

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Protocolo de germinación y propagación vegetativa de palo santo
(*Bursera graveolens*)

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Agrícola y Biológica

Presentado por:

Sol Beatriz Soca Martinez

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

El presente proyecto lo dedico a Dios, en muestra de mi inmensa gratitud, por iluminar mi travesía por la vida, a mis padres de todo corazón por su cariño y apoyo incondicional, a mis hermanos por estar siempre conmigo, y a todos mis amigos invaluable con quienes recorrí este camino.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a Dios por ser siempre guía en mi vida y darme el don de la perseverancia para alcanzar mis metas, a mis padres por haberme proporcionado la mejor educación y lecciones de vida, a mis profesores que me ayudaron y guiaron durante mi formación profesional y ejemplo a seguir, a mis amigos que me ayudaron y con los que he compartido grandes momentos, por estar siempre a mi lado.

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, me corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Sol Beatriz Soca Martinez doy mi consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Sol Beatriz Soca Martinez

EVALUADORES

EDWIN
ROLANDO
JIMENEZ RUIZ

Firmado digitalmente por EDWIN
ROLANDO JIMENEZ RUIZ
DN: cn=EDWIN ROLANDO
JIMENEZ RUIZ, c=EC, l=DAULE
Motivo: Soy el autor de este
documento
Ubicación:
Fecha: 2021-09-27 10:54:05:00

PhD. María Isabel Jimenez Feijoo

PROFESOR DE LA MATERIA

MsC. Edwin Rolando Jimenez Ruiz

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Las comunas San Marcos y Aguadita de la parroquia Colonche, provincia de Santa Elena, conforman la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo, los que se dedican al aprovechamiento del recurso no maderable de *Bursera graveolens*. Los directivos han decidido implementar un diseño de propagación de la especie, para la conservación del bosque, pero la especie presentaba bajos porcentajes de germinación y prendimiento, así como largos periodos de latencia, dificultando su propagación.

El protocolo de germinación y propagación vegetativa se realizó caracterizando el material reproductivo, seguidamente implementando la propuesta de diseño, que consistía en la aplicación de promotores radiculares en el material reproductivo y en la siembra de estos en sistemas controlados como son los microtúneles de germinación; donde finalmente se obtuvo el diseño de protocolo.

La propagación por semillas obtenido fue del 20% de germinación utilizando 6 ml/L de agua de promotor radicular a base de extractos de algas y la siembra en microtúneles, a un periodo de ocho semanas, de realizado la siembra. Así mismo, la propagación de estacas se realizó en un ambiente controlado de temperatura y humedad relativa. Logrando obtenerse un diseño sobre el protocolo de germinación y propagación de *Bursera graveolens*.

Palabras Clave: *Bursera graveolens*, promotor radicular, microtúneles, semillas, estacas.

ABSTRACT

*The San Marcos and Aguadita communes of the Colonche parish, Santa Elena province, form the Palo Santo Agroforestry Production Association, dedicated to the use of resources in the *Bursera graveolens* timber. The directives have decided to implement a species propagation plan for forest conservation, but the species has low germination and adhesion percentages, as well as long latency periods, which makes it difficult to spread.*

The germination and vegetative propagation protocol were carried out by characterizing the reproductive material, then implementing the design proposal, which consisted in the application of root promoters in the reproductive material and their integration in controlled systems such as germination micro tunnels; where the design of the protocol is finally obtained.

*The propagation by seeds obtained was 20% germination using 6 ml / L of root promoter water based on algae extracts and the seed in micro tunnels, a period of eight weeks, from the seed. Thus, the propagation of cuttings was carried out in a controlled environment of temperature and relative humidity. Obtaining a design on the germination and propagation protocol of *Bursera graveolens*.*

*Keywords: *Bursera graveolens*, root promoter, micro tunnels, seeds, stakes.*

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	4
RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE GRÁFICAS	X
ÍNDICE DE DIAGRAMA	XI
ÍNDICE DE FIGURAS DE APÉNDICE.....	XII
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	XIII
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introducción	1
1.1 Descripción del problema	3
1.2 Justificación del problema.....	5
1.3 Objetivos.....	6
1.3.1 Objetivo General	6
1.3.2 Objetivos Específicos	6
1.4 Marco teórico	7
1.4.1 Generalidades de <i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch.....	7
1.4.2 Propagación sexual y asexual.....	9
1.4.3 Aplicación de enraizadores en especies forestales.....	10
1.4.4 Microtúneles de germinación en especies forestales	11
CAPÍTULO 2.....	13

2	Metodología	13
2.1	Sitio de recolección del material reproductivo.....	14
2.2	Sitio de estudio	14
2.3	Caracterización del material reproductivo.....	15
2.3.1	Identificación de árboles progenitores para estacas	15
2.3.2	Selección de estacas	16
2.3.3	Características físicas de las semillas.....	16
2.4	Implementación de la propuesta de diseño	18
2.4.1	Características de la infraestructura de microtúneles.....	18
2.4.2	Manejo agronómico de la especie en el sistema de microtúneles	20
2.5	Efecto del uso de promotores radiculares en semillas y estacas.....	21
2.5.1	Preparación y aplicación de promotor de raíz en material reproductivo .	21
2.5.2	Tratamientos	22
2.5.3	Diseño experimental.....	23
2.5.4	Análisis estadístico.....	27
2.6	Diseño de protocolo	27
CAPÍTULO 3.....		28
3	Resultados Y ANÁLISIS.....	28
3.1	Caracterización del material reproductivo.....	28
3.1.1	Características del árbol progenitor.....	28
3.1.2	Selección de estacas	28
3.1.3	Características físicas de las semillas.....	28
3.2	Implementación de la propuesta de diseño	31
3.2.1	Características de la infraestructura de microtúneles.....	31
3.2.2	Efecto sobre aplicación de enraizante y utilización de sistemas de microtúneles en semillas y estacas	32

3.3	Guía de un de sistema de propagación sexual y asexual.....	38
CAPÍTULO 4.....		40
4	Conclusiones Y Recomendaciones.....	40
4.1	Conclusiones	40
4.2	Recomendaciones	41
BIBLIOGRAFÍA.....		42
APÉNDICES		48

ABREVIATURAS

AIB	Ácido Indolbutírico
ANA	Ácido 1-Naftalenacético
ANOVA	Analysis of Variance
CDB	Convenio de la Diversidad Biológica
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
GEA	Granja Experimental Agropecuaria
MAATE	Ministerio de Ambiente, Agua y Transición Ecológica
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería
ONU	Organización de las Naciones Unidas
REDD	Reducción de Emisiones por Deforestación y Degradación de los Bosques
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
UTM	Universal Transverse de Mercator

SIMBOLOGÍA

mg	Miligramo
g	Gramo
kg	Kilogramo
ml	Mililitro
L	Litro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
m	Metro
°C	Grados Celsius
%	Porcentaje
N°	Número

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Mapa del sitio de recolección del material reproductivo.....	14
Figura 2.2 Mapa del sitio de estudio.	15
Figura 2.3 Madre 1 y 2 de izquierda a derecha, identificadas el 08/06/21.	15
Figura 2.4 Selección de estacas de <i>Bursera graveolens</i> el 19/06/21.	16
Figura 2.5 Semillas recolectadas de <i>Bursera graveolens</i> el 14/06/21	16
Figura 2.6 Evaluación de peso y tamaño de semillas de <i>Bursera graveolens</i> el 19/06/21.....	17
Figura 2.7 Evaluación de la viabilidad de las semillas de <i>Bursera graveolens</i> 19/06/21.....	18
Figura 2.8 Muestreo de temperatura y humedad de la siembra directa en campo. ...	18
Figura 2.9 Diseño del área de estudio por microtúneles y campo directo.....	19
Figura 2.10 Diseño del área de estudio por enraizante y dosis.	19
Figura 2.11 Estacas de <i>Bursera graveolens</i> sembradas en microtúneles y a campo directo el 30/06/21.	20
Figura 2.12 Microtúnel con dos nebulizadores.	21
Figura 2.13 Preparación de enraizante a base de algas para aplicación en semillas.	21
Figura 2.14 Preparación de enraizante en sus diferentes dosis y aplicación en estacas de <i>Bursera graveolens</i>	22
Figura 3.1 Semillas sin deformaciones, en un contraste de colores.	29
Figura 3.2 Tríptico de propagación sexual y asexual de <i>Bursera graveolens</i>	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Tratamientos evaluados para semillas	22
Tabla 2.2 Tratamientos evaluados para estacas	23
Tabla 2.3 Variables de estudio para semillas	24
Tabla 2.4 Variables de estudio para estacas	25

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 3.1 Peso de las semillas de <i>Bursera graveolens</i>	29
Gráfica 3.2 Tamaño de las semillas de <i>Bursera graveolens</i>	29
Gráfica 3.3 Viabilidad de la semilla mediante prueba de tetrazolio.....	30
Gráfica 3.4 Humedad relativa evaluada en microtúneles y directo en campo.	31
Gráfica 3.5 Longitud de la nueva plántula germinada.....	32

ÍNDICE DE DIAGRAMA

Diagrama 2.1 Metodología para la propagación sexual y asexual de <i>Bursera graveolens</i>	13
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS DE APÉNDICE

Figura A 1 – Diseño experimental de semillas.....	49
Figura A 2 – Diseño experimental de estacas.....	49
Figura B 1 – ANOVA de tratamiento de semillas.	50
Figura B 2 – ANOVA de microtúneles.....	51
Figura C 1 - Protocolo de propagación de palo santo página 1.	52
Figura C 2 - Protocolo de propagación de palo santo página 2.	53

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuaciones 2.1 Cálculo del tamaño de la muestra	24
Ecuaciones 2.2 Porcentaje de germinación	26

CAPÍTULO 1

1 INTRODUCCIÓN

El Ecuador ostenta una gran diversidad biológica, conocido así con el título de país megadiverso, a ello se le atribuye componentes, tales como: la región tropical donde se encuentra, la imponente presencia de la Cordillera de los Andes y la influencia de corrientes oceánicas como es El niño y Humboldt. Según el Ministerio del Ambiente del Ecuador (2016) el país alberga a más de 18.198 especies de plantas vasculares, entre ellos se considera 17.748 especies nativas y 4.500 endémicas; con respecto a la fauna se ha calculado más de 4.800 especies, de las cuales solo 1.642 son aves. Además, múltiples estudios identificaron que el país cuenta con 91 tipos de ecosistemas diferentes en todo el territorio ecuatoriano, de los cuales, los más representativos son: ecosistema terrestre de galápagos; ecosistemas oceánicos, marino-costeros, manglares; ecosistemas lacustres y fluviales, páramo, bosque de tierra firme, bosque húmedo del norte, bosque inundado de la Amazonía, bosques secos y semiáridos del sur.

El Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (2018), el bosque seco encontrado en las provincias de Loja, Santa Elena, Manabí, Guayas y El Oro es parte de la Red Mundial de Reservas de Biósfera de la UNESCO; por sus más de 500 mil hectáreas y por ser uno de los lugares mejores conservados del país, además de poseer la población de aves endémicas más grande de Sudamérica y tener 15 tipos de árboles y arbustos, entre los más conocidos está el *Handroanthus chrysanthus* (Guayacán), *Ceiba trichistandra* (Ceibos) y el *Bursera graveolens* (Palo santo).

