

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB- 12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN	Página	1/1

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES):

NOMBRE(S): OBALDO APELLIDOS: SEPULVEDA RIOS

NOMBRE(S): _____ APELLIDOS: _____

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA PECUARIA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): RUBÉN DARÍO APELLIDOS: CARREÑO CORREA

CODIRECTOR:

NOMBRE(S): _____ APELLIDOS: _____

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN *LEUCAENA* (*Leucaena leucocephala* W.) Y BOTÓN DE ORO (*Tithonia diversifolia* G.) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL

RESUMEN

Leucaena (*Leucaena leucocephala*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*) son forrajeras con potencial para alimentación animal que presentan bajos niveles de germinación por condiciones de latencia de la semilla. La investigación analizó para estos dos forrajes en condiciones de vivero, variables como porcentajes de germinación (PG), tiempo para germinar (TG), tiempo para formar hojas seminales (THS) y nomófilas (THN). Post germinación analizó la longitud del tallo (LT), longitud raíz (LR), peso de la planta sin raíz (PPR), peso de la raíz (PR) y número de hojas por planta (NHP). Se utilizó un diseño factorial A*B completamente al azar evaluando: a) concentraciones de ácido sulfúrico de 35, 50 y 65% en semillas de *L. leucocephala* con inmersiones de 13, 16.5 y 20 minutos. b) 10, 20 y 30% de ácido con igual tiempo de inmersión para *T. diversifolia*. c) agua a 50, 70 y 90 °C durante 2, 4 y 6 minutos para *L. leucocephala* y *T. diversifolia*. El mejor resultado para PG fue con a agua a 90°C durante un tiempo de inmersión de 4 minutos y el menor TG fue utilizando ácido al 65% con inmersión durante 13 minutos; no se encontraron diferencias significativas en cuanto a THS y THN. El mejor resultado de las variables pos germinación se registró con la escarificación a base de ácido y la mayor cantidad de NHP fue utilizando la escarificación hidrotérmica. Los experimentos con botón de oro no fueron exitosos registrándose niveles de germinación muy bajos. Se concluye que a mayor concentración de ácido sulfúrico y temperatura del agua se obtiene mayor PG, esto sin tener en cuenta el tiempo de inmersión. Al utilizar la m a y o r concentración de ácido se reduce el tiempo requerido para TG.

PALABRAS CLAVE: PRE germinación, (*Leucaena leucocephala* W.), (*Tithonia diversifolia* G.)

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 125 PLANOS: _____ ILUSTRACIONES: _____ CD ROOM: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
Fecha	24/10/2014	Fecha	05/12/2014	Fecha	05/12/2014

COPIA NO CONTROLADA

TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN *LEUCAENA* (*Leucaena leucocephala* W.) Y
BOTÓN DE ORO (*Tithonia diversifolia* G.) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA
ALIMENTACIÓN ANIMAL

OBALDO SEPULVEDA RIOS

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA PECUARIA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2020

TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN *LEUCAENA* (*Leucaena leucocephala* W.) Y
BOTÓN DE ORO (*Tithonia diversifolia* G.) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA
ALIMENTACIÓN ANIMAL

OBALDO SEPULVEDA RIOS

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Ingeniero Pecuario

Director

RUBÉN DARÍO CARREÑO CORREA

Ingeniero de Producción Animal

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA PECUARIA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2020

**ACTA DE SUSTENTACIÓN TRABAJO DE GRADO
MODALIDAD INVESTIGACIÓN**

FECHA: 27 de mayo de 2020

HORA: 10:00 a.m.

LUGAR: Sesión virtual (Videoconferencia por plataforma Google meet)

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA PECUARIA

TITULO DEL TRABAJO DE GRADO: "TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN LEUCAENA (*Leucaena leucocephala* W.) Y BOTÓN DE ORO (*Tithonia diversifolia* G.) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL"

JURADOS: EFRAIN FRANCISCO VISCONTI MORENO
SEIR ANTONIO SALAZAR MERCADO
CAMILO ERNESTO GUERRERO ALVARADO

DIRECTOR: RUBEN DARIO CARREÑO CORREA

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CÓDIGO	CALIFICACIÓN
OBALDO SEPULVEDA RIOS	1630409	4.3

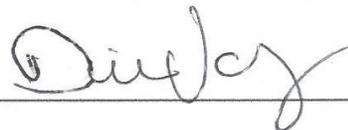
OBSERVACIONES:

APROBADO

FIRMA DE LOS JURADOS:



VoBo. Coordinador Comité Curricular





**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES PARA
LA CONSULTA, LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y LA
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO**

Cúcuta,

Señores
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS
Ciudad

Cordial saludo:

Obaldo Sepulveda Rios, identificado(s) con la C.C. N° 1.093.762.463, autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN *LEUCAENA* (*Leucaena leucocephala* W.) Y BOTÓN DE ORO (*Tithonia diversifolia* G.) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL presentado y aprobado en el año 2020 como requisito para optar al título de Ingeniero Pecuario; autorizo (amos) a la biblioteca de la Universidad Francisco de Paula Santander, Eduardo Cote Lamus, para que con fines académicos, muestre a la comunidad en general a la producción intelectual de esta institución educativa, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo de grado en la página web de la Biblioteca Eduardo Cote Lamus y en las redes de información del país y el exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad Francisco de Paula Santander.
- Permita la consulta, la reproducción, a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato CD-ROM o digital desde Internet, Intranet etc.; y en general para cualquier formato conocido o por conocer.

Lo anterior, de conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la ley 1982 y el artículo 11 de la decisión andina 351 de 1993, que establece que “**los derechos morales del trabajo son propiedad de los autores**”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Obaldo Sepulveda R.
FIRMA Y CEDULA

1.093.762.463

Contenido

	pág.
Introducción	19
1. Problema	22
1.1 Título	22
1.2 Planteamiento del Problema	22
1.3 Formulación del Problema	24
1.4 Justificación	24
1.5 Objetivos	27
1.5.1 Objetivo general	27
1.5.2 Objetivos específicos	27
1.6 Delimitaciones	28
1.6.1 Delimitación temporal	28
1.6.2 Delimitación espacial	28
1.6.3 Delimitación conceptual	28
2. Marco Referencial	29
2.1 Antecedentes	29
2.2 Marco Teórico	31
2.2.1 Clasificación taxonómica	31
2.2.2 Composición nutricional	32
2.2.3 Selección de la semilla de <i>Leucaena</i>	32
2.2.4 Producción de plántulas de <i>Leucaena</i> en vivero	33
2.2.5 Establecimiento <i>Leucaena</i>	35
2.2.6 Selección de semilla de botón de oro	36

2.2.7 Producción de plántulas de botón de oro en vivero	36
2.2.8 Establecimiento del botón de oro	39
2.2.9 Compostaje	40
2.2.10 Latencia-Adormecimiento	43
2.2.11 Técnicas y métodos de pre germinación	43
2.3 Marco Conceptual	44
2.4 Marco Legal	47
3. Diseño Metodológico	49
3.1 Tipo de Investigación	49
3.2 Población y Muestra	49
3.2.1 Población.	49
3.2.2 Muestra.	49
3.3 Diseño de Experimentos	49
3.4 Hipótesis	52
3.5 Variables Dependientes	52
3.6 Fases de la Investigación	53
3.6.1 Ubicación	53
3.6.2 Procedencia de la semilla	53
3.6.3 Selección y desinfección de las semillas de <i>Leucaena</i> y botón de oro	55
3.6.4 Preparación del compostaje (gallinaza) en pila estática aireada	56
3.6.5 Preparación del compostaje de bovinaza en pila estática aireada	56
3.6.6 Aplicación de las técnicas de pre germinación en las semillas de <i>Leucaena</i> y botón de oro	58
3.6.7 Siembra y desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> y botón de oro	59

3.6.8 Riego	63
3.6.9 Registro de variables en las plantas de <i>Leucaena</i>	63
3.6.10 Registro de variables en las plantas de botón de oro	64
3.7 Análisis de Datos	64
4. Resultados	66
4.1 Compostaje	66
4.2 Variables Ambientales	67
4.3 Semillas de <i>Leucaena</i> Sumergidas en Ácido Sulfúrico a Diferentes Concentraciones y Tiempos de Inmersión	69
4.3.1 Nivel de germinación (%) de semillas de <i>Leucaena</i>	69
4.3.2 Tiempo para germinación de semillas de <i>Leucaena</i>	71
4.3.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de <i>Leucaena</i>	72
4.3.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de <i>Leucaena</i>	75
4.3.5 Supervivencia en el cultivo de <i>Leucaena</i>	75
4.3.6 Morfometría en las plantas de <i>Leucaena</i>	75
4.3.7 Materia seca de las plantas de <i>Leucaena</i>	82
4.4 Semillas de <i>Leucaena</i> Sumergidas en agua a Diferentes Temperaturas y Tiempos de Inmersión	84
4.4.1 Nivel de germinación (%) de semillas de <i>Leucaena</i>	84
4.4.2 Tiempo para germinación de semillas de <i>Leucaena</i>	85
4.4.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de <i>Leucaena</i>	86
4.4.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de <i>Leucaena</i>	86
4.4.5 Supervivencia en el cultivo de <i>Leucaena</i> con el experimento a base de agua a diferentes temperaturas	89

