales 31(1): 74-85.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1985. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: Manual de capacitación. Roma, Italia. Consultado: 28 de octubre de 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x5037s/x5037S05.htm>
- FISCHER G. 2000. Efectos de las condiciones en precosecha sobre la calidad poscosecha de los frutos. Revista Comalfi 27(1-2): 39-50.

- GALVEZ C. 2012. Almacenamiento y conservación de semillas. Material Vegetal de Reproducción, Manejo, Conservación y Tratamiento. El Salvador. Consultado: 16 de octubre de 2017. Disponible en: http://www.censalud.ues.edu.sv/CDOC-Deployment/documentos/5_ALMACENAMIENTO_Y_CONSERVACION_DE_SEMILLAS.PDF
- GONZÁLEZ, E.; FISHER, RF. 1989. Pruebas de almacenamiento de semillas de especies de árboles tropicales. En *Memorias Del Simposio*. Bib. Orton IICA/CATIE. 329 p.
- GONZÁLEZ E. 1992. Humedad y germinación de semillas de *Hyeronima alchorneoides* (Euphorbiaceae). *Rev. Biol. Trop* 40(1): 139-141.
- GUTIÉRREZ C. 2000. Flora de Veracruz: Heliconiaceae. Instituto de Ecología y Universidad de California. Fascículo 118. México. 35p.
- HAGIWARA J., VILLANOVA I. 2016. Tendencias en el mercado mundial. Economía & Viveros, Argentina. Consultado: 16 de Junio de 2017. Disponible en: http://www.economiayviveros.com.ar/junio2016/actualidad_floricola_4.html
- HERRERA J., ALIZAGA R. 2009. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la germinación de la semilla de dos patrones de cítricos. *Tecnología en Marcha* 22(3): 17-24.
- HERRERA J., LINES K., VÁSQUEZ, W. 2006. Estudio de la germinación y la conservación de semillas de cedro maría (*Calophyllum brasiliense*). *Revista Tecnología en Marcha* 19(1): 61.
- INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2015. VI Censo Nacional Agropecuario: Resultados generales. 1ed. San José, Costa Rica. 146 p.
- IRACHETA L., OLIVERA A., ORTIZ S., LÓPEZ P. 2013. Propagación de heliconias. INIFAP. CIRPAS. Campo Experimental Rosario Izapa. Folleto Técnico No. 30. Tuxtla Chico, Chiapas, México. 29p.
- ISKANDER R. 2002. Manejo de sustratos para la producción de plantas ornamentales en maceta. Department of Horticultural Sciencies, Texas, USA. 9 p.

- JARA, LF. 1996. Biología de semillas forestales. Proyecto de Semillas Forestales. No. 36. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 32 p.
- JEREZ E. 2007. El cultivo de las heliconias. Cultivos Tropicales 28 (1): 29-35.
- JUSTICE O., BASS L. 1978. Principles and practices of seed storage. US Dept. of Agriculture, Science and Education Administration. 295 p.
- KRESS J. 1983. Self-incompatibility in Central American heliconia. Society for the Study of Evolution 37(4): 735-744.
- KRESS J. 1990. The diversity and distribution of heliconia (*Heliconiaceae*) in Brazil. Acta Botanica Brasilica 4(1): 159- 167.
- LEE YH., NG NY., GOH CJ. 1994. Pollen formation and fruit set in some cultivars of *Heliconia psittacorum*. Scientia Horticulturae 60: 167-172.
- LONDOÑO LM. 2014. Caracterización de dos genotipos de heliconias propagadas *in vitro* y estabilidad genética de *H. caribaea* mediante marcadores moleculares AFLP. Tesis de maestría. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia. 83 p.
- MENEGHELLO E. 2014. Calidad de las semillas: humedad y temperatura. Seed News. Brasil. Consultado: 24 de octubre de 2017. Disponible en: http://www.seednews.inf.br/html/site_es/content/reportagem_capa/imprimir.php?id=217
- MELO, AA. 2011. Efeito da aplicação de doses de regulador de crescimento e de períodos de incubação no enraizamento e brotação inicial de rizomas de *Heliconia psittacorum* L.F. x *Heliconia spathocircinata* aristeguieta cv. Alan carle. Tesis. Universidade de Brasília, Brasília, Brasil. 46 p.
- MEEROW 1991. Palm seed germination. Institute of Food and Agricultural Science, University of Florida. 11 p.
- MORENO E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. 383 p.
- NAKANO V. 2008. Micropropagação de espécies de helicônia, caracterização morfológica e identificação molecular de bactérias contaminantes. Tesis de maestría. Universidad de São Paulo, Piracicaba, Brasil. 82 p.