En un estudio realizado por Chiado y Coba (2018), se localizaron 57.540,29 has de *Bursera graveolens* distribuidas por el bosque seco de Santa Elena, donde las precipitaciones anuales son de 250-600 mm, en suelos sueltos y poco profundos, con pH neutros a medianamente alcalinos, característicos de esta zona. La *Bursera graveolens* cuyo nombre común es palo santo o conocido también como árbol sagrado, es un árbol caducifolio porque pierde las hojas para guardar energía en la época que existe escases de agua o recursos. En Santa Elena la época seca, empieza en el mes de mayo, en el que no hay presencia de lluvias y termina en el mes de diciembre, donde comienza las primeras precipitaciones, por ello este árbol y especies pertenecientes al bosque seco pierden estacionalmente sus hojas.

La propagación de esta especie se puede realizar por semilla o reproducción asexual mediante estacas e injertos. De acuerdo con Chiado y Coba (2018), la propagación de *Bursera graveolens* el porcentaje de germinación por semilla es de 2.5-4%, mientras que el prendimiento es de 70%, pero limitándose solo a la emisión de brotes nuevos, en un periodo de tiempo de 8 meses. Además, los reportes encontrados sobre la propagación de esta especie son escasos y se caracteriza por presentar bajos porcentajes de germinación y prendimiento, mencionando también, que luego de la siembra los árboles llegan a morir por deshidratación.

El palo santo es una especie característica del bosque seco, el mismo que se encuentra desapareciendo por la deforestación e intervención del hombre, al convertir el suelo en áreas agrícolas y ganaderas, la producción del ganado caprino es realizada de manera extensiva a campo abierto y sin ningún manejo sostenible para conservar esta especie. Así mismo, el ser humano ha utilizado desde épocas remotas las propiedades medicinales de este árbol para combatir dolores estomacales o reumatismo; además, la madera se utiliza como incienso, la elaboración de artesanías o cajas de frutas y extracción de aceites esenciales (Sánchez, 2019).

El propósito de esta investigación es diseñar un protocolo de germinación y propagación vegetativa de palo santo (*Bursera graveolens*) mediante la validación de un prototipo de microtúneles y aplicando promotores radiculares, para el desarrollo de la especie en las comunas San Marcos y Aguadita; brindando una alternativa de manejo sobre la propagación para que la Asociación de Producción Agroforestal Palo santo pueda seguir con sus proyectos de emprendimiento, en base a la extracción de aceites esenciales de manera sostenible, reforestando el bosque seco de Santa Elena y manejando adecuadamente este recurso.

1.1 Descripción del problema

El Ecuador es una de las principales naciones que pertenecen al Convenio de la Diversidad Biológica (CDB), adoptada en la Cumbre de la Tierra de Río de Janeiro en 1992. Según la Organización de las Naciones Unidas (2021) el convenio es una herramienta internacional que busca “la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios que se derivan de la utilización de los recursos genéticos”, promoviendo de esta manera, medidas hacia un futuro sostenible.

Según el Ministerio de Ambiente y Agua (2018), el territorio ecuatoriano pierde en promedio 94,353 hectáreas por año de bosques que, al compararlo con otros países con mayor extensión de territorio, su pérdida es significativa. Este hecho ocurre por la tala de árboles, incendios forestales causados por la quema de cultivos agrícolas cercanos, la expansión urbana y agropecuaria, actividades como la minería o el petróleo, manejo inadecuado del recurso bosque; así como la falta de investigación de las especies nativas e investigación del manejo sostenible. Por este motivo, el MAATE, gobiernos autónomos provinciales, cantonales, parroquiales promueven proyectos enfocados en la Reducción de emisiones por deforestación y degradación de los bosques (REDD) y el Programa Nacional de Restauración Forestal, con el fin de la conservación ambiental y protección de Cuencas.

Actualmente, una de las principales dificultades que presentan los programas de restauración forestal nativa de palo santo es la propagación de la especie, debido a la falta de investigación sobre el tema y no contar con semillas certificadas. Así mismo, los métodos de propagación tienen porcentajes mínimos de germinación y prendimiento, además de largos periodos de latencia de 7 a 8 meses, dificultando la propagación y limitando el desarrollo de proyectos de reforestación.

En el bosque seco de Santa Elena donde se realiza el aprovechamiento de recursos no maderables de Palo santo, al extraer aceites esenciales del tronco (árboles muertos o caídos de manera natural) y frutos, se desea conservar el bosque y mejorar la situación económica de los pobladores de la comunidad de San Marcos y Aguadita, los cuales cuentan con ayuda de la Prefectura de Santa Elena, con quienes formaron la Asociación de Producción Agroforestal Palo santo, pertenecientes a la parroquia Colonche de la provincia de Santa Elena.

El problema principal que presenta la Asociación de Producción Agroforestal Palo santo, es no contar con un diseño de propagación efectivo de *Bursera graveolens* o un plan de reforestación, que asegure la conservación de la especie en el bosque seco de Santa Elena y que garantice la materia prima para la extracción del aceite esenciales para que las comunas San Marcos y Aguadita sigan en el proceso de mejorar su situación económica y desarrollarse al aprovechar el recurso no maderable. Se debe agregar que, la ausencia de investigaciones sobre los métodos funcionales de propagación por semilla o multiplicación vegetativa, ponen en riesgo a esta especie, porque se dificulta la conservación y el manejo sostenible del bosque.

1.2 Justificación del problema

La presente investigación se enfocará en diseñar sistemas de multiplicación ya sea sexual o vegetativa de la especie forestal *Bursera graveolens* para la Asociación de Producción Agroforestal Palo santo, esto debido al reciente aprovechamiento del recurso no maderable de dicha especie en el bosque seco de Santa Elena, principalmente en las zonas ubicadas cerca de la comuna San Marcos y Aguadita (parroquia Colonche - provincia Santa Elena); donde se extrae aceite esencial de la madera y fruto; cabe mencionar que la Asociación solo separa el aceite de la madera de árboles de 40 años con muerte natural y debe reposar de 2 a 4 años en el bosque, porque solo de esta manera se conserva las propiedades químicas y medicinales que se pueden aprovechar, para la elaboración de velas, perfumes, inciensos, entre otros; de modo que, el comportamiento del bosque se ha visto modificado por la actividad económica humana.

Por consiguiente, el presente trabajo permitirá obtener información sobre los sistemas de microtúneles de germinación usados para la propagación de *Bursera graveolens*, en semillas y estacas, aplicando enraizadores comerciales a base de algas marinas, fitohormonas y aminoácidos, los que disminuirán el tiempo de propagación, proponiendo un diseño sobre la propagación sexual y asexual, además de ofrecer una mirada integral sobre la conservación sostenible de la especie y ayudando a la concientización de la población local.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Diseñar un protocolo de germinación y propagación vegetativa de palo santo mediante la validación de un prototipo de microtúneles, para el desarrollo de la especie en las comunas San Marcos y Aguadita.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Definir las características del material reproductivo mediante el análisis de parámetros físicos de las semillas y del material vegetativo.
- Aplicar promotores radiculares en el material reproductivo para el análisis de su efecto en el tiempo de germinación y el enraizamiento de estacas.
- Implementar un prototipo de microtúneles para el análisis de su efecto en el porcentaje de germinación y el enraizamiento de estacas.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Generalidades de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch

Es un árbol caducifolio perteneciente a la familia Burseraceae, cuyo nombre común en el Ecuador es de Palo santo, esta especie es originaria de los boques secos pluviestacionales y bosques secos andinos, se puede encontrar en algunos países de América Central y América del sur. Su hábitat es en laderas del bosque seco y planicies, desde los 0 a 2 000 m.s.n.m. En el Ecuador se encuentra en las provincias de El Oro, Guayas, Galápagos, Imbabura, Loja y Manabí.

La especie inicia su proceso de floración en el Bosque Seco de Santa Elena de enero a febrero, mientras que la fructificación empieza a finales de febrero y madura de abril a mayo. En los meses de verano, donde no existe presencia de lluvias, los árboles pierden las hojas y entran a un estado de reposo, esto se da hasta que empiecen las primeras lluvias, en el mes de diciembre. Por otro lado, se conoce que esta especie puede crecer en zonas rocosas, con suelos bien drenados y pocos profundos; prefiere los suelos con pH neutro o medianamente alcalino, con baja fertilidad. Puede crecer en relieves inclinados que fluctúan de suaves a fuertes, o en terrenos planos (Chiado y Coba, 2018).

Según Aguirre (2012) son árboles que pueden llegar a crecer hasta 12 m y un obtener un DAP de 40 cm. El fuste es cilíndrico y ramificado a partir de los 2 m de la superficie terrestre, tiene una copa redondeada y cerrada. La corteza en su parte externa tiene una textura lisa color azulado a pardo cenizo en árbol joven, mientras que, la coloración marrón cuando el árbol es adulto. Algunas fracciones vegetativas de esta especie son olorosas, ello por la presencia de glándulas resiníferas que exudan en forma de resina con aroma a incienso.

Las hojas se encuentran compuestas y alternas, llegando a medir una longitud de 20 cm y está agrupada al término de las ramitas; los folíolos con dimensiones de 5-9 a 15-25 cm de longitud. Las flores son pequeñas, de color blanco-lila y con un tamaño de 3 cm de longitud y en inflorescencia panicular de 10 cm de longitud. El fruto drupa abayado, con coloración verde y a medida que madura adquiere una coloración rojiza, con forma aovada de aproximadamente 1 cm de longitud. La semilla es angulosa, pequeñas y de color marrón lustroso (Puecas, 2011).

La madera resinosa de *Bursera graveolens* es utilizada para obtener aceites esenciales, por poseer un aroma agradable a cítrico y es de color dorado. Así mismo, se puede obtener aceites esenciales del fruto, el cual tiene una esencia suave, utilizada para hacer masajes y curar de dolores musculares, alivia síntomas de gripe, alergias y jaquecas. Además, el aceite se utiliza comúnmente en la industria farmacéutica y cosmética para la fabricación de perfumes, aceites, jabones; ello debido a su composición química, donde se ha encontrado compuestos como: limoneno, carona, beta-bisaboleno, alfa-terpineol, germacreno D, óxido de alfa-bisabolol B, mentofurano, alfa-T (Chávez, 2017).

Otros usos de la madera, por ser suave, es para la fabricación de cajones de fruta, elaboración de artesanías como vasos, cucharones, adornos, entre otros. También, la madera seca es utilizada como repelentes de mosquitos; también ayuda a inducir a la meditación por el aroma del incienso, ello debido al perfume calmante del Palo santo. Además, las hojas se utilizan como forrajes o en infusiones para aliviar síntomas de resfrío o gripe, fortaleciendo los bronquios (Aguirre, 2012).

1.4.2 Propagación sexual y asexual

La propagación de Palo santo se puede realizar de manera sexual (semillas), es decir, la formación de un individuo a través de dos progenitores, las que son transportadas por las aves por el bosque seco, ya que el fruto es alimento para ellas. En un estudio realizado por Morgan y Shibu (2013) en el Bosque de Protección Cerro Blanco ubicado en la ciudad de Guayaquil, determino que la viabilidad de las semillas es baja, porque tiene una tasa de germinación del 8% y un periodo de latencia de 7 a 8 meses.