4.4.7 Materia seca de las plantas de <i>Leucaena</i>	97
4.5 Semillas de Botón de oro Sumergidas en Ácido Sulfúrico a Diferentes Concentraciones y Tiempos de Inmersión	98
4.5.1 Nivel de germinación (%) de semillas de botón de oro	98
4.5.2 Tiempo germinar las plántulas de botón de oro	100
4.5.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de botón de oro	100
4.5.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de botón de oro	101
4.6 Registro de Variables en Laboratorio	101
5. Discusión	102
6. Conclusiones	109
7. Recomendaciones	110
Referencias Bibliográficas	111
Anexos	124

Lista de Tablas

	pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de la <i>Leucaena</i> y el botón de oro	32
Tabla 2. Composición porcentual nutricional de la <i>Leucaena</i> y el botón de oro	32
Tabla 3. Tratamientos evaluados como técnicas de pre germinación en <i>Leucaena</i> y botón de oro	61
Tabla 4. Análisis químico del compost utilizado para la siembra de la <i>Leucaena</i> y el botón de oro	67
Tabla 5. Nivel de germinación (%) de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos	70
Tabla 6. Nivel de germinación (%) de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según los factores (Factor A: concentración de ácido sulfúrico y Factor B: Tiempo de inmersión)	71
Tabla 7. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos a base de ácido sulfúrico	72
Tabla 8. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según factores (concentración del ácido y tiempo de inmersión)	74
Tabla 9. Supervivencia (%) de la semilla germinada durante el desarrollo del experimento	75
Tabla 10. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 1	76
Tabla 11. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 2	77

Tabla 12. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 3	78
Tabla 13. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según concentración del ácido sulfúrico	79
Tabla 14. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tiempo de inmersión en el ácido sulfúrico	79
Tabla 15. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento	83
Tabla 16. Nivel de germinación (%) de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos (agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión)	84
Tabla 17. Nivel de germinación (%) de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según los factores evaluados	85
Tabla 18. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos a base de agua a diferentes temperaturas y con diferentes tiempos de inmersión	87
Tabla 19. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según factores (temperatura del agua y tiempo de inmersión)	88
Tabla 20. Sobrevivencia (%) de la semilla germinada durante el desarrollo del experimento	89
Tabla 21. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 1	90
Tabla 22. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 2	91
Tabla 23. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 3	92

Tabla 24. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según factor A. Temperaturas	93
Tabla 25. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según factor B. Tiempos de inmersión	93
Tabla 23. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento	97
Tabla 24. Nivel de germinación (%) y tiempo de germinación (días) según nivel de concentración del ácido sulfúrico y el tiempo de inmersión en semillas de botón de oro	99
Tabla 25. Nivel de germinación (%) y tiempo de germinación (días) según temperatura del agua y tiempo de inmersión en semillas de botón de oro	100

Lista de Figuras

	pág.
Figura 1. Ubicación del laboratorio de nutrición animal y modulo académico en el cual se realizó la aplicación de los tratamientos, la siembra y el desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> y botón de oro	53
Figura 2. Lugar donde se recolectó y seleccionó las vainas de <i>Leucaena</i>	54
Figura 3. Proceso de recolección de las flores de botón de oro y la obtención de las semillas	55
Figura 4. Selección, desinfección y conteo de las semillas de <i>Leucaena</i> y botón de oro	55
Figura 5. Proceso de pesaje, mezcla de la bovinaza tamizada con el aserrín y la melaza, toma de temperatura diaria y volteos de la pila de bovinaza	57
Figura 6. Aplicación del tratamiento de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión para la semilla de <i>Leucaena</i> y botón de oro	58
Figura 7. Aplicación del tratamiento a las semillas de <i>Leucaena</i> y botón de oro a base de agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión	59
Figura 8. Proceso de mezclado y homogenizado del compostaje de bovinaza con cienago en proporción 1:1	60
Figura 9. Llenado y pesaje de las bolsas de vivero, siembra de <i>Leucaena</i> y botón de oro	60
Figura 10. Distribución de unidades experimentales para el cultivo de <i>Leucaena</i> y botón de oro	61
Figura 11. Aplicación de fungicida e insecticida los para controlar presencia de hongos y plagas; evidencia de la defoliación y afectación por el producto insecticida	62
Figura 12. Desinfección del sustrato (mezcla de compostaje y cienago) con formol al 5% y fungicida (carbendazim 50 cc por 20 L de agua), previo a la siembra de botón de oro	63
Figura 13. Extracción de las plantas de <i>Leucaena</i> de las bolsas de vivero, registro de	

variables y análisis de materia seca	64
Figura 14. Temperatura promedio diaria registrada en el compostaje de bovinaza durante los 26 días en que se realizó este proceso	66
Figura 15. Temperatura ambiental mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento	68
Figura 16. Humedad mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento	68
Figura 17. Precipitación mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento	69
Figura 18. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos a base de ácido sulfúrico	73
Figura 19. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 1	76
Figura 20. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 2	77
Figura 21. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 3	78
Figura 22. Interacción entre los factores para la variable de peso de la plántula sin raíz (g)	82
Figura 23. Interacción entre los factores para la variable de peso de la plántula sin raíz (g)	83
Figura 24. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de <i>Leucaena</i> (<i>Leucaena leucocephala</i>) según tratamientos a base de agua a diferentes temperaturas y con diferentes tiempos de inmersión	87
Figura 25. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43	

después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 1	90
Figura 26. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43	
después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 2	91
Figura 27. Variables referentes al desarrollo del cultivo de <i>Leucaena</i> registradas al día 43	
después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 3	92
Figura 28. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento	98

Lista de Anexos

	pág.
Anexo 1. Resultados de los análisis químicos realizados en el compostaje de bovinaza	125

Resumen

Leucaena (*Leucaena leucocephala*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*) son forrajeras con potencial para alimentación animal que presentan bajos niveles de germinación por condiciones de latencia de la semilla. La investigación analizó para estos dos forrajes en condiciones de vivero, variables como porcentajes de germinación (PG), tiempo para germinar (TG), tiempo para formar hojas seminales (THS) y nomófilas (THN). Post germinación analizó la longitud del tallo (LT), longitud raíz (LR), peso de la planta sin raíz (PPR), peso de la raíz (PR) y número de hojas por planta (NHP). Se utilizó un diseño factorial A*B completamente al azar evaluando: a) concentraciones de ácido sulfúrico de 35, 50 y 65% en semillas de *L. leucocephala* con inmersiones de 13, 16.5 y 20 minutos. b) 10, 20 y 30% de ácido con igual tiempo de inmersión para *T. diversifolia*. c) agua a 50, 70 y 90 °C durante 2, 4 y 6 minutos para *L. leucocephala* y *T. diversifolia*. El mejor resultado para PG fue con agua a 90°C durante un tiempo de inmersión de 4 minutos y el menor TG fue utilizando ácido al 65% con inmersión durante 13 minutos; no se encontraron diferencias significativas en cuanto a THS y THN. El mejor resultado de las variables pos germinación se registró con la escarificación a base de ácido y la mayor cantidad de NHP fue utilizando la escarificación hidrotérmica. Los experimentos con botón de oro no fueron exitosos registrándose niveles de germinación muy bajos. Se concluye que a mayor concentración de ácido sulfúrico y temperatura del agua se obtiene mayor PG, esto sin tener en cuenta el tiempo de inmersión. Al utilizar la mayor concentración de ácido se reduce el tiempo requerido para TG.

Abstract

Leucaena and gold button are forages with potential for animal feeding that have low germination levels due to seed dormancy. This research carried out an analysis of these two types of forage under greenhouse conditions, variables such as the percentage of germination (GP), the time of germination (TG), the time of formation of the seminal leaves (TSL) and the nomophyll (N). Subsequent germination analyzed stem length (ST), root length (RT), weight of the rootless plant (WPR), root weight (WR), and number of leaves per plant (NLP). A factorial random A * B experimental design was used: a) concentrations of 35%, 50% and 65% sulfuric acid in *L. Leucocephala* seeds with immersions of 13, 16.5 and 20 minutes. b) concentrations of 10, 20 and 30% of the acid with the same time of immersion in *T. diversifolia*. c) water at temperatures of 50, 70 and 90 ° for 2, 4 and 6 minutes in *L. Leucocephala* and *T. diversifolia*. The best result for GP was with water at 90 ° during 4 minutes of immersion and the least TG used a 65% acid concentration with 13 minutes of immersion; No significant differences were found between TSL and N. The best result of the post-germination variables was recorded with acid-based scarification and the highest NLP was with the use of hydrothermal scarification. The experiments with gold button were unsuccessful, having recorded very low levels of germination. In conclusion, the more concentrated the sulfuric acid and the hotter the water, the greater GP, this without considering the immersion time. By using the higher acid concentration, the time required for TG is reduced.