- NATHAN MJ., GOH CJ., KUMAR PP. 1992. *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by Bud Culture. HortScience 27(5): 450-452.
- NEGREROS P., APODACA M., MIZE C. 2010. Efecto de sustrato y densidad en la calidad de plántulas de cedro, caoba y roble. Madera y Bosques 16(2): 7-18.
- NUÑEZ LA., ROJAS R. 2008. Biología reproductiva y ecología de la polinización de la palma milpesos *Oenocarpus bataua* en los Andes Colombianos. Caldasia 30(1): 101-125.
- ORTIZ R., FERNÁNDEZ O. 2000. Cultivo de la palma aceitera. 1 ed. EUNED. San José, Costa Rica. 208 p.
- ORTIZ D. 2010. Germinación de semillas de *Heliconia latispatha* Beth, 1844 en Teocelo, Veracruz. Tesis. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México. 48p.
- OSPINA L., PIÑERO J. 2006. Desarrollo de un modelo productivo de heliconias (Género Zengiberales) para la zona cafetalera de Caldas. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia. 82 p.
- OSPINA J., CUERVO S. 1995. Humedad de equilibrio y calor latente de vaporización del ajonjolí. *Sésamun indicum* L. Ingeniería e Investigación 31: 3-12 p.
- PÉREZ M., LORENZO D., DELGADO M. 2013. Viability in rice obtained from plants developed *in vitro*. Acta Agronómica 62(2): 10-19.
- PESSINO S., ORTIZ J., ECHENIQUE V., GONZÁLEZ A., SEIJO G., QUARIN C. 2008. Apomixis: una herramienta poderosa para el mejoramiento. Revista Agromensajes 26(12). Consultado: 27 de noviembre de 2017. Disponible: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/26/2AM26.htm>
- PIRE R., PEREIRA A. 2003. Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del Estado Lara, Venezuela. Propuesta Metodológica. Bioagro 15(1): 55-64 p.
- POPINIGIS F. 1985, Fisiologia da semente. 2 ed. Brasília, Brasil. 289 p.

- PROCOMER (Promotora Del Comercio Exterior De Costa Rica). 2017. Estadística de Comercio Exterior Costa Rica, 2016. San José, Costa Rica. 249 p.
- QUESADA G. 2004. Caracterización fisicoquímico de materias primas y sustratos y su efecto sobre el desarrollo de plantas de almácigos de hortalizas en ambiente protegido. Tesis de licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 96 p.
- QUESADA G., MÉNDEZ C. 2005. Evaluación de sustratos para almácigos de hortalizas. *Agronomía Mesoamericana* 16(2): 171-183.
- RIBEIRO W., BARBOSA J., COSTA L. 2012. *Helicônias*. Editorial Kiron, Brasília, Brasil. 134p.
- ROCHA E., de CARVALHO A., de AZEVEDO B., MARINHO A., VIANA T., VASCONCELOS D. 2009. Aclimatização de mudas micropropagadas de helicônia em ambiente protegido em função do tipo de substrato. *Ciências Agrotec.* 33(6): 1457-1462.
- RODRIGUES PH., LIMA AM., AMBROSANO GM., DUTRA MD. 2005. Acclimatization of micropropagated *Heliconia bihai* (Heliconiaceae) plants. *Scientia Agricola* 63(3): 299-301.
- ROSA M., DE ABREU F., FURTADO A., BRÍGIDO A., NORÕES E. 2001. Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde. *Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)* 4 p.
- SALAMANCA A., SADEGHIAN. 2008. Almácigos de café con distintas proporciones de lombrinaza en suelos con diferente contenido de materia orgánica. *Cenicafé* 59(2): 91-102.
- SANTOS B., LOMBERA R., BENITEZ J. 2009. New records of *Heliconia* (Heliconiaceae) for the region of Chajul, Southern Mexico, and their potential use in biodiversity-friendly cropping systems. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80 (3): 857-860.
- SANTOS M., TIMBÓ A., CARVALHO A., MORAIS J. 2006. Estudo de adubos e sustratos orgânicos no desenvolvimento de mudas micropropagadas de helicônia. *Horticultura Brasileira* 24: 273-278.