Para la selección de las semillas se debe considerar algunos criterios como: la estructura sin deformación, la coloración que sirve como indicativo de la madurez de la semilla, el peso, tamaño y viabilidad (Grupo semillas, 2018). Este último se puede analizar mediante la prueba de tetrazolio, siendo una evaluación bioquímica, que consiste en verificar si el embrión de la semilla tiene tejidos vivos, estos se diferencian de los tejidos muertos, sobre la base de la actividad enzimática deshidrogenasa, conocida como la enzima de la respiración. Para la realización de esta prueba, lo primero es hidratar las semillas, de esta manera se incrementa la actividad de deshidrogenasa, liberando iones hidrógenos, al agregar la solución de tetrazolio (incoloro), este se reduce y forma el formazán, conocido por ser una sustancia de color rojiza, la cual tiñe a las células vivas, es decir, solo las células vivas que liberan iones hidrógenos podrán teñirse, mientras que en las células muertas no existirá reacción, por ello su coloración permanecerá igual (Ruíz, 2019).

La interpretación de la prueba indica que si el embrión tiene una coloración de rosa fuerte a rojo significa que la semilla es viable; mientras que, si la coloración es rosado pálido la semilla está inmadura viva, y si el embrión no presenta coloración no es viable. Así mismo, la viabilidad de una semilla nos indica que es capaz de germinar produciendo una nueva planta, pero esto no es indicativo de que la semilla pueda estar dormida, causando demora o presentando una menor germinación (Espitia, Cardona y Araméndiz, 2017).

Por su parte, la multiplicación vegetativa de esta especie puede darse, por estacas, injertos o in vitro, las desventajas de este último método es la disposición de un laboratorio y los costos de los medios de cultivo, infraestructura, equipos y personal especializado. Mientras que, la propagación por estacas es uno de los métodos más utilizados para la multiplicación de especies forestales, por la fácil obtención de material útil para la reproducción. Esta técnica empieza identificando un árbol madre y se le cortan ramillas o estacas, las cuales se desarrollarán en un medio con condiciones favorables para su enraizamiento, logrando tener nuevas plantas clonadas de la progenie (Osuna y Fierro, 2017).

1.4.3 Aplicación de enraizadores en especies forestales

Las fitohormonas llamadas también hormonas vegetales, son compuestos químicos que contribuyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas, están presentes en pequeñas cantidades y actúan en lugares diferentes a los que fueron producidos. Se agrupan en cinco categorías, las cuales son: ácido abscísico, auxinas, citoquininas, etileno y giberelinas. Son utilizados como enraizantes, en la germinación de las semillas, permiten acelerar la maduración de frutos, incrementa la tolerancia a diferentes tipos de estrés y aumenta la producción (Borjas et al., 2020)

Giraldo et al. (2009), mencionan que los enraizadores son sustancias compuestas de fitohormonas de crecimiento, cuyo propósito es tratar a los esquejes o brotes aumentando el porcentaje del desarrollo de la raíz adventicias, reduciendo el tiempo y mejorando la calidad de su sistema radicular, permitiendo absorber mejor los nutrientes y agua, produciendo más energía y obteniendo una mayor defensa contra las enfermedades. Las presentaciones de los enraizadores comerciales son: en polvo, tabletas que se disuelven en agua o soluciones líquidas.

Según López et al. (2020) en la actualidad se elaboran productos a base de extractos de algas marinas que están compuestas de fitohormonas que ayudan al enraizamiento de las estacas, aumenta la germinación de semillas, promueve el crecimiento vegetal e induce respuestas fisiológicas en las plantas.

1.4.4 Microtúneles de germinación en especies forestales

Los sistemas de propagación de especies forestales a campo abierto están influenciados por factores del carácter biótico y abiótico como la exposición a altas y bajas temperaturas, precipitaciones, vientos, plagas y enfermedades, las que afectan el desarrollo óptimo de la especie (Abad et al., 2020). Mientras que, el sistema protegido o microtúneles de germinación son adecuados para proteger a las plantas durante los primeros días de su etapa de desarrollo, ya que son una tecnología que permite el control de las condiciones climáticas para la especie. Además de que ayuda a reducir costos porque requiere de pocos materiales para su construcción, así como de maximizar el uso de la tierra y espacio (Centro Mesoamericano de Desarrollo Sostenible del Trópico Seco, 2010).

Los principales beneficios de los microtúneles de germinación son la reducción de la actividad fotosintética, mediante la sombra producida por un sarán; aumento en la humedad relativa superiores a 70% y el manejo controlado del estrés hídrico, y aumenta la temperatura del aire y suelo, acelerando los procesos de germinación. Además, permite obtener mayores rendimientos con calidad, facilita el control, manejo de las plagas y enfermedades; protege a las plantas de las lluvias, heladas, vientos, insectos, aves, entre otros (Cárdenas, 2015).

Según Miserendino (2011) en la construcción de microtúneles los componentes principales son: los arcos, la cobertura y la unión de la cobertura con la estructura. Se recomienda que para los arcos se utilicen materiales flexibles y no rígidos, porque pueden dañar la cobertura, por ello es mejor utilizar tubos de plástico. El material para la cobertura que mayormente se utiliza, es el polietileno con tratamiento ultravioleta, porque permite el mayor ingreso de luz y retener el calor. Mientras que, para el sistema de unión, se debe contar con estacas, agarraderas, soga y alambres; las que permitiendo asegurar la estructura.

Las dimensiones que se aconsejan son: 0.9 a 1 m de alto, 0.7 a 1 m de ancho y tener un perímetro de 2 m. Por otro lado, el sistema de riego que se recomienda para este tipo de tecnologías es riego por nebulización, el cual expulsa el agua en forma de neblina, con ayuda de emisores que son debidamente colocados en la parte superior del microtúnel, este sistema se puede utilizar a su vez para fertirrigación, además, contribuye y aumentar la humedad relativa, refrigera el sistema, no causa daños a la especie y tampoco compacta el suelo. El sustrato que se recomienda para este tipo de sistema es la utilización del 100% de arena, sin piedras y desinfectadas, para no presentar problemas de hongos (Novagric, 2016).

CAPÍTULO 2

2 METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la investigación se realizó actividades técnico-profesionales, en el que se definió una metodología para la propagación sexual y asexual, planteada en el Diagrama 2.1.

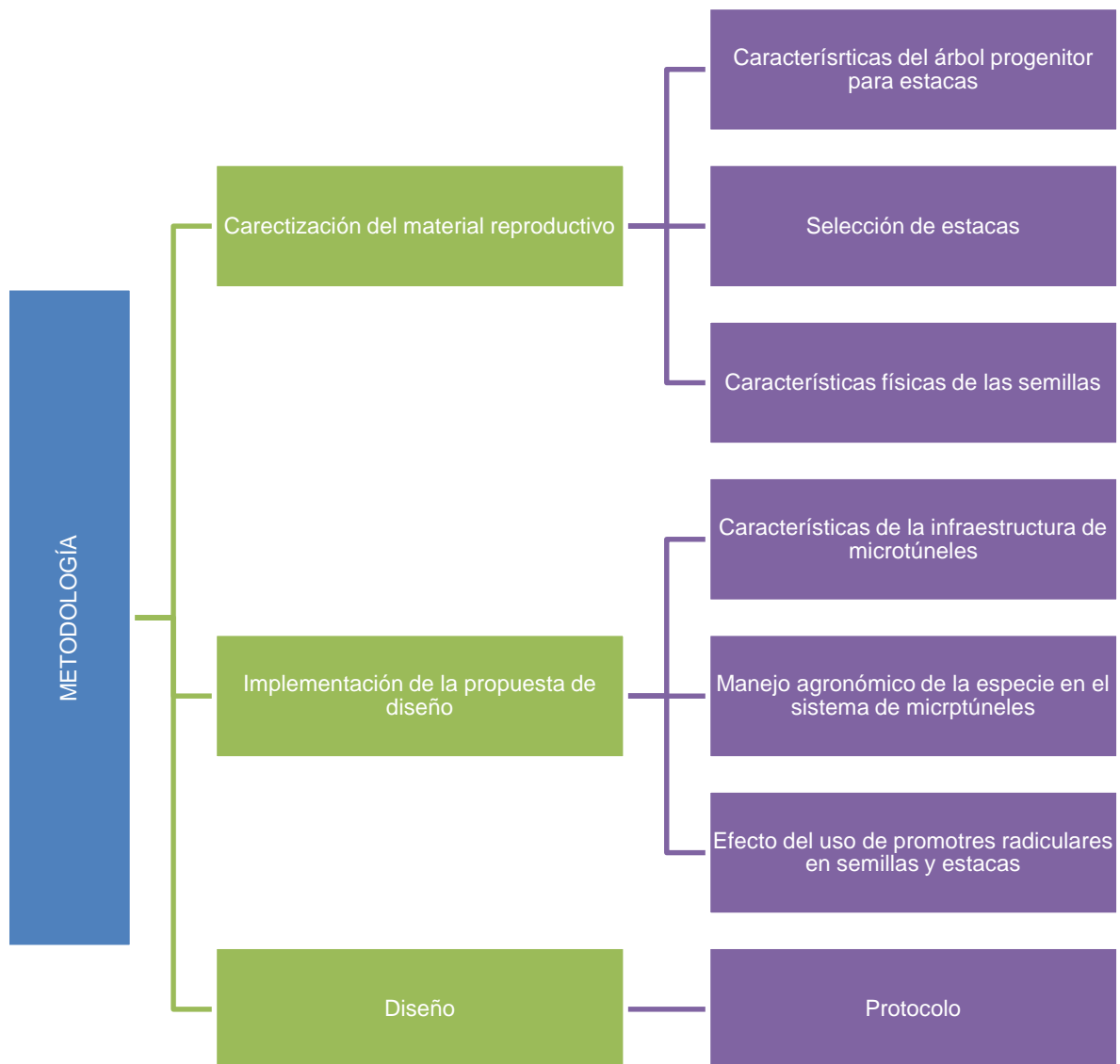


Diagrama 2.1 Metodología para la propagación sexual y asexual de *Bursera graveolens*.

2.1 Sitio de recolección del material reproductivo

La recolección del material reproductivo se realizó en el bosque seco de Santa Elena por el sector aguadita muy cerca del recinto Campo Blanco (Figura 2.1), donde según la clasificación ecosistémica del Ecuador continental, corresponde al bosque bajo y arbustivo deciduo de tierras bajas del Jama-Zapotillo. Las precipitaciones anuales son de 350-450 mm, con temperatura media anual entre 23,5 - 25, 2°C, siendo inferiores en los meses de julio a septiembre y un clima seco y árido (Chiado y Coba, 2018).



Figura 2.1 Mapa del sitio de recolección del material reproductivo.

2.2 Sitio de estudio

El experimento de germinación y propagación vegetativa se realizó en la Granja Experimental Agropecuaria (GEA) de la ESPOL, ubicado en el campus Gustavo Galindo en Km. 35 de la Vía Perimetral, en la ciudad de Guayaquil, con coordenadas Universal Transversal de Mercator (UTM) 17M 615152.32 y 9762531.66, a una altitud de 102 msnm y una temperatura de 25 - 30°C. La superficie utilizada para la experimentación fue de 30 m² (6 m de longitud por 5 m de ancho) y se realizó durante los meses de mayo a agosto del año 2021 (Figura 2.2).



Figura 2.2 Mapa del sitio de estudio.

2.3 Caracterización del material reproductivo

2.3.1 Identificación de árboles progenitores para estacas

Para la recolección de estacas, estas fueron seleccionadas de árboles progenitores con características como: mediana edad, estado fitosanitario, altura del árbol y época de recolección (Figura 2.3).