Introducción

Leucaena (L. leucocephala Lam. De Wit) es un árbol leguminoso de rápido crecimiento nativo del sur de México y el norte de centro América, se ha naturalizado en todo el trópico y subtrópico. (Rusdy, 2016), el número promedio de semilla por kg es de 15.000 a 18.000, de acuerdo a la variedad (Alvarado, 2001) y es una alternativa sostenible para la reforestación de espacios dedicados a la producción pecuaria en la zona intertropical de climas cálidos (Bacab *et al.*, 2013).

Esta especie tiene potencial en uso forestal, sombra, fertilizante orgánico, control de erosión y alimentación animal, esto por sus grandes aportes proteicos, contenidos minerales, digestibilidad y palatabilidad (Prates *et al.*, 2000), siendo catalogada como la especie más utilizada y estudiada en las condiciones tropicales como fuente alternativa para alimentación animal en sistemas silvopastoriles (Urdaneta y Borges, 2008; Toral, 2005). Ha sido utilizada en bancos de proteína para suplementar los ovinos (Espinosa *et al.*, 2001), cabras (Banda y Ayoade, 2004) y en sistemas semi estabulados para la ceba de ovinos (Mazorra *et al.*, 2004) y bovinos (García *et al.*, 2008; Mahecha *et al.*, 2007).

Para *Leucaena* se manifiestan dificultades para el establecimiento, debido a factores de diversa índole (Ruiz y Febles, 2006), como la latencia ocasionada por la dormancia física e impermeabilidad de sus cubiertas seminales (Willan, 2000; Kozlowski y Pallardy, 2002; Navarro, 2003).

La *T. diversifolia* es conocida como “botón de oro” es originaria de México y Centro América desde donde se ha distribuido a India, Ceilán, Cuba (Roig y Mesa, 1974; Inayat y Gordon, 2009), Venezuela, Colombia (Murgueitio *et al.*, 2002; Medina *et al.*, 2009), África, Filipinas (Agboola *et al.*, 2006; Sao *et al.*, 2010) y Asia (Wang *et al.*, 2004).

Los atributos que han llamado la atención de investigadores y ganaderos es que botón de oro es considerada como estratégica en sistemas silvopastoriles debido a su capacidad de adaptación a múltiples condiciones ambientales, como las que se encuentran en agro ecosistemas subtropicales y tropicales húmedos, subhúmedos y montañosos (Murgueitio *et al.*, 2015).

Sin ser leguminosa, botón de oro presenta un forraje de alto valor nutritivo, con óptimos contenidos de proteína, minerales, alta digestibilidad de la materia seca, además de la presencia de aceites tanto en hojas como en flores y la concentración de carbono en su biomasa aérea (Medina *et al.*, 2009; Zavala *et al.*, 2007). La calidad nutricional de esta planta puede variar en función de la edad de cosecha, condiciones del suelo, condiciones ambientales y prácticas culturales realizadas (Jama *et al.*, 2000).

La propagación de esta planta se puede realizar a través de semilla sexual y semilla vegetativa, siendo este último el método más utilizado, aunque debido a la pérdida de las estacas por la humedad en el suelo y el elevado volumen de material requerido en el establecimiento, se han venido desarrollando avances significativos en la propagación a través de semilla sexual con resultados sobresalientes (Gallego *et al.*, 2017), aunque la semilla presenta inconvenientes por latencia con bajos porcentajes de germinación (Summ, 2015).

Una estrategia para superar la latencia de las semillas son los tratamientos pre germinativos, como la técnica de escarificación, las cuales ayudan a incrementar la respuesta de germinación de diversas semillas, interrumpiendo su periodo de dormancia. Existen varios métodos que pueden ser utilizados para superar la impermeabilidad del tegumento, entre ellos, se destacan la inmersión en agua caliente o temperatura ambiente, la escarificación química y la escarificación mecánica (Albuquerque *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 2010; González *et al.*, 2012).

Según lo planteado, la presente investigación propone evaluar la viabilidad de la semilla y la obtención de plántulas de óptima calidad de *Leucaena* y botón de oro, a partir de la implementación de técnicas de pre germinación basadas en uso de ácido sulfúrico e inmersión en agua a diferentes temperaturas.

1. Problema

1.1 Título

TÉCNICAS DE PRE GERMINACIÓN EN *LEUCAENA* (*LEUCAENA LEUCOCEPHALA*) Y BOTÓN DE ORO (*TITHONIA DIVERSIFOLIA*) COMO FORRAJERAS CON POTENCIAL PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL.

1.2 Planteamiento del Problema

Una de las limitantes en la producción ganadera es contar con forraje proteico que permita incrementar la producción de carne y leche, sin incurrir en elevados sobre costos en la alimentación del animal (Murgueitio *et al.*, 2010). Al respecto, una de las alternativas más comunes, es el uso de balanceados comerciales, sin embargo, los altos precios repercuten en la necesidad de buscar constantemente alternativas que sustituyan y/o complementen los forrajes convencionales o que permitan la suplementación de los animales en el trópico (Cáceres & González, 1996; De Souza & Gualberto, 2007).

La región Norte Santandereana dispone de especies forrajeras adaptadas en condiciones naturales como es el caso de botón de oro (*Tithonia diversifolia*) a orilla de carretera en las zonas templadas como Chinácota y Toledo y la *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) en el área metropolitana de San José de Cúcuta y municipios aledaños como el Zulia y Villa del Rosario. Autores como Olabode *et al.* (2007) y Murgueitio, (2016), afirman que estas son especies que se adapta fácilmente a los sistemas agrosilvopastoril tropicales y que sirve como parte de la alimentación del ganado.

En el caso de la *L. leucocephala*, las semillas pueden tener condiciones favorables, sin embargo, no les basta para germinar y generar plántulas de calidad (Doria, 2010), esto debido a que presentan endurecimiento de toda la cubierta que no les permite la entrada de agua y oxígeno (Razz y Clavero, 2003; Sánchez y Ramírez, 2006), impidiendo la germinación y generando un lento crecimiento inicial (Borges *et al.*, 2018).

Para el manejo del botón de oro, es una especie reconocida por la viabilidad para ser propagada a través de estacas (Ipou *et al.*, 2011), existiendo poco conocimiento acerca del potencial que pudiese existir en la propagación sexual a través de las semillas (Peters *et al.*, 2002; Inayat y Gordon, 2009).

El botón de oro es una planta hermafrodita (Pérez *et al.*, 2009) con semillas pequeñas (diámetro 2,9 mm), livianas y numerosas en la planta, sin embargo, presenta baja viabilidad para su propagación (Peters *et al.*, 2002) con un considerable nivel de dormancia (Agboola *et al.*, 2006) o bajo porcentaje de germinación (Peters *et al.*, 2003; Summ, 2015; Muoghalu y Chuba, 2005), repercutiendo en el hecho que en Colombia muy rara vez se propaga a partir de semillas, siendo difícil obtener semilla sexual viable (Romero *et al.*, 2014).

Asimismo, en algunas regiones del país es difícil obtener el material asexual de botón de oro en la cantidad necesaria para sembrar grandes áreas, además al establecer esta especie a partir de material asexual, muchas estacas se pierden por deshidratación o porque los rebrotes no resisten la competencia con las gramíneas, esto último debido a la menor longitud, vigor y densidad de las raíces de las plántulas que proceden de estacas, respecto a las plántulas propagadas por semillas (Romero *et al.*, 2014).

Con base a lo planteado el presente proyecto propone investigar técnicas de pre germinación en la semilla de *Leucaena leucocephala* adaptada a las condiciones edafoclimáticas del municipio de San José de Cúcuta y su área metropolitana en Norte de Santander y semilla de botón de oro adaptada a la zona de Chinácota, utilizando métodos químicos e hidrotérmicos con el propósito de romper la cutícula que presentan las semillas e impiden la germinación, esto como fase preliminar para obtener resultados que permitan continuar con futuras investigaciones.

A su vez, se analizará que método de escarificación en estas dos especies forrajeras, es favorable para obtener plántulas de óptima calidad aptas para trasplantar a campo abierto, esto a través del análisis de la altura de planta; longitud y diámetro de la raíz principal; diámetro de tallo y número de hojas; logrando así, información base para continuar con el seguimiento del desarrollo de estas dos forrajeras con potencial para el suministro al animal como suplemento proteico en la dieta.

1.3 Formulación del Problema

¿Cuál de las técnicas de pre germinación (química e hidrotérmica) resulta más favorable para disminuir la latencia de las semillas de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*)?

1.4 Justificación

La propagación sexual (semillas) es la técnica más común y económica para obtener plántulas vigorosas y resistentes para llevar a campo (Insuasty *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2002), esto considerando la abundante producción en diversos climas de semillas de *Leucaena* (Machado *et al.*, 1978; Vergara *et al.*, 2006) y botón de oro (Inayat y Gordon, 2009).

La *L. leucocephala* es una especie forrajera que se adapta fácilmente a diversas condiciones de clima y suelo, además es resistente al calor y las condiciones de sequía (Razz y Clavero, 2003; Sánchez y Ramírez, 2006; Vergara *et al.*, 2006). Esta especie cumple un papel muy importante en cuanto al manejo y reforestación de los suelos erosionados, conservación del recurso hídrico y en ocasiones actúa como una tapa de cobertura verde para los cultivos (Insuasty *et al.*, 2012), constituyéndose como una alternativa sostenible para la reforestación de espacios dedicados a la producción pecuaria en la zona de climas cálidos (Bacab *et al.*, 2013).