- SIMÃO, DG; SCATENA, VL. 2003. Morphological aspects of the propagation in *Heliconia velloziana* L. Emlygd. (Zingiberales: Heliconiaceae). Brazilian archives of biology and technology, an international journal 46 (1): 65-72 p.
- SOSA F. 2013. Cultivo del género heliconia. Cultivos Tropicales 34(1):24-32.
- SOSA F M., SOTO R., MACHADO P., HERNÁNDEZ R. 2008. Propagación *in vitro* de *Heliconia standley* Macbride. Biotecnología Vegetal 8 (1): 43-50.
- STUBSGAARD, F. Sin año de publicación. Almacenamiento semillas. Consultado: 4 de mayo de 2017. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A0013s/a0013s05.pdf>
- STURION JA. 1981. Métodos de produção e técnicas de manejo que influenciam o padrão de qualidade de mudas de essências florestais. EMBRAPA/URPFCS. Curitiba, Brasil. 22 p.
- SULLIVAN G., PERRY A. 1976. Rendimiento de campo comparativo de las plantas que se desarrollan a partir de las plántulas normales y anormales de los cacahuetes. Peanut Science 3(1): 29-31.
- TEMELES EJ., GOLDMAN RS., KUDLA AU. 2005. Foraging and territory economics of sexually dimorphic Purple-throated Caribs (*Eulampis jugularis*) on three Heliconia morphs. The Auk 122(1): 187–204.
- TERRA SB., FERREIRA AA., PEIL RM., STUMPF ER., CAVALCANTE MZ., CAVALCANTE IH. 2011. Alternative substrates for growth and production of potted chrysanthemum (cv. Funny). Acta Scientiarum Agronomy 33(3):465-471.
- TRUJILLO N. 1995. Algunos reportes de almacenamiento de semillas forestales. Curso Nacional de Recolección y Procesamiento de Semillas Forestales, Guatemala. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 28p.
- VARGAS A., VALLE H. 2011. Efecto de dos tipos de fundas sobre el fruto de banano (Musa AAA). Agronomía Mesoamericana 22(1): 81-89.

9. Anexos

Anexo 1. Razones de ventaja obtenidas de análisis mediante una regresión logística para los tratamientos de tiempo de almacenamiento y temperatura empleadas en semillas de *H. champneiana* cv. Splash.

Tratamiento	Razones de Ventaja	Probabilidad
2 Meses a 5°C x 0 Meses a 25°C	0,65	0,30
2 Meses a 5°C x 2 Meses a 15°C	0,58	0,21
2 Meses a 5°C x 2 Meses a 25°C	0,46	0,08
2 Meses a 5°C x 4 Meses a 5°C	1,15	0,71
2 Meses a 5°C x 4 Meses a 15°C	0,65	0,30
2 Meses a 5°C x 4 Meses a 25°C	1,75	0,11
2 Meses a 5°C x 6 Meses a 5°C	1,15	0,71
2 Meses a 5°C x 6 Meses a 15°C	0,65	0,30
2 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	27,56	<,0001*
2 Meses a 15°C x 0 Meses a 25°C	1,11	0,82
2 Meses a 15°C x 2 Meses a 25°C	0,78	0,62
2 Meses a 15°C x 4 Meses a 5°C	1,98	0,10
2 Meses a 15°C x 4 Meses a 15°C	1,11	0,82
2 Meses a 15°C x 4 Meses a 25°C	3,00	0,004*
2 Meses a 15°C x 6 Meses a 5°C	1,98	0,10
2 Meses a 15°C x 6 Meses a 15°C	1,11	0,82
2 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	47,25	<,0001*
2 Meses a 25°C x 0 Meses a 25°C	1,42	0,47
2 Meses a 25°C x 4 Meses a 5°C	2,52	0,03*
2 Meses a 25°C x 4 Meses a 15°C	1,42	0,47
2 Meses a 25°C x 4 Meses a 25°C	3,83	0,0009*
2 Meses a 25°C x 6 Meses a 5°C	2,52	0,03*
2 Meses a 25°C x 6 Meses a 15°C	1,42	0,47
2 Meses a 25°C x 6 Meses a 25°C	60,38	<,0001*
4 Meses a 5°C x 0 Meses a 25°C	0,56	0,16
4 Meses a 5°C x 4 Meses a 15°C	0,56	0,16
4 Meses a 5°C x 4 Meses a 25°C	1,52	0,23
4 Meses a 5°C x 6 Meses a 5°C	1,00	1,00
4 Meses a 5°C x 6 Meses a 15°C	0,56	0,16
4 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	23,92	<,0001*
4 Meses a 15°C x 0 Meses a 25°C	1,00	1,00
4 Meses a 15°C x 4 Meses a 25°C	2,70	0,01*
4 Meses a 15°C x 6 Meses a 5°C	1,78	0,16
4 Meses a 15°C x 6 Meses a 15°C	1,00	1,00
4 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	42,48	<,0001*
4 Meses a 25°C x 0 Meses a 25°C	0,37	0,01*
4 Meses a 25°C x 6 Meses a 5°C	0,66	0,22
4 Meses a 25°C x 6 Meses a 15°C	0,37	0,01*
4 Meses a 25°C x 6 Meses a 25°C	15,75	<,0001*
6 Meses a 5°C x 0 Meses a 25°C	0,56	0,16
6 Meses a 5°C x 6 Meses a 15°C	0,56	0,16