Figura 2.3 Madre 1 y 2 de izquierda a derecha, identificadas el 08/06/21.

2.3.2 Selección de estacas

Las estacas fueron recolectadas en el bosque seco de Santa Elena, por el sector de Aguadita. Las características que se consideraron para su selección fueron el largo y diámetro de las estacas (Figura 2.4).



Figura 2.4 Selección de estacas de *Bursera graveolens* el 19/06/21.

2.3.3 Características físicas de las semillas

La recolección de semillas se realizó en el bosque seco de Santa Elena, cerca del recinto Campo Blanco, el 08 de junio de 2021. Luego, se procedió a secarla al sol por 5 días, hasta la maduración de las semillas (Figura 2.5). Las características físicas que se consideraron para la selección de semillas fueron: la estructura sin deformación, la coloración que sirve como indicativo de la madurez de la semilla, el peso, tamaño y viabilidad.



Figura 2.5 Semillas recolectadas de *Bursera graveolens* el 14/06/21

2.3.3.1 Peso y tamaño

Las semillas con estructuras sin deformaciones y coloración marrón oscura, se separaron en 100 unidades y fueron pesadas, ello se realizó en 10 repeticiones. Seguidamente, se procedió a medir con ayuda de un vernier o calibre la longitud de 100 semillas, obteniendo así una media del tamaño (Figura 2.6). El propósito de estas pruebas es conocer las características físicas de las semillas, para relacionarlas con la viabilidad de las semillas.



Figura 2.6 Evaluación de peso y tamaño de semillas de *Bursera graveolens* el 19/06/21.

2.3.3.2 Prueba de viabilidad de tetrazolio

Esta prueba se realizó con un reactivo previamente elaborado de 10 g de sal de tetrazolium: 2, 3, 5-trifenil cloruro de Tetrazolium, en 100 ml de agua destilada. Las semillas previamente seleccionadas (estructura sin deformación, coloración, peso, tamaño) fueron remojadas en agua destilada, antes de las 24 horas de la prueba de tetrazolio; pasado este tiempo se cortó por la mitad la semilla y se extrajo el embrión, el cual fue colocado en cajas Petri que contenían el reactivo de tetrazolio preparado al inicio. Luego, fue sellado con papel de aluminio y llevado a estufa a una temperatura de 25°C por una hora. Al finalizar el tiempo, se retiró de la estufa y se procedió a evaluar, basado en su patrón de tinción e intensidad (Figura 2.7). El propósito de esta prueba es identificar las semillas vivas, para determinar la viabilidad y su capacidad de producir una nueva plántula.



Figura 2.7 Evaluación de la viabilidad de las semillas de *Bursera graveolens* 19/06/21.

2.4 Implementación de la propuesta de diseño

2.4.1 Características de la infraestructura de microtúneles

Las características de la infraestructura de los microtúneles que se consideraron fue las dimensiones (altura del microtúnel, el largo y ancho de la base), sustrato arena previamente desinfectado y sistema de riego. Así mismo, se controló la temperatura y humedad relativa del microtúnel, para favorecer el proceso de germinación del palo santo, con ayuda de un termohigrómetro por 3 días, en tres diferentes horarios: 10:00, 12:00 y 14:00 (Figura 2.8).



Figura 2.8 Muestreo de temperatura y humedad de la siembra directa en campo.

Se dividió el área de estudio en dos partes: una de ellas en platabandas para la experimentación con microtúneles de germinación y la otra directa en campo, esto se realiza con el propósito de comparar el desarrollo de las semillas y estacas en el sistema de microtúneles y la siembra tradicional; a su vez, se subdividió estas áreas en siembra para estacas y semillas, en ambas partes (Figura 2.9).

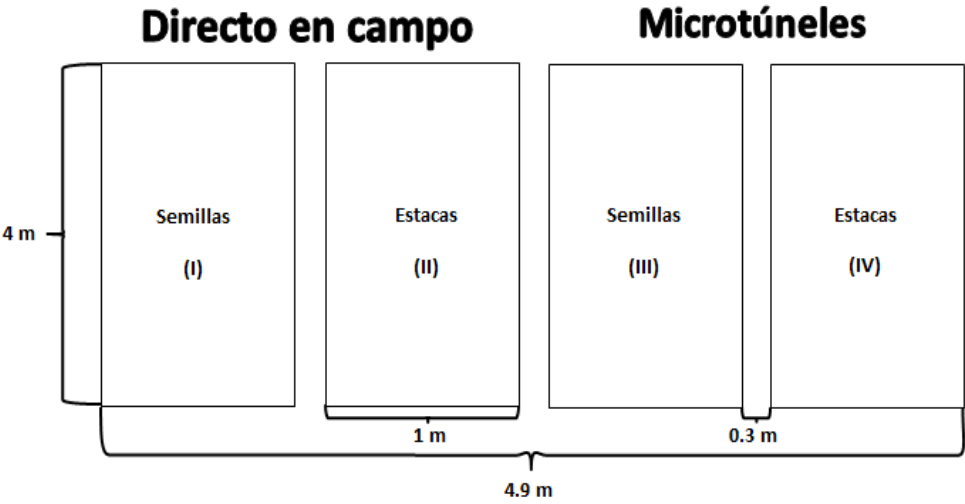


Figura 2.9 Diseño del área de estudio por microtúneles y campo directo.

Además, se siguió subdividiendo con respecto a las dos árboles progenitores a los que llamaremos madre 1 y 2, la dosis y al enraizante o promotor radicular aplicado en semillas y estacas (Figura 2.10).

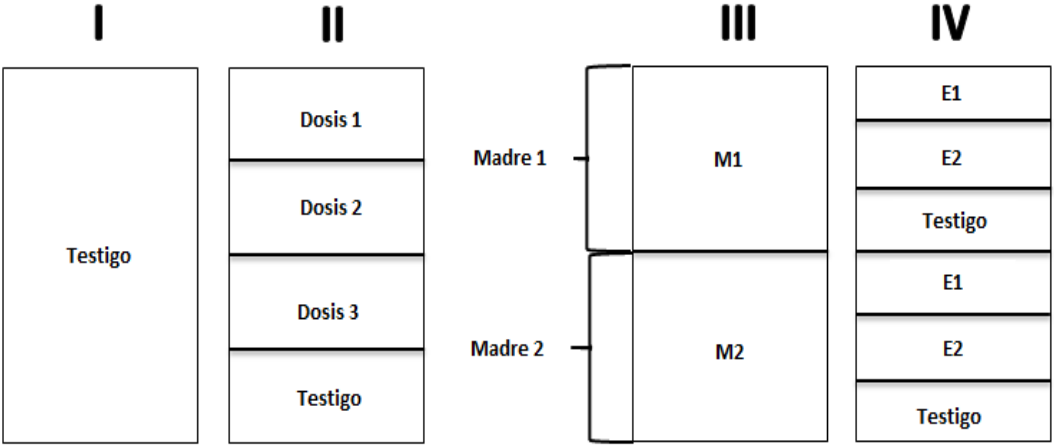


Figura 2.10 Diseño del área de estudio por enraizante y dosis.

- * Madre 1 = progenitor seleccionado uno.
- Madre 2 = progenitor seleccionado dos.
- Dosis 1 = 4 ml/l de agua de promotor radicular a base de extracto de algas marinas.
- Dosis 2 = 5 ml/l de agua de promotor radicular a base de extracto de algas marinas.
- Dosis 3= 6 ml/l de agua de promotor radicular a base de extracto de algas marinas.
- E 1 = promotor radicular a base de fitohormonas.
- E 2 = promotor radicular a base de fitohormonas y aminoácidos.

2.4.2 Manejo agronómico de la especie en el sistema de microtúneles

2.4.2.1 Siembra de semillas y estacas

Las semillas fueron sembradas a una profundidad aproximada de 2 cm; por cada dosis incluida el testigo, se sembró 50 semillas para cada tratamiento dentro del microtúnel de germinación, mientras que, 100 semillas fueron sembradas en campo directo y sin enraizante a base de algas.

Las estacas con el respectivo enraizante, fueron sembradas a un distanciamiento de siembra de 10 cm entre ellas y fueron 15 por cada tratamiento; el hoyo se hizo manualmente con ayuda de un palillo, luego se colocó la estaca de manera vertical y se cubrió en forma de montículo alrededor de la estaca (Figura 2.11).



Figura 2.11 Estacas de *Bursera graveolens* sembradas en microtúneles y a campo directo el 30/06/21.

Es importante mencionar que el periodo de 8 semanas no serán suficientes para la observación final de raíces en estacas de palo santo, ya sea en campo directo o por el sistema de microtúneles, porque el proceso recomendado para esta especie es de 6 a 8 meses (Chiado y Coba, 2016), el proyecto pretende disminuir ese tiempo con el sistema implementado.

2.4.2.2 Riego

El sistema de riego que se utilizó para los sistemas de microtúneles fue por nebulizador, se colocó dos por cada microtúnel (Figura 2.12). En campo directo el riego por goteo, siendo regados diariamente por 2 horas.



Figura 2.12 Microtúnel con dos nebulizadores.

2.5 Efecto del uso de promotores radiculares en semillas y estacas

2.5.1 Preparación y aplicación de promotor de raíz en material reproductivo

El enraizador a base de algas marinas se disolvió en 4, 5 y 6 ml en 1L de agua respectivamente, para la preparación de las tres dosis. Seguidamente, 50 semillas de *Bursera graveolens* fueron humedecidas por un periodo de veinticuatro horas antes de la siembra, en cada uno de las dosis (Figura 2.13).



Figura 2.13 Preparación de enraizante a base de algas para aplicación en semillas.

El enraizador a base de fitohormonas y aminoácidos se disolvió en 3.5 ml en 1L de agua; se humedeció 15 estacas de 20 m de largo por 0.5 a 1.5 cm de diámetro, con corte a bisel, en el preparado por 5 minutos. De igual manera se realizó el preparado y aplicación para la dosis de 4,5 ml (Figura 2.14).



Figura 2.14 Preparación de enraizante en sus diferentes dosis y aplicación en estacas de *Bursera graveolens*.

2.5.2 Tratamientos

Los tratamientos son el producto de la combinación de los factores en estudio incluido el testigo, el cual se detalla en la tabla 2.1 y 2.2

Tabla 2.1 Tratamientos evaluados para semillas

N°	Símbolo	Descripción
1	E3D1S1	Microtúneles de germinación + Algas marinas (4 ml/L de agua)
2	E3D2S1	Microtúneles de germinación + Algas marinas (5 ml/L de agua)
3	E3D3S1	Microtúneles de germinación + Algas marinas (6 ml/L de agua)
4	TS1	Sin enraizante ni sistema de microtúneles.
5	TS2	Sin enraizante ni sistema de microtúneles.

Tabla 2.2 Tratamientos evaluados para estacas

N°	Símbolo	Descripción
1	M1E1D4S1	Madre 1 + Microtúneles de germinación + Fitohormonas (3.5 ml/L de agua)
2	M1E1D5S1	Madre 1 + Microtúneles de germinación + Fitohormonas (4.5 ml/L de agua)
3	M1TS1	Madre 1 + Microtúneles de germinación + sin enraizante
4	M2E2D4S1	Madre 2 + Microtúneles de germinación + Aminoácidos (3.5 ml/L de agua)
5	M2E2D5S1	Madre 2 + Microtúneles de germinación + Aminoácidos (4.5 ml/L de agua)
6	M1TS1	Madre 2 + Microtúneles de germinación + sin enraizante
7	TS2	Sin enraizante ni sistema de microtúneles.