Esta forrajera produce gran cantidad de semillas en todos los climas donde se cultiva (Machado *et al.*, 1978; Razz y Clavero, 2003), posicionándose en alguna época como uno de los árboles leguminosos más cultivados (Parrotta, 1992), sin embargo, los bajos índices de germinación sexual, el elevado nivel de dormancia y latencia de las semillas (Razz y Clavero, 2003; Sánchez y Ramírez, 2006) paralelo al ineficiente proceso de propagación por estacas (Ipou *et al.*, 2011), ha conllevado a limitar el uso de esta forrajera en bancos forrajeros y/o sistemas de pastoreo controlado (Doria, 2010).

La especie forrajera de *Leucaena* promueve en la comunidad forestal fijación de nitrógeno a través de la asociación con bacterias nitrificantes, ciclaje y conservación de nutrientes (Sanson, 2014), y cumple un papel muy importante en cuanto a su uso forestal, sombra, fertilizante orgánico, control de erosión, bancos forrajeros, ramoneo y cercas vivas (Urdaneta y Borges, 2008).

La *T. diversifolia* en Colombia crece en condiciones agroclimáticas variadas, desde el nivel del mar hasta los 2700 metros de altitud, con precipitaciones anuales entre 800 a 5000 mm y en diferentes tipos de suelo; tolera condiciones de acidez, de baja fertilidad y crece espontáneamente

en áreas perturbadas a orillas de caminos, ríos y carreteras (Ríos, 2002; Murgueitio *et al.*, 2003; Inayat & Gordon, 2009).

Este forraje es rústico, soporta las podas extremas, se adapta a los terrenos ácidos con pH entre 3 y 6 (Peters *et al.*, 2002; Wambui *et al.*, 2006); tiene rápido crecimiento, compite bien con las malezas y su cultivo requiere prácticas de labranza mínimas y poca inversión en insumos (Inayat y Gordon, 2009).

El botón de oro es una planta forrajera de buen valor nutricional, alta digestibilidad de la materia seca y favorable producción de biomasa con presencia de aceites en sus hojas y flores (Mahecha y Rosales, 2005; Mahecha *et al.*, 2007; Murgueitio *et al.*, 2002).

Además de lo anterior esta planta presenta otras bondades para la producción animal, entre las cuales se pueden mencionar su fácil establecimiento, la resistencia al corte frecuente, y la capacidad para la acumulación de nitrógeno, fósforo y potasio, resultando apreciada entre los productores (Fasuyi *et al.*, 2013; Jama *et al.*, 2000; Ruíz *et al.*, 2014).

Así mismo, *Leucaena* y botón de oro, son dos especies que tienen un alto valor nutricional y se utiliza como alimento para el ganado (Graham y Vance, 2003; Olabode *et al.*, 2007), posee un alto rendimiento forrajero, aporte proteico, contenidos minerales, digestibilidad y palatabilidad (Toral, 2005; Possenti *et al.*, 2008; Murgueitio *et al.*, 2002) y son una de las forrajeras más estudiadas como fuente alterna de alimentación, es valorada como una excelente fuente de proteína y en general con una buena composición nutricional (Insuasty *et al.*, 2012; Yadete, 2014; Mahecha *et al.*, 2007).

Por lo anterior, es conveniente desarrollar un proyecto en donde pueda cumplir con las necesidades alimenticias a través de la germinación dándole un enfoque, basado en alternativas de suplementación animal, en este caso el uso de técnicas de pre de semillas de *L. leucocephala* y *T. diversifolia* que den como resultado plántulas vigorosas, sanas, resistente y de buena composición nutricional para la inclusión en dietas que mejoren los porcentajes nutricionales que requiere el animal al momento de su alimentación.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general. Evaluar el efecto de tratamientos pre germinativo (químico e hidrotérmico) en la germinación de semillas de *Leucaena* y botón de oro sobre el desarrollo de forrajeras con potencial para alimentación animal.

1.5.2 Objetivos específicos. Determinar el efecto del uso de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones (35, 50 y 65%) y tiempos de inmersión (13,0; 16,5 y 20,0 minutos) sobre el desarrollo de la *Leucaena* (Porcentaje y tiempo de germinación, tiempo para formación de hojas seminales y nomófilas, longitud tallo, longitud de la raíz principal, número de hojas nomófilas, peso de la planta sin raíz y peso de la raíz).

Comprobar el efecto del uso de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones (10, 20 y 30%) y tiempos de inmersión (13,0; 16,5 y 20,0 minutos) sobre el desarrollo del botón de oro (Porcentaje y tiempo de germinación, tiempo para formación de hojas seminales y nomófilas).

Establecer el efecto de sumergir la semilla de *Leucaena* y botón de oro en agua a diferentes temperaturas (50, 70 y 90°C) y tiempos de inmersión (2, 4 y 6 minutos) sobre el desarrollo de *Leucaena* y botón de oro (Porcentaje y tiempo de germinación, tiempo para formación de hojas

seminales y nomófilas, longitud del tallo, longitud de la raíz principal, número de hojas nomófilas, peso de la planta sin raíz y peso de la raíz).

1.6 Delimitaciones

1.6.1 Delimitación temporal. El proyecto se ejecutó durante el primer y segundo semestre académico del año 2019.

1.6.2 Delimitación espacial. El trabajo se ejecutó detrás del Laboratorio de Nutrición de Peces y Laboratorio de Anatomía y Fisiología Animal de la Universidad Francisco de Paula Santander sede Campo Elíseos en el municipio de Los Patios, Norte de Santander; coordenadas de Latitud: 7°50'17"N Longitud: 72°50'47"O; Altitud: 250 Metros sobre el nivel del mar; temperatura media de 27°C y precipitación anual de 500 a 1000 (mm).

1.6.3 Delimitación conceptual. En el proyecto se usaron términos como: dormancia, escarificación, germinación, hojas seminales, hojas nomófilas, plántula, pre germinación, propagación, semilla, sustrato y vivero.

2. Marco Referencial

2.1 Antecedentes

Se relacionan los siguientes antecedentes directos con respecto al siguiente trabajo.

Insuasty *et al.* (2012) analizaron una de las técnicas pre germinativas para el quiebre de la semilla de *L. leucocephala*, utilizando el método de escarificación con ácido sulfúrico. Las semillas se trataron con 50, 75 y 100 % de H₂SO₄ e inmersión en agua a temperatura ambiente por 5 y 10 minutos. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones de 100 semillas cada una. Cada cuatro días se registró el porcentaje de germinación (PG) y la tasa de germinación (TG) y a los 32 días el número de hojas (NH), altura de la plántula (AP), longitud de la raíz (LR), diámetro de la raíz (DR) y del tallo (DT). La germinación se inició al cuarto día y fue constante a partir de los 20 días. Los tratamientos con H₂SO₄ de 50 y 75% e inmersión durante 10 minutos fueron los mejores con 83,33% y 89,33% de germinación. La TG varió de 4,7 a 14,5 días. Se encontró correlación positiva ($P < 0,01$) en AP, LR, DR, DT y NH, a excepción de DR con AP y LR.

Almeida *et al.* (2012) estudiaron como técnica pre germinativa para las semillas de *L. leucocephala* el método de escarificación mecánica (lija # 100) empleando diferentes formas de lijar las semillas, se lijo en uno de los lados de la semilla, en ambos lados, se lijo en la región opuesta al micrópilo y un grupo sin lijar (semillas intactas), se lijo en la región opuesta al micrópilo y se sometieron a un proceso de imbibición en agua destilada durante 24 h, se lijo en ambos lados de la semilla y embebida en agua destilada durante 24 h y se lijo en uno de los lados y embebido en agua destilada durante 24 h. Se utilizó un modelo completamente al azar, cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno. Se registraron datos desde el cuarto hasta el décimo día post siembra. Se analizó porcentaje de germinación, longitud y masa seca de

plántulas. Los mejores resultados para estos siete variables, ocurrieron en los tratamientos de escarificación con lija N° 100 lijando en uno y en los dos lados de la semilla (98%) y escarificación con lija N° 100 en la región opuesta al micrópilo (99%). El análisis estadístico fue realizado por el programa ASSISTAT, Versión 7.6 beta (2012) y los promedios comparados por la prueba de Scott - Knott al 5% de probabilidad.