6 Meses a 5°C x 6 Meses a 25°C	23,92	<,0001*
6 Meses a 15°C x 0 Meses a 25°C	1,00	1,00
6 Meses a 15°C x 6 Meses a 25°C	42,48	<,0001*
6 Meses a 25°C x 0 Meses a 25°C	0,02	<,0001*

Anexo 2. Análisis de varianza realizado para el contenido de humedad de las semillas.

Análisis de varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Humedad (%)	30	0,54	0,52	1,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,87	1	0,87	32,97	<0,0001
Tratamiento	0,87	1	0,87	32,97	<0,0001
Error	0,74	28	0,3		
Total	1,61	29			

Test: LDS Fisher Alfa= 0,05 DMS= 0,12162

Error: 0,0264 gl:28

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Baja Temperatura	10,85	15	0,04	A
Alta Temperatura	10,51	15	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 3. Cantidad de brácteas obtenidas luego de 4 meses de embolsado y análisis estadístico mediante una distribución de Poisson.

Grado de Desarrollo de la Inflorescencia	Embolsado	Promedio de Brácteas
Grado 1	Sí	14,4± 1,1
Grado 1	No	13,0 ± 2,9
Grado 2	Sí	14,8 ± 0,7
Grado 2	No	15,1 ± 1,2

Interacción	DF	Chi-cuadrado	Prob >Chi cuadrado
Tamaño de la Inflorescencia	1	0,96	0,32
Bolsa	1	0,13	0,71
Tamaño de la Inflorescencia * Bolsa	1	0,39	0,53

Anexo 4. Análisis químico de suelos realizado a los sustratos empleados.

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS													
Solución Extractora: KCl-Olsen Modificado		pH	cmol(+)/L					%	mg/L				
		H ₂ O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
ID USUARIO	ID LAB	5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
SUELO + FIBRA	S-16-00929	4,9	1,52	2,03	1,00	0,23	4,78	32	33	2,2	15	666	9
SUELO + GRANZA	S-16-00930	5,1	0,88	3,69	1,13	0,27	5,97	15	194	174	19	959	18
SUELO	S-16-00931	4,9	1,48	3,75	0,9	0,22	6,35	23	265	153	28	1039	10

Los valores debajo de cada elemento corresponden con los Niveles Críticos generales para la solución extractora usada

CICE: Capacidad de intercambio de Cationes Electiva= Acidez + Ca + Mg + K

SA= Porcentaje de Saturación de Acidez= (Acidez/CICE)*100

Anexo 5. Análisis químico de retención de humedad y porosidad de los sustratos utilizados.

		ANÁLISIS DE RETENCIÓN DE HUMEDAD			ANÁLISIS DE DENSIDAD Y POROSIDAD		
		% RETENCIÓN		% AGUA	Densidad aparente	Densidad Partículas	Porosidad
ID USUARIO	ID LAB	0,33	15	UTIL	g cm^{-3}	g cm^{-3}	%
SUELO + FIBRA FINAL - REP 1	RN-165-16	78	54	24	0,45	2,49	82
SUELO + FIBRA FINAL - REP 2	RN-166-16	76	57	19	0,47	2,44	81
SUELO + GRANZA FINAL - REP 1	RN-167-16	62	50	12	0,44	2,34	81
SUELO + GRANZA FINAL - REP 2	RN-168-16	61	43	18	0,63	2,46	74
SUELO FINAL REP-1	RN-169-16	51	42	9	0,96	2,47	60
SUELO FINAL REP-2	RN-170-16	48	37	11	0,84	2,54	67

NR: NO REQUERIDO POR EL USUARIO