2.5.3 Diseño experimental

En el proyecto se utilizó el diseño de experimentos completamente al azar (DCA), con un arreglo factorial 2x2x2x2 (A x B x C x D) con 7 tratamientos y 15 estacas, para determinar el efecto de las dosis del enraizador y el sistema de microtúneles en el desarrollo de las estacas. De igual manera, para el caso de propagación por semillas se empleó el DCA, pero con un arreglo factorial de 2x3x2 (B x C x D) con 5 tratamientos y 50 semillas, estableciendo el impacto del bioestimulante a base de algas marinas y el sistema previamente descrito líneas arriba (Ver apéndice A).

2.5.3.1 Población, muestra y muestreo

2.5.3.1.1 Semillas

La población está conformada por 300 semillas de *Bursera graveolens*, recolectadas del bosque seco de Santa Elena por la zona de las comunas San Marcos y Aguadita, de la parroquia Colonche.

La muestra (n) se evaluó utilizando la ecuación matemática de Torres (2013), el valor de la población es representada por N, el nivel de confianza (Z) al 95% es un valor de 1,96; el error (E) o nivel de precisión es de 0.05, la proporción de éxito (p) y de fracaso (q) a un valor de 0,5 para nuestra evaluación de muestra, donde se aplicó la ecuación 2.1 y se obtuvo en total 168 semillas a evaluar.

Ecuaciones 2.1 Cálculo del tamaño de la muestra

$$n = \frac{Z^2 * N * p * q}{E^2 * (n - 1) + Z^2 * p * q}$$

El tipo de muestreo es probabilístico y se evaluó a 1 semillas por dosis, siendo 4 tratamientos por las dos áreas de muestra.

2.5.3.1.2 Estacas

En este caso la población es de 280 estacas con un largo de 20 cm y un diámetro de 1 cm, las que fueron recolectadas del bosque seco de Santa Elena el 08 de junio de 2021; estas estacas provienen de dos madres. Por otro lado, la muestra se calculó utilizando la ecuación 2.1, obteniendo un total de 144 estacas a evaluar en el ensayo. El muestreo probabilístico es de 6 estacas por dosis, siendo 2 dosis por los tres tratamientos de los dos padres, en las dos áreas de ensayo.

2.5.3.2 Variables de estudio

Las evaluaciones para los factores en estudio con respecto a las semillas, se muestran en la tabla 2.3:

Tabla 2.3 Variables de estudio para semillas

Variable	Concepto	Categorías	Indicadores	Índices
Calidad de semillas	Información de parámetros y atributos presentes en la planta	Crecimiento vegetativo	Porcentaje de germinación	%
			Número de hojas	No.
			Longitud de la plántula	cm
Sistema	Medio controlado o no controlado donde germinan la semillas	Medio de crecimiento	Microtúnel de germinación	%
			Campo directo	%

Las evaluaciones para los factores en estudio con respecto a las estacas, se muestran en la tabla 2.4:

Tabla 2.4 Variables de estudio para estacas

Variable	Concepto	Categorías	Indicadores	índices
Madres	Información sobre número de hijos	Población	Número de individuos por madre	No
Calidad de plantas propagadas	Información de parámetros y atributos presentes en la planta	Crecimiento vegetativo	Porcentaje de estacas brotadas	%
			Número de brotes por estaca	No.
			Longitud del brote	cm
Sistema	Medio controlado o no controlado donde desarrollan las estacas	Medio de crecimiento	Microtúnel de germinación	%
			Campo directo	%

2.5.3.3 Factores de estudio

Factor A (Árbol progenitor o madre)

- M1=Madre 1
- M2=Madre 2

Factor B (Enraizante)

- E1=Fitohormonas
- E2=Aminoácidos y fitohormonas
- E3=Algas marinas

Factor C (Dosis)

- D1=4 ml/L de agua
- D2=5 ml/L de agua
- D3=6 ml/L de agua
- D4=3.5 ml/L de agua
- D5=4.5 ml/L de agua

Factor D (Sistema de reproducción)

- S1=Microtúneles de germinación
- S2=Campo directo

Testigo

- Sin aplicación de enraizante.

2.5.3.4 Evaluación de indicadores

Los indicadores como: número de hojas, estacas brotadas por madre y de raíces por estaca, fueron evaluados y contabilizados a los 56 días (ocho semanas) desde el día de siembra en el sistema de microtúneles de germinación y a campo directo.

Mientras que, los indicadores como: longitud de la plántula, brote y sistema radicular, fue evaluado y medido con la ayuda de vernier a las 8 semanas de realizada la siembra, los que se sistematizó arrojando un promedio de cada indicador.

El porcentaje de germinación, se evaluó a las ocho semanas, y fue calculado por la ecuación 2.2.

Ecuaciones 2.2 Porcentaje de germinación

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

2.5.4 Análisis estadístico

2.5.4.1 Análisis de varianza

Para el análisis estadístico sobre el efecto de las dosis de promotores radiculares y el sistema de microtúneles en el desarrollo de las estacas y semillas, se aplicó a las diferentes variables el análisis de la varianza (ANOVA). El programa estadístico que se utilizará para el análisis de estos datos es RStudio versión 1.0.143 (RStudio, 2021). Así mismo, se utilizó la prueba Tukey con un intervalo de confianza del 95%, para verificar las diferencias entre las medias de los tratamientos (Ver apéndice B).

2.6 Diseño de protocolo

El protocolo contiene información sobre la caracterización del material reproductivo y la implementación de la propuesta de diseño, todo detallado en un tríptico informativo, para poder replicar el diseño de propagación (Ver apéndice C).

CAPÍTULO 3

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Caracterización del material reproductivo

3.1.1 Características del árbol progenitor

El árbol progenitor para tener material reproductivo debe tener una mediana edad entre 10 a 25 años, encontrarse en su etapa reproductiva, árbol robusto libre de plagas y enfermedades, la recolección en época seca, recomendada en los meses de junio a septiembre.

Según Sánchez (2019), la mediana edad del árbol progenitor para la recolección de estacas es de 12 años de edad, así como el estado fitosanitario, la observación del tallo principal o eje ortotrópico, la altura superior a 5 metro y tallos rectos. Es importante hacer énfasis en que la investigación coincida con este autor, sobre conocer el estado fitosanitario del árbol progenitor, para la propagación de palo santo por estacas.

3.1.2 Selección de estacas

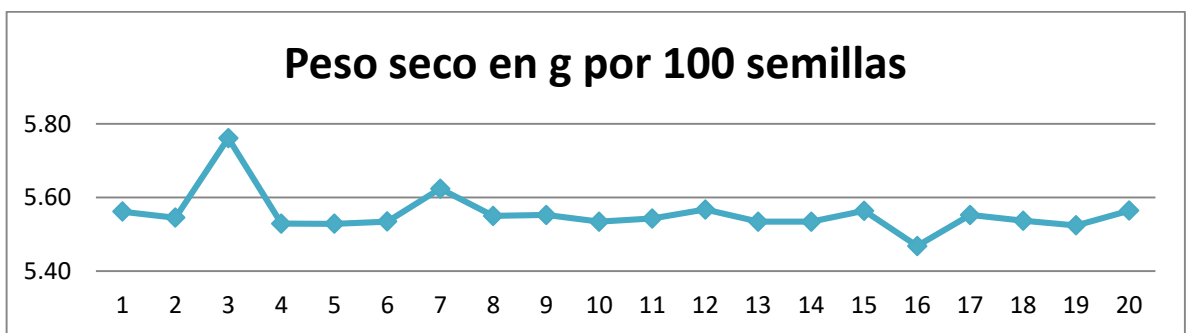
Las estacas seleccionadas tienen una longitud de 20 cm y un diámetro de 1 cm, en lo posible rectas, debido a que, el árbol de palo santo se caracteriza por sus ramas torcidas con un porcentaje de germinación del 7%. Así mismo, Sánchez (2019), logro un porcentaje de enraizamiento del 50% en estacas de estas dimensiones.

3.1.3 Características físicas de las semillas

Las semillas deben ser sin deformación ni protuberancias, la forma de ser angulosa, mientras que la coloración para la siembra se recomienda de un color marrón oscuro o lustroso (Figura 3.1); con respecto al peso seco y el tamaño, los resultados se observan en las gráficas 3.1 y 3.2, respectivamente.

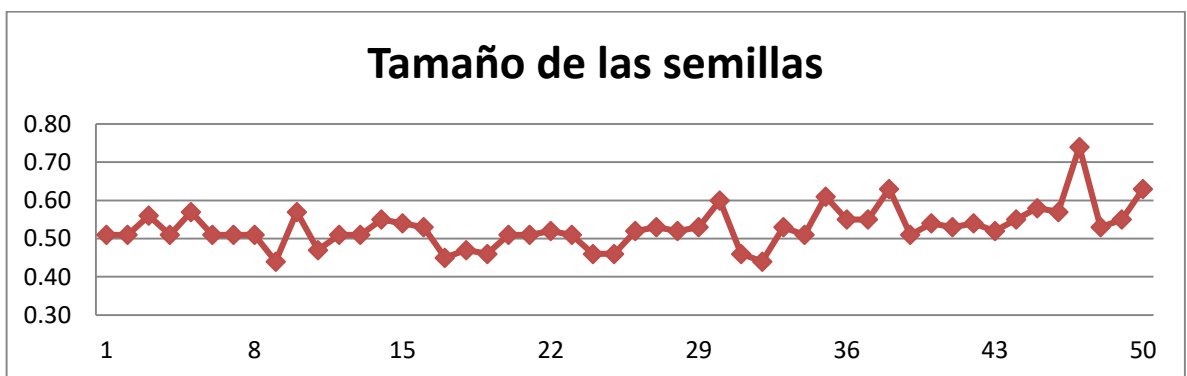


Figura 3.1 Semillas sin deformaciones, en un contraste de colores.



Gráfica 3.1 Peso de las semillas de *Bursera graveolens*.

La media del peso seco de las semillas es de 5.55 g por cada 100 semillas, el valor máximo detectado es de 5.69 y el mínimo es de 5.48 g.

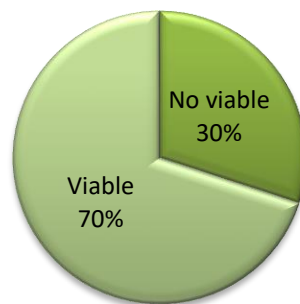


Gráfica 3.2 Tamaño de las semillas de *Bursera graveolens*.

El tamaño máximo de las semillas de palo santo es de 0.79 y el mínimo de 0.40, siendo la media de 0.53 cm.

Las semillas seleccionadas fueron de un peso de 5.55 g por 100 semillas y un tamaño de 0.53 cm, a las que se le evaluó la viabilidad, mediante la prueba de tetrazolio. Con respecto al ensayo, se obtuvo que el 70% de los embriones evaluados presentaron una coloración rojiza, mientras que el 30% no tenía signos de tinción; este resultado indica que más de la mitad de las semillas seleccionadas para el experimento es capaz de germinar, pero no debemos olvidar que la prueba no determina si la semilla se encuentra dormida (dormancia), retrasando la germinación de la nueva planta.

Viabilidad de semillas



Gráfica 3.3 Viabilidad de la semilla mediante prueba de tetrazolio.