Sánchez y Ramírez (2006), estudiaron dos técnicas pre germinativas para romper el adormecimiento de la semilla *L. leucocephala*, evaluando escarificación con agua caliente (temperatura de 80 °C por 10 minutos de inmersión), agua ambiente (temperatura de 26 °C 2 horas de inmersión), y escarificación mecánica (lija # 80) con diferentes tiempos de abrasión (20 y 40 minutos), cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones de 100 semillas cada una. Cada cuatro días se registró el porcentaje de germinación (PG) y la tasa de germinación (TG) y a los 32 días el número de hojas (NH), altura de la plántula (AP), longitud de la raíz (LR), diámetro de la raíz (DR) y del tallo (DT). Los mejores resultados se obtuvieron con escarificación por inmersiones en agua a 80 °C por 10 minutos con porcentaje de germinación de 91,5% de germinación, seguido de la escarificación mecánica (lija #80) donde se empleó un tiempo de abrasión de 40 minutos en sesiones de 5 minutos obteniendo como resultado un porcentaje de germinación de 43,75%. Los datos se procesaron utilizando el programa SAS y para la evaluación del efecto de los tratamientos en cada especie, se empleó la técnica del análisis de varianza (ANOVA), cuando se encontraron efectos significativos se usó la prueba de Tukey.

Gallego *et al.* (2015) investigaron el crecimiento y producción de biomasa de plantas de botón de oro (*T. diversifolia*) obtenidas mediante estacas (Pes), semilla sexual producidas in vitro (Piv) y semilla sexual por siembra directa (Psx), desde su establecimiento hasta el fin de su primer ciclo productivo. La semilla sexual se obtuvo en la región de los Llanos Orientales de

Colombia, una parte se utilizó en proceso in vitro, la otra se mezcló con gallinaza en una relación 3:1. Se prepararon 24 parcelas de 20 m² cada una (8 repeticiones); pasadas 8 semanas, se seleccionaron 288 plantas por método, las cuales fueron trasladadas a las parcelas experimentales (36 plantas por parcela, 1.8 plantas por m²); pasados 4 meses se realizó un corte de uniformización a 30 cm de altura en todas las parcelas. Semanalmente, desde la tercera y hasta la octava semana después del corte se midió la altura de las plantas (suelo hasta los primordios foliares). A la semana 8 (56 días) se cosecho y registró peso completo y por separado de hojas y tallos; se determinó la MS.

El número de plantas Psx vivas y bien establecidas al mes después del trasplante desde su sitio de siembra al sitio de cultivo definitivo fue mayor que las plantas PES o PIV, se encontró una sobrevivencia de 100%, 94% y 92% para PSX, PES y PIV, respectivamente. Las plantas de todos los tratamientos tuvieron un crecimiento lento hasta la tercera semana después del corte de uniformización a partir de la cuarta semana su crecimiento se aceleró y a los ochos semana del corte de uniformización, se obtuvieron alturas promedio de 70.1, 65.3 y 69.9 cm, para PES, PIV y PSX, respectivamente sin diferencias significativas ($p>0.05$).

2.2 Marco Teórico

2.2.1 Clasificación taxonómica. La tabla 1. Indica la clasificación taxonómica de la *Leucaena* y el botón de oro.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la *Leucaena* y el botón de oro

Ítem	<i>Leucaena</i>	Botón de oro
Reino	Plantae	Plantae
División	Magnoliophyta	Spermatophyta
Clase	Magnoliopsida	Dicotyledoneae
Sub clase		Metaclamídeas
Orden	Fabales	Campanuladas
Familia	Fabaceae	Compositae
Subfamilia	Mimosoideae	
Tribu	Mimoseae	
Genero	<i>Leucaena</i>	<i>Tithonia</i>
Especie	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit, Taxon, 10: 54, 1961	<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) Gray

Fuentes: Olabode et al. 2007; Medina et al. (2009); Fasuyi et al. 2010.

2.2.2 Composición nutricional. La tabla 2. Indica la composición nutricional de la *Leucaena* y el botón de oro.

Tabla 2. Composición porcentual nutricional de la *Leucaena* y el botón de oro

Parámetro evaluado (%)	<i>Leucaena</i>	Botón de oro
Materia orgánica	89,00	83,00
Proteína cruda	27,60	14,10
Fibra detergente neutra	42,50	53,81
Fibra detergente acida	30,90	48,18
Ceniza	11,00	16,19
Calcio	2,40	2,86
Fósforo	0,20	0,27
Materia seca	19,90	12,74
Humedad	80,10	87,26
Hemicelulosa	11,60	5,63

Fuentes: Yadete, 2014, Gallego et al. 2017, Sepúlveda, 2019.

2.2.3 Selección de la semilla de *Leucaena*. Autores como Uribe *et al.* (2011); Sánchez y Ramírez, (2006) plantean las siguientes indicaciones para seleccionar la semilla:

Extraer las semillas de *Leucaena* de vainas maduras, es decir antes de que caigan de la planta y tomar las legumbres de color marrón, antes de que ocurra la dehiscencia en la *Leucaena*

Para la siembra utilice semilla fresca, tamizadas para unificar su tamaño, libre de daños, malformaciones y coloraciones anormales. Para determinar la pureza y calidad de la semilla realice la siguiente prueba: de un kg de semilla pese las semillas dañadas o atacadas por gorgojos y otros insectos, esta cantidad no debe ser mayor al 3%. De igual manera pese las impurezas encontradas en un kg de semilla que no debe sobrepasar el 3%.

2.2.4 Producción de plántulas de *Leucaena* en vivero: Autores como Uribe *et al.* (2011) recomiendan ubicar el vivero preferiblemente cerca al potrero donde se van a establecer la *Leucaena*. Se utiliza semilla escarificada e inoculada. La bolsa para la resiembra de *Leucaena* debe ajustarse al patrón de crecimiento de la raíz pivotante de la plántula. Utilice bolsas plásticas de polietileno de baja densidad, calibre 2, color negro con perforaciones para la salida del agua, de 6 cm de ancho por 40 cm de longitud. Se siembran 3 semillas por bolsa, a un centímetro de profundidad. La germinación se inicia a los 4 días después de la siembra y es de tipo epigea (Insuasty *et al.*, 2012). El sustrato que cumple con los requisitos para la siembra en bolsas de vivero es el estiércol de ave que tiene como proporción (40% de la tierra, 40% de aserrín y 20% de estiércol de ave) (Vásquez *et al.*, 2012).

Las bolsas se deben regar todos los días con una capa fina de agua. Una vez germinadas las plantas éstas podrán ser regadas cada 2-3 días.

Propagación sexual y asexual de la *Leucaena*: La propagación de la *Leucaena* es conveniente realizarla por semilla sexual, debido a la dificultad de la siembra por semilla asexual. El uso de la semilla sexual, se hace por diferentes formas. Directamente en el campo, a través de

semilleros y/o viveros y trasplante con el posterior trasplante al lugar definitivo de la siembra.

Para el caso de la producción de semilla se recomienda un cultivo puro en sistemas de siembra que permitan utilizar una cantidad adecuada de semilla, mejor uso del fertilizante, distribución más adecuada de la plantación y facilitar las labores culturales de control de maleza y cosecha. El sistema de siembra en estos casos está en discusión, ya que la densidad es importante en la cantidad de semilla producida (Torres *et al.*, 2002).

Sin embargo, la propagación por estacas (asexual) es realizada por las mismas estructuras de las plantas como los brotes o retoños (tocón) ya que tienen una alta capacidad de rebrote, lo que le permite ser utilizada para producir diversos productos (leña, forraje) en períodos relativamente cortos y se ha reportado que la propagación con estacas tiene una baja sobrevivencia y crecimiento lento (Yadete, 2014).

Principales plagas y enfermedades que afectan las plántulas de la *Leucaena*: La *Leucaena* es relativamente libre de plagas en su hábitat natural. No obstante, en años recientes se ha reportado la presencia de varios insectos como Cigarrilla (*Heteropsylla cubana*), María pirata o falso insecto palo (*Prosarthia teretirostris*), falso gusano medidor (*Melipotis famélica*), polilla enrolladora (*Apotoforma* sp) y Hormiga arriera (*Atta cephalotes*) que ha causado serios destrozos en plantaciones (Solorio & Solorio, 2008).

Aunque es resistente a las plagas y enfermedades, es susceptible a malezas, termitas, hormigas (*Atta* sp), roedores. Puede presentarse gomosis (*Fusarium semitectum*) y “*damping-off*” cuando la humedad y la intensidad de siembra son muy altas. En el vivero las plántulas son atacadas por roedores y hormigas, las semillas son atacadas por diferentes tipos de gorgojos cuando están en las vainas o durante su almacenamiento (Rivas *et al.*, 2009).

2.2.5 Establecimiento *Leucaena*: Esta especie está bien adaptada a una gran variedad de condiciones climáticas. Es común encontrar áreas naturales de vegetación donde predomina este forraje, el cual crece formando áreas relativamente compactas. Estas áreas son utilizadas generalmente por los productores en la alimentación de sus animales bajo un sistema de corte y acarreo (Solorio & Solorio, 2008).

Para su establecimiento se deberán considerar las condiciones climáticas de la región, siendo recomendable establecerla al inicio del periodo de lluvias. Se han observado grandes diferencias en el rendimiento de forraje cuando se establece al inicio de la época de lluvias en comparación con aquella establecida a mediados de dicha época, aunque sin grandes diferencias cuando se cuenta con riego (Castillo *et al.*, 2016). De cualquier manera, aun cuando se cuente con riego se sugiere el trasplante o siembra después de los primeros días de lluvia, lo que llevará en un ahorro considerable de agua (Solorio & Solorio, 2008).

Uno de los factores más críticos en el establecimiento de la *Leucaena* es el periodo entre la siembra y el siguiente evento de la lluvia después de dicha siembra. La humedad adecuada del suelo durante las fases iniciales de establecimiento es necesaria para maximizar el crecimiento. El estrés por agua puede reducir la nodulación y consecuentemente, la fijación de nitrógeno y el crecimiento. Cuando no se cuenta con sistema de riego es recomendable crecer las plantas de Guaje previamente en vivero (Marzo-Abril) para que estén listas para trasplantar una vez que inicien las lluvias. Lo anterior, dará ventaja para que las plantas logren establecerse durante el periodo de lluvias. Independientemente del método y época de siembra que se utilice las plantas deberán estar en condiciones favorables para que puedan competir con las malezas en caso de ser necesario (Solorio & Solorio, 2008).

2.2.6 Selección de semilla de botón de oro: Es necesario seleccionar una o más plantas adultas (de más de 4 meses de edad) luego de la floración, y en lo posible, con abundantes flores que hayan perdido sus pétalos y con una tijera podadora, se hace un corte de las ramas con flores, tratando de evitar la caída de las semillas.

2.2.7 Producción de plántulas de botón de oro en vivero: Para la preparación de plantas en vivero, se recomienda utilizar una parte de arena, una parte de tierra y una o dos porciones de materia orgánica (estiércol, composta, etc.) en términos de peso. Existen diferentes tipos de bolsas para el semillero, pero la más común es utilizar bolsas plásticas de polietileno de baja densidad, calibre 2, color negro con perforaciones para la salida del agua, de 6 cm de ancho por 40 cm de longitud. Se siembran 3 semillas por bolsa, a un centímetro de profundidad, sin embargo, la decisión de cual utilizar dependerá del propósito de la plantación, así como del material a utilizar. La germinación se inicia a los 4 días después de la siembra y es de tipo epigea (Insuasty *et al.*, 2012).

Si se pretende realizar la siembra en un área establecida de gramíneas (pasto estrella o guinea) es recomendable hacerlo con plantas bien desarrolladas que le permitan competir con las pasturas. Esto le permite a la planta desarrollar una raíz fuerte y vigorosa para el momento del trasplante. Las bolsas de tamaño pequeño tienen la ventaja de que requieren menos material para su llenado, además de que reduce el tiempo dedicado a esta actividad.

Después que se llenaron los contenedores con tierra, se procede a sembrar la semilla (previamente seleccionada escarificada e inoculada), la cual puede hacerse en suelo húmedo o seco. Si es en suelo seco la profundidad deberá de ser de 4- 6 cm ya que al momento de regarlo la capa superficial de suelo tiende a bajar por lo que la semilla queda a la profundidad deseada 2-3

cm. Cuando el suelo ha sido mojado previamente la semilla es depositada a una profundidad no mayor a los 3 cm. El requerimiento de agua para el riego de las semillas sembradas dependerá de las condiciones climáticas y las condiciones en que se encuentra el vivero (si existe sombra, a la intemperie etc.), pero, por lo general las bolsas se deben regar todos los días con una capa fina de agua. Una vez germinadas las plantas éstas podrán ser regadas cada 2-3 días.

Dos semanas después de la siembra, se revisarán las bolsas para resembrar aquellas en las que la semilla no germinó. Se deberá realizar uno o dos deshierbes para controlar las plantas indeseadas antes del trasplante, además de tener cuidado de que no existan insectos, hormigas y otros animales como iguanas, ya que éstos consumen gran parte del follaje de las plántulas reduciendo de esta manera la población. Las plantas para su trasplante estarán listas aproximadamente entre 6-8 semanas después de germinadas o cuando éstas alcancen una altura de 30 cm.

El método de trasplante requiere de más mano de obra que la siembra directa, pero los resultados son por lo general más exitosos. El trasplante podría efectuarse a las 12 semanas de crecimiento o cuando las plantas alcancen de 30 a 50 cm, que les permita tener ventaja sobre las gramíneas ya establecidas o las arvenses. Las plántulas podrían ser trasplantadas en hoyos hechos con el pico o pala sin que se dañen sus raíces. Este método tiene la ventaja de que es menos susceptible a la competencia con arvenses y los árboles podrán cortarse o estar disponibles para el animal más rápido (Solorio & Solorio, 2008).

Propagación sexual y asexual del Botón de Oro. Autores como Saavedra *et al.* (2011); Muoghalu y Chuba, (2005); Romero *et al.* (2014) plantearon un protocolo preliminar para la propagación del botón de oro a partir de semilla sexual, realizando la construcción de un

germinador.

Germinador: para la construcción de las eras de germinación se pueden utilizar materiales comunes como guadua o madera con el fin de impedir la pérdida del sustrato. Este material de germinación debe estar compuesto por tierra negra (la mitad del volumen) y partes iguales de materia orgánica y arena (la otra mitad). Para escalas pequeñas de producción, el germinador se puede hacer sobre el suelo, con una altura entre 15 y 20 cm, un ancho de 1 metro y una longitud que varía según la cantidad de material vegetal requerida.

Para la propagación asexual del botón de oro se utiliza estacas del primer tercio o parte más leñosa del tallo, del segundo tercio o zona intermedia y último tercio, o parte más tierna del tallo. Se pueden sembrar en bolsa o directamente en el sitio definitivo. Su reproducción es rápida; en cuatro días ya empieza el tallo a emitir rebrotes. Siembre las estacas acostadas en chorro continuo, enterradas a dos centímetros de profundidad. En suelos muy húmedos se debe construir un caballón y sembrar las estacas de 20 a 30 cm de longitud, en ángulo de 45° con el corte en bisel hacia el suelo a una distancia de 3 m entre surcos y 50 cm entre plantas (Uribe *et al.*, 2011).

En la asociación con maderables se siembran cinco franjas de botón de oro y tres de maderables, con una distancia entre surcos de tres metros. El botón de oro se siembra a chorro continuo en bloques de 18 metros de ancho (Uribe *et al.*, 2011, p.31).

Principales plagas y enfermedades que afectan las plántulas del botón de oro: Autor como Arturo (2013) realizó un estudio tomando muestras de las plántulas de botón de oro que el mismo sembró desde la etapa de la semilla, estas plántulas albergaron 41 familias de insectos, predominando los del orden de Díptera e Himenóptera, cada una con una participación del 24%, seguidos de los Hemíptera con el 17%, Lepidóptera con el 15%, Coleóptera con el 12%, y en

pequeñas proporciones están los Ortóptera con el 5% y los Neuróptera con el 2%.

El 71% de los insectos recolectados de estas plántulas se hospedan en las hojas, un 13% en los tallos y otro porcentaje igual en las flores, sólo un 4% se recolectó en el suelo. Estos resultados se deben a que el tipo de insecto, según sus características, son en su gran mayoría moscas minadoras de hojas debido al hábito de alimentación de sus larvas.

En cuanto a los hábitos de los insectos analizados en la planta de Botón de Oro, el 42% es chupador, el 16% depredador, el 16% parasitoide, el 13% defoliador, el 11% agallícola y el 2% barrenador.

Los insectos chupadores introducen en la planta toxinas, que producen síntomas semejantes a las afecciones víricas y son muy destructivas. Vacían las células vegetales, extrayendo su color verde y dejando una pequeñísima mancha blanca donde se produjo la picadura. Cuando éstas son numerosas la hoja aparece blanqueada en ciertas zonas o en su totalidad (Zumbado & Azofeifa, 2018).

2.2.8 Establecimiento del botón de oro. Como se muestra a continuación:

El establecimiento del botón de oro se realiza por medio de estacas de 25 – 40 cm de longitud, de alrededor de 1,5 – 2,5 cm de diámetro, que no sean ni muy tiernas ni muy leñosas (lignificadas). Es muy importante que las estacas se planten en las primeras 24 horas después de su cosecha, pues se deshidratan con gran rapidez lo que causa alta mortalidad. (Zapata & Vargas, 2014, p.6).

El botón de oro se establece en franjas o hileras con una distancia entre franjas de 2 a 4 m; las distancias menores (2 – 2,5 m) se utilizan en climas cálidos de mayor radiación solar y las

distancias mayores (3 – 4 m) en climas medios y fríos (Zapata & Vargas, 2014, p.7).

2.2.9 Compostaje: El compostaje es el proceso de descomposición termofílica aerobia de residuos sólidos orgánicos por poblaciones mixtas de microorganismos en condiciones controladas, para producir un material orgánico estabilizado y humidificado que en condiciones favorables a la actividad microbiana se descompone lentamente. El producto final obtenido, de naturaleza húmica, puede ser utilizado como fertilizante, enmienda orgánica. (Solans *et al.*, 2008). Existen dos tipos de compostaje, el compostaje aerobio y compostaje anaerobio (OPS, 1999).