Por otro lado, es importante mencionar que no existe investigaciones sobre la evaluación con la prueba de tetrazolio en *Bursera graveolens* o en especies de este género. Flores et al. (2019), evaluando la viabilidad de semillas de *Guaiacum sanctum* L., especie arbórea que habita el bosque seco subtropical y tropical, realizó la prueba de tetrazolio. Concluyendo que la prueba mencionada presentaba resultados en su efectividad, además de tener un grado de efectividad con respecto a la viabilidad de las semillas, porque permite observar directamente la forma y estado del embrión

Por su parte, Chamlaty y Espinoza (2017), experimentaron esta prueba en una de las especies nativas de México, *Oreunnea mexicana* con nombre común Palo zopilote, es una especie maderable que crece en un ecosistema de bosque mesófilo de montaña a 1100-2500 msnm. Con la prueba de tetrazolio se obtuvo una viabilidad de 54%, para comprobar su resultado se germinaron las semillas y se logró un porcentaje del 70%.

La prueba de viabilidad de las semillas *Bursera graveolens*, utilizando la solución de tetrazolio a concentración de 0.5% por una hora, es económico y permite una tinción adecuada, sin dañar los tejidos de las semillas, ni perjudicando la visualización de la viabilidad. Además, de garantizar los resultados de germinación, de manera confiable y precisa según (Espitia et al., 2016)

3.2 Implementación de la propuesta de diseño

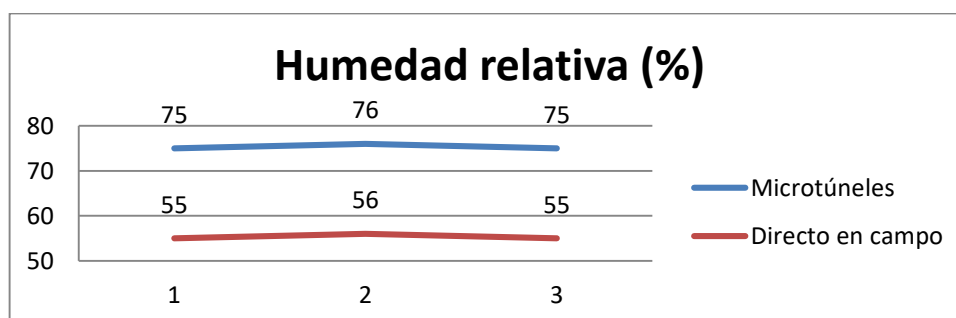
3.2.1 Características de la infraestructura de microtúneles

Los microtúneles usados en la experimentación fueron de dimensiones: 1m de alto, la base de 4m por 1m de ancho. El sustrato de arena fina, debidamente desinfectada y el sistema de riego por nebulización dos por cada microtúnel.

La siembra de las semillas en cada microtúnel debe ser de 200, la misma cantidad que se sembró en los microtúneles, a una profundidad de 2 cm, mientras que la siembra de estacas por cada sistema debe ser de 120, separadas a 10 cm entre ellas. El riego fue diario por 2 horas para obtener una humedad relativa dentro del sistema de microtúneles de 75%.

Con respecto a la temperatura media dentro del microtúnel pueden llegar a alcanzar 45°C, siendo superiores comparadas con la temperatura de siembra directa en campo de 26°C.

La humedad relativa del microtúnel de germinación es superior a la obtenida en campo directo, con una diferencia del 20% (Gráfica 3.4).



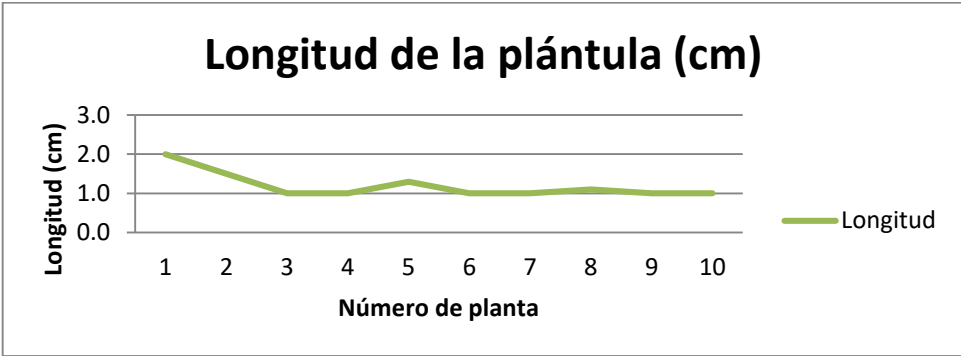
Gráfica 3.4 Humedad relativa evaluada en microtúneles y directo en campo.

Las condiciones de temperatura media y la humedad relativa son de 34°C y de 75% respectivamente en los sistemas de microtúneles, permitiendo la germinación de semillas a 20%, mientras que las condiciones en campo directo obtuvieron el resultado del 0%.

3.2.2 Efecto sobre aplicación de enraizante y utilización de sistemas de microtúneles en semillas y estacas

3.2.2.1 Semillas

El tratamiento E3D3S1, donde se aplicó promotor radicular a base de extracto de algas a una dosis de 6ml/L de agua y fue sembrada en microtúneles de germinación, el porcentaje de germinación de las semillas obtenido fue del 20%; este resultado se obtuvo a las ocho semanas de realizada la siembra. Mientras que la germinación de los otros tratamientos el porcentaje de germinación fue del 0% (Gráfica 3.5).



Gráfica 3.5 Longitud de la nueva plántula germinada.

La media de la longitud de las plántulas que lograron germinar es de 0.9 cm, el máximo valor es de 2 cm y el mínimo de 1 cm. Así mismo, el número de hojas de las nuevas plántulas es de 1 unidad para todas.

El estudio sobre la propagación sexual de *Bursera graveolens* realizada por Morillo et al. (2016) en la comuna Malvas, cantón Zapotillo de la provincia de Loja, menciona que obtuvo un porcentaje de germinación del 20% (considerándose un porcentaje muy bajo), a los 60 días de realizado la siembra, en fundas de polietileno, y pasando por un proceso de escarificación mecánica, mientras que en la escarificación física o química los resultados fueron del 0%.

Por su parte, Condo y Herrera (2011), investigaron sobre la germinación de semillas de *Bursera graveolens* en el cantón Paltas, provincia de Loja; logrando un resultado del 20% de germinación al realizar escarificación mecánica en la semilla. De igual forma, mencionaron que la tasa de germinación nula obtenida en esta especie, se debe a que las semillas se siembran inmediatamente después de la recolección y a su vez al periodo de latencia (característica común de esta especie), no germinando, por ello sugieren que se la siembra se realice a los seis meses de cosechadas las semillas, tal como coincide con Chávez y Namoc (1993).

Bonfil et al. (2008), estudio a seis especies de *Bursera* en México, obteniendo una alta proporción de semillas vacías (próximas al 100%), en especies de *B. grandifolia*, *B. fagaroides* y *B. bipinnata*. Así mismo, el porcentaje de germinación de las cuatro especies (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*) en un ambiente con temperatura fluctuante aumento del 5 al 14%, además de no existir diferencia en la germinación de las semillas almacenadas durante seis meses, a temperatura ambiente y en condiciones de refrigeración. Relacionándose así a su naturaleza endogámica, la cual produce semillas infértiles, debido a su reducida capacidad de supervivencia y reproducción.

La propagación de las semillas de palo santo en microtúneles de germinación y aplicando promotores radiculares a base de algas marinas, previamente seleccionados y verificado la viabilidad de la misma, presenta un porcentaje de germinación del 20% de 50 semillas sembradas a ocho semanas. Esto ocurre debido al aumento de la temperatura y humedad relativa, que permiten crear condiciones óptimas para la germinación; así mismo, el promotor radicular a base de extracto de algas, está compuesto de fitohormonas, las cuales ayudan a incrementar la germinación de las semillas; al respecto Pérez et al. (2020) indica que al aplicar extracto de *Chloella* sp. en semillas de trigo, cebada y maíz, se obtuvo un incremento en la germinación a dos días más rápido que en el experimento de control. También, se detectó un aumento de raíces laterales, las que podrían mejorar la absorción del agua y los nutrientes de la planta, llegando a aumentar su crecimiento.

3.2.2.2 Estacas

En el caso de las estacas, no se logró resultados favorables, solo hubo presencia de brotes, hojas, callos y raíz en una sola estaca (tratamiento M1TS1), mientras que los otros tratamientos con resultado del 0%; debido a que el periodo de evaluación fue de 8 semanas de realizada la siembra en los microtúneles, se presume que el porcentaje de enraizamiento incrementa con el paso del tiempo.

Sánchez (2019) menciona que a los 90 días de establecido el ensayo de propagación vegetativa de *Bursera graveolens*, en la ciudadela de Florón, Portoviejo, provincia de Manabí; obtuvo un porcentaje de enraizamiento del 50% en estacas que miden una longitud de 20 cm, las que fueron expuestas a un enraizamiento a base de savia de aloe vera (látex compuesta por antraquinonas y glucósidos) y un sustrato con tamo de arroz. Mientras que, las estacas con enraizadores a base de auxinas, solo emitieron brotes y no raíces.

En la comuna Malvas, cantón Zapotillo de la provincia de Loja, Morillo et al. (2016) realizó propagación asexual de *Bursera graveolens*, utilizando estacas de 25-30 cm de longitud, además de hormonas comerciales como Hormonagro 1 y Enraizador H.V., con compuesto activo de Ácido Alfa Naftalenacético (ANA). A los 15 días después de la siembra en invernadero, se logró un porcentaje de formación de brotes del 62% con el tratamiento del Enraizador H.V., pero a los dos meses de la siembra las estacas tenían un 100% de mortalidad; indicando que ello podría ser por causas externas como la utilización y dosis aplicada de hormonas enraizantes. Por su parte Mero et al., (2017) estudió la multiplicación vegetativa de *Bursera graveolens* en un invernadero de la localidad de Manabí, utilizando enraizador de tipo auxínico (AIB) y un sustrato a base de tierra del bosque seco, tierra de guaba y arena del río (4:2:1). En el día 60 después de la siembra se alcanzó el 67% de formación de brotes, lo que llevó a ninguna formación de raíces.

En la experimentación que realizó Bonfil et al. (2008) al propagar asexualmente a especies del género *Bursera*, los cuales fueron: *B. lancifolia*, *B. longipes*, *B. fagaroides*, *B. bicolor*, *B. glabrifolia*, *B. copallifera* y *B. bipinnata*. Las estacas fueron sembradas en fundas de polietileno y se aplicó enraizante de tipo auxínico (10 000 y 1500 ppm); a los cuatro meses, se obtuvo un porcentaje de formación de callos fue de 27-85% en las seis especies evaluadas. No obstante en la formación de raíces en las especies *B. longipes* y *B. Bicolor* fue de 9 y 11% respectivamente, este resultado se obtuvo a los 30 días después de la siembra. Sin embargo, a los 60 días presentó una mortalidad del 100% en todos los tratamientos incluido el testigo. En tal sentido, Loeza et al., (2013) menciona que para lograr la formación de raíces adventicias en *B. morelensis* es importante que el nivel de lignificación de las estacas a enraizar sean 0 donde se consideró como nivel bajo con un porcentaje de enraizamiento de 42.8%, mientras el caso de *B. galeottiana* se recomienda un grado de lignificación 1 (mayor nivel) con un porcentaje de enraizamiento del 22%, esto basado en la premisa que la aplicación de auxinas tiene un efecto mayor sobre los tejidos poco lignificados de las especies forestales, por ende un mayor porcentaje de raíces caulinares y volumen radicular.