Compostaje aerobio. El compostaje aerobio es un proceso exotérmico de degradación y estabilización biológica del material orgánicos en presencia de oxígeno, mediante la acción combinada de una serie de poblaciones de microorganismos asociados a una sucesión de factores ambientales, obteniendo como principales productos del metabolismo biológico: dióxido de carbono, agua y calor. La actividad microbiológica de degradación en condiciones aerobias produce del orden de 13000 kJ por kilogramo de oxígeno consumido (Zurcan, 2010).

Compostaje anaerobio. El compostaje anaerobio es la descomposición de la fracción orgánica en ausencia de oxígeno obteniendo como productos finales metano, dióxido de carbono y numerosos productos orgánicos de bajo peso molecular como ácidos y alcoholes. La materia orgánica, actúa como nutriente de microorganismos anaerobios, que la descomponen y dan como producto final biogás, compuesto por metano y anhídrido carbónico. El método anaerobio se lleva a cabo mediante digestores o fermentadores (Cuadros, 2008).

Materiales para el compostaje. Cualquier producto orgánico fermentable o biodegradable puede ser compostado como los siguientes:

Residuos Urbanos o Municipales (cartón, papel, restos de comida, entre otros) (Cuadros, 2008).

Residuos Agroindustriales (maíz, trigo, hortalizas, madera, cacao, entre otros) (Sagarpa, 2007).

Subproductos Agrícolas (residuos de la cosecha, así como de la trilla y la molienda) (Sagarpa, 2007).

Desechos del Ganado (el estiércol y contenido del tubo digestivo de animales ganaderos. Las aguas residuales de los mataderos o de instalaciones de transformación de subproductos animales) (Cuadros, 2008).

Residuos Forestales (restos de árboles, hojarascas, ramas, entre otros) (Sagarpa, 2007).

Etapas del compostaje. Dentro del núcleo se identifican las siguientes etapas:

Etapas Mesofílica. Es el inicio del proceso de compostaje, en el cual la zona central presenta una temperatura ambiental que comienza a incrementarse mientras paralelamente disminuye el pH, se produce el desarrollo de la flora mesofílica predominando las bacterias, levaduras, mohos y actinomicetos mesofílicos que se desarrollan entre 20 y 40 °C de temperatura. Vento, (2000) informa que en esta etapa se descompone con rapidez los azúcares, el almidón, las proteínas y las grasas liberando gran cantidad de energía lo que conlleva a que se multipliquen rápidamente los microorganismos y se eleve la temperatura en el interior de la pila llegando a más de 50° C en un corto tiempo. Esta etapa puede durar de 24 a 72 horas. Esta etapa, es notoria cuando el material ingresa fresco al compostaje. Si el material tiene ya un tiempo de acopio puede pasar inadvertida (OPS, 1999).

Etapa Termófila. Se caracteriza por desarrollarse a temperaturas entre 40 a 60° C, por acción de degradación de la materia orgánica de los microorganismos termófilos, principalmente por hongos del grupo de actinomicetos (*Micromonospora*, *Streptomyces* y *Actomyces*) (Álvarez 2008). La temperatura alcanzada durante esta etapa del proceso garantiza la higienización y eliminación de patógenos, larvas y semillas. Dependiendo del material de partida y de las condiciones ambientales, el proceso puede durar entre una semana, en sistemas acelerados, y uno a dos meses en sistemas de fermentación lenta. (Pérez, 2008).

Etapa de descomposición mesófila de enfriamiento. Se realiza la degradación de la celulosa y la lignina por bacterias y hongos (*Aspergillus* y *Mucor*) (Álvarez 2008). Con el agotamiento de los nutrientes y la muerte de los microorganismos termófilos, comienza el descenso de la temperatura, aproximadamente a temperaturas iguales o inferiores a los 40° C. Se desarrollan nuevamente los microorganismos mesófilos que utilizarán como nutrientes la celulosa y lignina restantes en la pila (OPS, 1999).

Etapa de Maduración. Se estabiliza y polimeriza el compost a temperatura ambiente, descendiendo el consumo de oxígeno y se elimina la fitotoxicidad (Álvarez 2008). Escasean los nutrientes y descíendela actividad bacteriana (Rodríguez, 2011).

La relación Carbono/Nitrógeno (C/N). La relación C/N es determinante para la formación de compost, puesto que el carbono es fuente de energía y el nitrógeno es necesario para el crecimiento y funcionamiento celular de los microorganismos (Córdoba, 2006). Una alta relación C/N retarda el proceso y una baja impide la descomposición, por lo que se considera que una relación de 30/1 es favorable para el desarrollo de los microorganismos (Córdoba, 2006).

Los materiales que son verdes y húmedos, como residuos de césped, restos de verduras, poseen alto contenido de nitrógeno y por lo tanto una relación C/N más baja. Por el contrario, una relación más alta contiene los residuos de color café y seco, hojas otoñales, virutas de madera, aserrín y papel, ya que contienen mayor cantidad de carbono (Córdoba, 2006).

En algunos casos el material inicial a utilizar en el proceso de compostaje puede no presentar una relación C/N inicial apropiada. En este caso, se debe realizar una mezcla con otros materiales para lograr una relación apropiada (OPS, 1999).

Compostaje en pila estática aireada. Este sistema consiste en una red de tuberías de escape o aireación sobre el cual se coloca la fracción orgánica procesada de los residuos sólidos (Agámez, 2006). Los residuos sólidos se agrupan en pilas de 1 a 2 m. de altura, de 3 a 4 m. de ancho y de 20 m. de longitud y se ponen sobre suelos con sistemas de ventilación por tubos (Agámez, 2006).

2.2.10 Latencia-Adormecimiento. La latencia o adormecimiento de las semillas es un estado en el que las semillas viables no germinan, incluso cuando se le proporcionan condiciones favorables a la germinación, lo que puede ser ocasionado por impermeabilidad del tegumento al agua y a los gases, embriones inmaduros, requisitos especiales de luz o de temperatura, presencia de sustancias promotoras o inhibidoras de crecimiento (Carvalho y Nakagawa, 2012).

2.2.11 Técnicas y métodos de pre germinación: Son todos aquellos procedimientos necesarios para romper la latencia de las semillas, esto es, el estado en que se encuentran algunas tal que, estando vivas, no son capaces de germinar sino hasta que las condiciones del medio sean las adecuadas para ello (Varela y Arana, 2011).

Existen varios métodos que pueden ser utilizados para superar la impermeabilidad del tegumento en especies forestales; de entre ellos, se destacan la inmersión en agua caliente, la escarificación química y la escarificación mecánica (Albuquerque *et al.*, 2007).

Escarificación química: esta técnica consiste en suministrar las semillas en ácidos a diferentes concentraciones y diferentes tiempos de sumersión, con el objetivo de romper la cutícula que presenta la semilla que no les permite el paso de agua y oxígeno evitando su germinación (Insuasty *et al.*, 2012).

Escarificación en agua caliente: esta técnica consiste en suministrar las semillas en agua caliente a diferentes temperaturas y tiempos de sumersión, con el objetivo de disminuir la latencia que presenta las semillas que no les permite su germinación (Sánchez y Ramírez, 2006).

Escarificación mecánica: esta técnica consiste en lijar las semillas a diferentes tiempos de abrasión y sumersión, con el propósito de romper el adormecimiento que presentan en la cutícula, que no les permite el paso de agua y oxígeno, evitando su germinación (Castro *et al.*, 2016).

2.3 Marco Conceptual

Dormancia: Es un estado en el que las semillas viables no germinan, incluso cuando se le proporcionan condiciones favorables a la germinación, lo que puede ser ocasionado por impermeabilidad de la cutícula que no le permite la entrada de agua, gases, y por la presencia de sustancias promotoras o inhibidoras de crecimiento (Carvalho & Nakagawa, 2012).

Escarificación: La escarificación de la semilla es una técnica que se lleva a cabo con el fin de acortar el tiempo de germinación. Se trata de una abrasión de la pared exterior de la semilla (tegumento) para permitir que el endospermo entre en contacto con el aire y el agua. Se hace por

abrasión (lija), con productos químicos (ácido) o hidrotérmicos (inmersión en agua) (Varela y Arana, 2011).

Germinación: Es el desarrollo de una planta desde la semilla, es decir desde la parte del fruto que alberga el embrión de un nuevo ejemplar. La germinación, por lo tanto, es un proceso que se inicia con el desarrollo del embrión y llega hasta el nacimiento de una planta. Para que la germinación pueda producirse, se necesitan ciertas condiciones de temperatura, disponibilidad de agua y de nutrientes, etc. La semilla, además, debe encontrarse en el medio adecuado. Una vez que el proceso se desencadena, si se despliega con éxito culminará en la aparición de una nueva planta (Doria, 2010).

Hoja seminal: Sinónimo de cotiledón. Aunque en general, toma este nombre cuando es epigeo, y asoma a flor de tierra; hoja que sale de la semilla (Doria, 2010).

Hoja nomófilas: Aparecen después de las hojas primordiales y son las que se forman durante toda la vida de la planta. Son morfológicamente más complejas, y son las hojas características de cada especie (Uribe *et al.*, 2011).

Plántula: Se denomina plántula al estadio del desarrollo del esporófito que comienza cuando la semilla rompe su dormancia y germina, y termina cuando el esporofito desarrolla sus primeras hojas no cotiledonares maduras, es decir funcionales (Vasques *et al.*, 2012).