Vásquez et al. (2019) Indica que realizó un estudio sobre la propagación por estacas de tres especies de *Bursera* en México, en un vivero utilizando sustrato mezclado de 50% de turba, 25% de agrolita y 25% de vermiculita, sembrado en bolsas de polietileno negro, con enraizante a base de ácido indol-3-butírico en concentraciones de 0.3 y 1%, y una solución de alfa-naftilacetamida (0.12%) con ácido indol-3-butírico (0.06 %). A los seis meses se evaluó y se obtuvo un porcentaje de enraizamiento del 20% en *Bursera bipinnata*, 6.25% en *Bursera glabrifolia* y 2.34% en *Bursera copallifera*. Los mejores resultados se obtuvieron con ácido indol-3-butírico concentración 3%, obteniendo un porcentaje de enraizamiento de 14.47%. Mientras que, la solución de ácido indol-3-butírico con alfa-naftilacetamida, presento porcentajes similares al testigo, no presentando diferencia significativa, los valores fueron de 7.5 y 2.5 respectivamente. Así mismo, los porcentajes de formación de callos y de brotes aéreos son superiores en comparación del porcentaje de enraizamiento en todas las especies; uno de los casos más representativos es la especie *Bursera bipinnata* obtuvo un 20% de formación de raíces, 24.37% formación de callos y 30% brotes aéreos.

Estudios sobre la propagación sexual o asexual de *Bursera graveolens* son escasos, por ello, se investigó sobre el género de esta especie. La mayoría de los autores con respecto a la propagación asexual de *Bursera graveolens* y especies del mismo género, coinciden en que la aplicación de enraizadores a base de auxinas en las estacas; se observa la formación de brotes, más no existe resultado significativo sobre la formación de raíces, coincidiendo en que las auxinas no promueven a la formación de raíces en *Bursera graveolens*, pero si la formación de brote. También, hacen especial énfasis, sobre la mortalidad de la especie, indicando que transcurrido el periodo aproximadamente de dos meses el porcentaje de mortalidad del 100%.

Así mismo, es importante mencionar que no existe estudios o investigaciones sobre la propagación por semilla y estacas de *Bursera graveolens* o especies de este género, en un sistema de microtúneles y utilizando enraizantes a base de fitohormonas, aminoácidos y algas marinas, o de otro tipo. Por ello, la investigación se realizó apoyándose de otras especies arbóreas como: *Guazuma crinita* Mart., *Tectona grandis* L. y *Gmelina arborea* Roxs, las cuales fueron propagadas en este tipo de sistema y aplicando promotores radiculares.

La propagación vegetativa por estacas es efectiva en un porcentaje de enraizamiento del 96.7% de bolaina blanca (*Guazuma crinita* Mart.) realizada por Basauri (2017) en Ucayali, Perú; bajo un sistema de microtúnel y utilizando enraizante Rapid Root (compuesto activo AIB) de 3000 ppm, logró. También, menciona que la propagación en un sistema de microtúneles para esta especie mejoro no solo el porcentaje de enraizamiento sino la sobrevivencia de las estacas a un 98.9%; el sustrato a base de arena fina logro el enraizamiento del 91,3% y el porcentaje de formación de brotes del 100%.

Abdelnour & Muñoz (2005) en Costa Rica, estudio a la especie *Tectona grandis* L. (teca), donde utilizo concentraciones de sales (completa o reducida a la mitad), ácido indolbutírico (AIB) en concentraciones de 2.5, o 25 mg/l, para la formación de brotes es estacas y utilizando microtúneles. El porcentaje de enraizamiento del 96% en el testigo y el tratamiento que fue sembrado en el sitio de siembra y solo se le aplico 25 mg/l AIB en agua, por tres minutos obtuvo un porcentaje de 92%. Así mismo, el tratamiento 6, sembrado en un sistema de microtúneles, logró un 62% de enraizamiento.

La investigación realizada por Valencia (2020), en aplicación de hormonas comerciales como AIB ACI para el enraizamiento de *Gmelina arborea* Roxs (Melina) y en microtúneles de germinación con sustrato de turba, obtuvieron un porcentaje de enraizamiento de 91%, el desarrollo fue en el tallo, logrando un incremento significativo en la altura y diámetro; así mismo, se obtuvo una mortalidad de 0%.

Peña, A. (2019) estudio la multiplicación vegetativa de la especie de *Cedrela odorata* L. con nombre común cedro en un sistema de microtúneles y utilizando hormonas enraizadores, mezcla de AIB y ANA en diferentes dosis de 500, 1000, 1500 $mg\ kg^{-1}$. El resultado indica que el mayor porcentaje de formación de brotes (14%) a una dosis mezcla de hormonas a 15000 $mg\ kg^{-1}$. Por el contrario en las variables de: número de raíces, longitud de la raíz mayor y longitud de raíces promedio es inferior a los resultados obtenidos por el testigo.

Los resultados negativos obtenidos en la experimentación y comparados con la de otros autores, indican que la aplicación de promotores radiculares a base de auxinas en la especie de palo santo no permite el desarrollo de las raíces, tan solo promueve el desarrollo de brotes. Estos resultados se pueden atribuir a la pérdida excesiva de la secreción de resina, al momento de realizar el corte en el tallo, impidiendo la formación de callos, y por consecuencia la emisión de raíces. Al respecto Loeza et al., (2013) menciona que las especies de *Bursera* son árboles resinosos, con diferencias en sus resinas; por ejemplo *B. morelensis* tiene una resina menos viscosa y un porcentaje de enraizamiento del 22%, comparada con *B. galeottina* con resinas más viscosa y porcentaje de enraizamiento del 0%.

3.3 Guía de un sistema de propagación sexual y asexual

El diseño de un sistema de propagación sexual y asexual en microtúneles de germinación y aplicación de promotores radiculares en *Bursera graveolens* (Ver apéndice A), detalla información específica sobre las características a considerar para identificar a un árbol progenitor y las dimensiones de las estacas, peculiaridades físicas de las semillas, particularidades de la infraestructura de microtúneles y el efecto de la aplicación de promotores radiculares en semillas y estacas (Figura 3.1).

4.1. Prueba de tetrazolio

Diagrama# 1: Procedimiento de la prueba de tetrazolio.

6. Siembra de semillas y estacas

El número de estacas por cada microtúnel es de 120 y sembradas a una distancia de 10 cm. Por otro lado, la siembra de semillas es de 200 por cada microtúnel y a una profundidad de 2 cm

espol Facultad de Ciencias de la vida

Protocolo de germinación y de propagación vegetativa de palo santo (*Bursera graveolens*)

5. Aplicación de fitohormonas

La aplicación de extracto a base de algas marinas a una dosis de 6 ml por litro de agua, para 100 semillas, durante un periodo de 24 horas antes de realizado la siembra.

6. Manejo agronómico:

El riego debe ser diario por dos horas; a una temperatura de germinación de 45°C y humedad relativa del 75%.

Sol Soca
solbsoca@espol.edu.ec

Figura 3.2 Tríptico de propagación sexual y asexual de *Bursera graveolens*.

CAPÍTULO 4

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- El material reproductivo usado en la experimentación tuvo parámetros físicos de tamaño 0.53 cm y peso de 5,55 g por 100 semillas.
- Se determinó con la prueba de viabilidad de tetrazolio, que las semillas recolectadas de *Bursera graveolens* tiene un 70% de viabilidad, mostrando la potencialidad de germinación de las semillas.
- El material vegetativo de madre progenitor fue seleccionado de acuerdo a parámetros como: árbol en etapa de fructificación, estado fitosanitario libre de plagas y enfermedades; para las estacas recolectadas en el mes de junio, a un tamaño de 20 cm de largo y un diámetro de 1 cm cada estaca.
- El sistema de microtúneles de germinación puede llegar a incrementar una temperatura de 45°C y humedad relativa a un 75%, además de crear condiciones ambientales controladas, para asegurar la germinación de semillas de palo santo.
- En las semillas la aplicación de extracto de algas marinas a una dosis de 6 ml/l de agua y la combinación con la siembra en microtúneles, acelero el proceso y se obtuvo un 20% de germinación a las 8 semanas, esto debido a las condiciones de temperatura y humedad idónea para su germinación, así como el efecto de las fitohormonas en las semillas, mostrando un efecto sinérgico en la germinación de palo santo.
- La propagación de estacas de *Bursera graveolens* utilizando promotores radiculares a base de fitohormonas o aminoácidos, no desarrolla raíces ni brotes durante el periodo de ocho semanas.

4.2 Recomendaciones

- La Implementación de un protocolo de germinación y propagación vegetativa, permitirá mayores porcentajes de germinación en palo santo, ya que se controla las condiciones ambientales y se promueve el enraizamiento dentro de un sistema de microtúneles y aplicación de promotores radiculares.
- Se recomienda seguir con las investigaciones, sobre la reacción de compuestos de la madera de palo santo con las auxinas o fitohormas, ya que no permiten el enraizamiento en estacas.

BIBLIOGRAFÍA

Abad, C., Jiménez, L. & Capa, E. (2020). Efecto de la cubierta (microtúnel) en la productividad de dos variedades de fresa (*Fragaria vesca*) en el sector Cajanuma cantón Loja. *La Granja*, 31 (1),131-141.

Abdeinour, A. & Muñoz, A. (2005). Micropagación de teca (*Tectona grandis* L.f.). *Revista Forestal Kurú*, 2(5). Accedido el 24 de agosto, 2021, desde <https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/541/467>

Aguirre, Z. (2002). Árboles austro ecuatorianos poco conocidos. *Botánica Austroecuatoriana*. Editorial UTPL. Universidad Nacional de Loja, Loja. Ecuador. 351-374 p.

Aguirre, Z. (2012). Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su identificación y caracterización. Proyecto Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático. MAE/FAO – Finlandia. Quito, Ecuador. 130 p.

Aguirre, Z. (2018). Biodiversidad ecuatoriana: estrategias, herramientas e instrumentos para su manejo y conservación (1rd ed). Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador.

Basauri, Y. (2017). Propagación vegetativa por estacas de bolaina blanca (*Guazuma crinita* Mart.) mediante minitúneles en ambientes controlados en San Alejandro, Irazola – Ucayali. Universidad Nacional Agraria la Molina.

Borja, R., Julca, A., & Alvarado, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva Andina Biosphere*. 8(2), 150-164. Accedido el 24 de junio, 2021, desde http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v8n2/v8n2_a07.pdf

Bonfil, C., Cajero, I. & Evans, R. (2008). Germinación de semillas de seis especies de Bursera del centro de México. *Revista Agrociencia*, 42(7), 827-834. México: Texcoco.

Cárdenas, E. (2015). Rendimiento de dos variedades de coliflor (*Brassica oleracea* L.), sometido a tres abonos orgánicos bajo sistemas protegidos de microtúneles en el cantón Cayambe, provincia de Pichincha. Universidad técnica de Babahoyo – Facultad de ciencias agropecuarias. Ecuador.

Centro Mesoamericano de Desarrollo Sostenible del Trópico Seco. (2010). *Capacitación en “Diseño y establecimiento de sistemas de producción agropecuaria sostenible”, la Cruz Guanacaste*. Universidad Nacional de Costa Rica.

Chávez, J. (02 de enero de 2017). *Bursera graveolens* (Palo santo) incienso, usos y beneficios. EcuadorianHands. Accedido el 18 de junio, 2021, desde <https://ecuadorianhands.com/es/blog/post/bursera-graveolens-palo-santo-incienso-usos-y-beneficios.html>

Chamlaty, Y. & Espinoza, J. (2017). Protocolo para conocer la viabilidad de *Oreomunnea mexicana* con fines de conservación y restauración ecológica. Red de viveros de biodiversidad.

Chiado, R. & Coba, M. (2018). Estudio de suelos en las áreas de mayor concentración de Palo santo. Santa Elena: Gobierno Provincial de Santa Elena.

Condo, A. & Mendoza, N. (2011). Fenología y germinación de especies nativas del bosque andino en la comuna Collana-Catacocha, provincia de Loja. Universidad Nacional de Loja.

Espitia, M., Araméndiz, H. & Cardona, C. (2016). Características morfométricas, anatómicas y viabilidad de semillas de *Cedrela odorata* L. y *Cariniana pyriformis* Miers. *Revista Agronomía Mesoamericana*. 28(3), 605-617.

Espitia, C., Cardona, C., & Araméndiz, H. (2017). Morfología y viabilidad de semillas de *Bombacopsis quinata* y *Anacardium excelsum*. *Revista cultivos tropicales*. 38 (4), 75-83.

Flores, A., Ferrufino, L. & López, V. (2019). Viabilidad de semillas de guayacán (*Guauacum sanctum* L., Zygophyllaceae) posterior a dos tratamientos germinativos. *Revista Portal de la Ciencia*, 1(16).

Giraldo, L., Ríos, H., & Polanco, M. (2009). Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación de suelos. *Revista de investigación agraria y ambiental*. 0 (1), 41-47.

Grupo semillas. (2018). Producción y conservación de semillas nativas y criollas de buena calidad y sanidad. Accedido el 27 de junio del 2021, desde https://www.semillas.org.co/apc-aa-files/5d99b14191c59782eab3da99d8f95126/cartilla-produccion-de-semillas_web_1.pdf

Loeza, J., Díaz, E., Campos, J. & Orlando, J. (2013). Efecto de lignificación en estacas sobre enraizamiento de *Bursera morelensis* Ram. y *Bursera galeottiana* Engl. *Revista Ciencia Ergo Sum*, 20(3), 222-226.

López, I., Martínez, L., Pérez, G., Reyes, Y., Núñez, M. & Cabrera, J. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultrop*, 41 (2). Accedido el 24 de junio, 2021, desde http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362020000200010

Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2016). Estrategia nacional de biodiversidad 2015-2030 (1rd ed.). Accedido el 15 de junio, 2021, desde <http://maetransparente.ambiente.gob.ec/documentacion/WebAPs/Estrategia%20Nacional%20de%20Biodiversidad%202015-2030%20-%20CALIDAD%20WEB.pdf/978-9942-22-081-3>.

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (2018). Bosque seco ecuatoriano es parte de la red mundial de reservas de biosfera de la UNESCO. Accedido el 15 de junio, 2021, desde <https://www.ambiente.gob.ec/bosque-seco-ecuatoriano-es-parte-de-la-red-mundial-de-reservas-de-biosfera-de-la-unesco/>

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (2021). Ecuador lidera procesos de transformación hacia una producción sostenible libre de deforestación. 025. Accedido el 15 de junio, 2021, desde <https://www.ambiente.gob.ec/ecuador-lidera-procesos-de-transformacion-hacia-una-produccion-sostenible-libre-de-deforestacion/>

Miserendino, E. (2011). *Manual para la construcción de microtúneles* (1ra ed.). Valle inferior: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Morillo, L., Eras, V., Moreno, J., Minchala, J., Muñoz, L., Yaguana, M., Poma, R., Valarezo, C. & Sinche, M. (2016). Estudio fenológico y propagación de *Bursera graveolens* (kunth) Triana & Planch, en la comunidad de Malvas, Cantón Zapotillo, provincia de Loja.

Morgan, M. & Shibu, J. (2013). Increasing seed germination of *Bursera graveolens*, a promising tree for the restoration of tropical dry forests. *Tree Planters' Notes*, 56(1), 74-83.

Naciones Unidas. (2021). Día internacional de la diversidad biológica, 22 de mayo. Accedido el 15 de junio, 2021, desde <https://www.un.org/es/observances/biodiversity-day/convention>.

Novaric. (2016). Riego por nebulización. Accedido el 27 de junio, 2021, desde <https://www.novagric.com/es/riego/sistemas-de-riego/riego-por-nebulizacion>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2021). *Microtuneles*. FAO. Accedido el 27 de junio, 2021, desde <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/230117/>

Osuna, H., Osuna, A. & Fierro, A. (2017). Manual de propagación de plantas superiores (1rd ed). Universidad Autónoma Metropolitana. Xochimilco, México.

Peña, A. (2019). Empleo de una técnica de propagación asexual para la conservación de la especie *Cedrela Odorata* L. (cedro). Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Puecas, M. (2011). Estudio dendrológico de la especie *Bursera graveolens*-Palo Sato, Región Tumbes (Universidad Nacional de Tumbes). Tumbes, Perú. 7 p.

RStudio. (2021). RStudio Connect 1.9.0 – Content Curation Tools. Accedido el 27 de junio, 2021, desde <https://blog.rstudio.com/2021/07/29/rstudio-connect-1-9-0/>

Ruiz, M. (2019). El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio cebadilla chaqueña. Accedido el 27 de junio, 2021, desde https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-el_analisis_de_tetrazolio_en_el_control_de_calidad_de_.pdf

Sánchez, M. (2019). Prendimiento de *Bursera graveolens* (kunth) Triana & Planch, en etapa de vivero usando combinación de sustratos y enraizante natural. Editorial UNESUM. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Manabí. Ecuador. 3-5 p.

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2017). Resumen ejecutivo evaluación del programa Nacional de restauración forestal con fines de conservación ambiental, protección de cuencas y beneficios alternos. Quito, Ecuador.

Torres, B., Fischer, R., Vargas, J. & Gûnter, S. (2020). Deforestación en paisajes forestales tropicales del Ecuador: bases científicas para perspectivas políticas. Universidad Estatal Amazónica – Instituto Johan Heinrich von Thûnen. Puyo, Ecuador.

Pérez, Y., López, I. & Reyes, Y. (2020). Las algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Revista Cultivos tropicales*, 41(2). Accedido el 21 de agosto del 2021, desde http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362020000200009#B3

Valencia, V. (2020). Evaluación del enraizamiento de explantes *Gmelina arborea* Roxs con el empleo de tres hormonas comerciales y tres sustratos. Universidad Estatal del Sur de Manabí.

Vásquez, I., Cetina, V. & Mohedano, L. (2019). Propagación asexual de *Bursera glabrifolia*, *Bursera copallifera* y *Bursera bipinnata* bajo tratamientos de enraizadores en condiciones de vivero. Revista agro productividad, 12(10), 17-22.

APÉNDICES

APÉNDICE A

Datos del diseño experimental

	Bloques al azar
Tipo de diseño	Factorial 2x3x2
Factor B	2
Factor C	3
Factor D	2
Tratamientos	5
Semillas por unidad	50

Figura A 1 – Diseño experimental de semillas.

	Bloques al azar
Tipo de diseño	Factorial 2x2x2x2
Factor A	2
Factor B	2
Factor C	2
Factor D	2
Tratamientos	7
Esquejes por unidad	15

Figura A 2 – Diseño experimental de estacas.

APÉNDICE B

Análisis estadístico

Análisis de la varianza

4 ml/L

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
4 ml/L	15	sd		sd	sd

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	14	0,00	sd	sd
Semillas	0,00	14	0,00	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	0,00	14			

5ml/L

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
5ml/L	15	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,93	14	0,07	sd	sd
Semillas	0,93	14	0,07	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	0,93	14			

6 ml/L

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
6 ml/L	15	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,40	14	0,17	sd	sd
Semillas	2,40	14	0,17	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	2,40	14			

Figura B 1 – ANOVA de tratamiento de semillas.

Análisis de la varianza

NO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
NO	15	sd		sd	sd

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	14	0,00	sd	sd
Microtúneles	0,00	14	0,00	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	0,00	14			

SI

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
SI	15	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,40	14	0,17	sd	sd
Microtúneles	2,40	14	0,17	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	2,40	14			

Figura B 2 – ANOVA de microtúneles.

APÉNDICE C

Tríptico de propagación sexual y asexual aplicando enraizadores comerciales en un sistema de microtúneles de germinación

4.1. Prueba de tetrazolio



Diagrama #1: Procedimiento de la prueba de tetrazolio.

5. Aplicación de fitohormonas

La aplicación de extracto a base de algas marinas a una dosis de 6 ml por litro de agua, para 100 semillas, durante un periodo de 24 horas antes de realizado la siembra.



6. Siembra de semillas y estacas

El número de estacas por cada microtúnel es de 120 y sembradas a una distancia de 10 cm. Por otro lado, la siembra de semillas es de 200 por cada microtúnel y a una profundidad de 2 cm



6. Manejo agronómico:

El riego debe ser diario por dos horas; a una temperatura de germinación de 45°C y humedad relativa del 75%.

Protocolo de germinación y de propagación vegetativa de palo santo (*Bursera graveolens*)



Sol Soca
solbsoca@espol.edu.ec

espol Facultad de Ciencias de la vida

Figura C 3 - Protocolo de propagación de palo santo página 1.

Presentación

El presente documento cuenta con información relevante sobre protocolos de germinación y propagación vegetativa de palo santo mediante la validación de prototipo de microtúneles, para el desarrollo de la especie. Se define las características del material reproductivo mediante el análisis de parámetros físicos de las semillas y del material vegetativo. Así como, información relevante sobre la implementación de microtúneles y aplicación promotores radiculares en el material reproductivo, para el aumento del porcentaje de germinación.

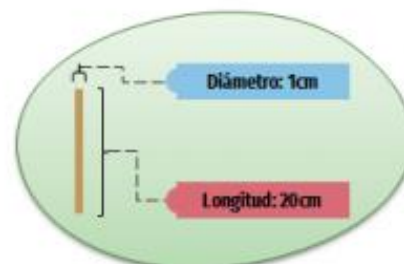
1. Construcción de microtúneles

Las dimensiones del microtúneles deben ser de 1 metro de alto, la base de 4m de largo y 1m de ancho. Con un sistema de riego por nebulizador (2 por cada microtúnel). El sustrato debe ser de arena fina, debidamente desinfectada.



3. Selección de estacas

Las dimensiones de las estacas deben ser de 20cm de largo por 1cm de diámetro.



”

Los bosques y los árboles contribuyen mucho más al sustento de los seres humanos de lo que comúnmente se cree, desempeñando un papel crucial para la seguridad alimentaria, el agua potable, la energía renovable y las economías rurales.

“

2. Material reproductivo

Se recomienda recolectar las estacas en época seca, el árbol debe ser joven y en etapa reproductiva; además, robustos, libres de plagas y enfermedades.

Por otra parte, las semillas se deben recolectar en la época de fructificación anual.

4. Selección de semillas

Las semillas deben ser sin deformaciones, de color marrón oscuros, deben tener un peso de 5.55 g por 100 semillas, un tamaño de 0.53 cm y una vialidad mayor al 70%, la cual es analizada con la prueba de tetrazolio.

Figura C 4 - Protocolo de propagación de palo santo página 2.