Pre germinación: Son todas las técnicas o procedimientos que se le realizan a las semillas previo a su germinación, con el objetivo de aumentar su porcentaje de germinación (Varela y Arana, 2011).

Propagación: La propagación de las plantas se refiere a las actividades que se realizan para duplicar las plantas mediante un método sexual o asexual, depende de cada tipo de planta en su propagación. Para que la reproducción de las plantas se lleve a cabo se debe conocer los empleos manuales y procesos técnicos, las estructuras y formas de la producción de las plantas, además saber sobre las diferentes tipos o especies de la misma (Yadete, 2014; Saavedra *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 2002).

Semilla: Se conoce como semilla al grano que producen los vegetales y cuando se siembran o caen al suelo, genera otros ejemplares que pertenecen a la especie en cuestión. Las plantas que disponen de semillas se conocen como espermatófitas. La semilla aparece cuando un óvulo que pertenece a una angiosperma o a una gimnosperma alcanza un cierto punto de madurez. La semilla no sólo incluye un embrión que puede derivar en otra planta, sino que también alberga alimento (Doria, 2010).

Sustrato: El sustrato es la mezcla de diferentes tierras elaboradas específicamente para asegurar el desarrollo correcto de las plantas (Vásquez *et al.*, 2012).

Vivero: Un vivero es una instalación agronómica donde se cultivan, germinan y maduran todo tipo de plantas. Los viveros cuentan con diferentes clases de infraestructuras según su tamaño y características. Es un terreno dedicado a la multiplicación y cría de plantas hasta el momento en que están suficientemente fuertes y formadas para ser plantadas en su terreno de asiento o ser vendidas. Frecuentemente se le da el nombre de vivero a los establecimientos comerciales que sólo venden (Uribe *et al.*, 2011).

2.4 Marco Legal

La siguiente es la reglamentación vigente para actividades de propagación de plantas forrajeras:

Resolución ICA N° 3034 de 1999: Por la cual se expiden normas para la producción, importación, exportación, distribución y comercialización de semillas para siembra en el país y se dictan otras disposiciones.

Artículo 1o. La presente resolución tiene por objeto: Reglamentar y controlar la producción, multiplicación, importación, exportación, distribución y comercialización de semillas sexual y asexual en el territorio nacional, preservando la calidad genética, fisiológica, sanitaria y física de las semillas para siembra, con el fin de garantizar la calidad del material producido y comercializado.

Artículo 9o. Toda persona natural o jurídica que realice alguna de las siguientes actividades en semillas: Productor, importador, distribuidor, exportador y unidades de investigación, deberá registrarse en el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.

Artículo 22. Son elegibles para producción de semilla seleccionada las especies de gramíneas y leguminosas forrajeras y hortalizas, reglamentadas para este fin, quedando a competencia del ICA establecer la sustitución, ampliación y otras modificaciones cuando la situación lo amerite, como también la inclusión de otras especies que contribuyan a la producción y al comercio de semillas.

Artículo 51. Disponer de la infraestructura investigativa (propias o arrendadas) a nivel de laboratorio, invernadero o campo, apropiadas para las actividades a realizar, esta será

inspeccionada por funcionarios del ICA, para determinar que reúne las condiciones requeridas y emitir el concepto técnico respectivo.

Resolución ICA 2457 de 2010: Por medio de la cual se establecen los requisitos para el registro de las personas que se dediquen a la producción y comercialización de semillas para siembra y plántulas de especies forestales y se dictan otras disposiciones.

Artículo 1o. Objeto. Establecer los requisitos para el registro de las personas que se dediquen a la producción y comercialización de semillas para siembra y plántulas de especies forestales en áreas productoras de semillas y viveros forestales, con el fin de garantizar la calidad y la sanidad que debe cumplir todo material vegetal para reforestación.

Artículo 2o. Campo de Aplicación. Las disposiciones establecidas en la presente Resolución serán aplicadas a todas las personas naturales y jurídicas que se dediquen a la producción y comercialización de semillas para siembra y plántulas de especies forestales.

Artículo 7o. Producción de plántulas en vivero forestal. Se establecen y reglamentan dos (2) sistemas de producción de plántulas en vivero forestal:

1. Plántulas en sustrato.
2. Plántulas a raíz desnuda.

Marco legal para los viveros: Ley 30/2006 de semillas y plantas de vivero y recursos filogenéticos. Registro nacional de productores de semilla y de plantas de vivero. Reglamento general de producción. Reglamento general técnico y control de certificación.

3. Diseño Metodológico

3.1 Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo experimental con enfoque cuantitativo. Se implementó estadística descriptiva e inferencial.

3.2 Población y Muestra

3.2.1 Población. La población que se usó corresponde a la cantidad de semillas de la especie forrajera de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) y especie de botón de oro (*Tithonia diversifolia*), establecida de forma natural en el área metropolitana de Cúcuta y municipios aledaños.

3.2.2 Muestra. En total se utilizaron 1425 semillas de *Leucaena* procedentes del municipio de Villa del Rosario sobre la autopista internacional vía a San Antonio y 1425 semillas de botón de oro obtenidas sobre la vía que conduce al municipio de Chinácota.

3.3 Diseño de Experimentos

Se evaluaron tres repeticiones utilizando como unidad experimental 25 bolsas de vivero (4 x 8 pulgadas) para *Leucaena* y 25 para botón de oro respectivamente. En total se desarrollaron dos experimentos planteando un modelo factorial A x B con nueve tratamientos y 27 unidades experimentales (3 repeticiones) más un testigo (3 repeticiones). Se evaluaron las técnicas de pre germinación de escarificación química (ácido sulfúrico) y escarificación hidrotérmica (agua a temperaturas elevadas). Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la UFPS ubicado en la sede Campos Elíseos, municipio de Los Patios.

Primer experimento: Se evaluó el uso de ácido sulfúrico con tres tiempos de inmersión (13,0; 16,5 y 20,0 minutos) a tres concentraciones, 35, 50 y 65 % para *Leucaena* y 10, 20 y 30 % para botón de oro.

Se utilizó ácido sulfúrico al 95% de concentración y se ajustó a las concentraciones requeridas según tratamientos planteados. La fórmula que se utilizó para calcular la cantidad de ácido sulfúrico y agua para obtener los porcentajes de concentraciones de cada tratamiento es la siguiente:

$$V1C1:V2C2$$

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 35\%}{95\%} = \mathbf{36,84 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 35% de concentración de H₂SO₄.

Cantidad de agua para la solución: 100 mL – 36,84 mL = **63,16 mL** de agua se necesita para preparar la solución con H₂SO₄., para obtener el 35% de concentración de H₂SO₄.

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 50\%}{95\%} = \mathbf{52,63 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 50% de concentración de H₂SO₄.

Cantidad de agua para la solución: 100 mL – 52,63 mL = **47,37 mL** de agua se necesita para preparar la solución con H₂SO₄., para obtener el 50% de concentración de H₂SO₄.

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 65\%}{95\%} = \mathbf{68,42 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 65% de concentración de H₂SO₄.

Cantidad de agua para la solución: $100 \text{ mL} - 68,42 \text{ mL} = \mathbf{31,58 \text{ mL}}$ de agua se necesita para preparar la solución con H_2SO_4 , para obtener el 65% de concentración de H_2SO_4 .

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 30\%}{95\%} = \mathbf{31,58 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 30% de concentración de H_2SO_4 .

Cantidad de agua para la solución: $100 \text{ mL} - 31,58 \text{ mL} = \mathbf{68,42 \text{ mL}}$ de agua se necesita para preparar la solución con H_2SO_4 , para obtener el 30% de concentración de H_2SO_4 .

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 20\%}{95\%} = \mathbf{21,05 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 20% de concentración de H_2SO_4 .

Cantidad de agua para la solución: $100 \text{ mL} - 21,05 \text{ mL} = \mathbf{78,95 \text{ mL}}$ de agua se necesita para preparar la solución con H_2SO_4 , para obtener el 20% de concentración de H_2SO_4 .

$$\text{Volumen} = \frac{100 \text{ mL} \times 10\%}{95\%} = \mathbf{10,52 \text{ mL}}$$
 de ácido sulfúrico se necesita para preparar la solución

con agua, para obtener el 10% de concentración de H_2SO_4 .

Cantidad de agua para la solución: $100 \text{ mL} - 10,52 \text{ mL} = \mathbf{89,48 \text{ mL}}$ de agua se necesita para preparar la solución con H_2SO_4 , para obtener el 10% de concentración de H_2SO_4 .

Segundo Experimento: Se evaluó el uso de agua caliente con tres tiempos de inmersión (2, 4 y 6 minutos) a tres temperaturas (50, 70 y 90 ° C). Usando planchas eléctricas y vaso precipitado se llevó el agua a punto de ebullición, se introdujo el termómetro y se registró el descenso de temperatura, al observarse la temperatura experimental según tratamiento se introduce la semilla,

iniciando el registro de tiempo. Se finalizó vaciando la semilla en un colador, para dejar en reposo hasta alcanzar temperatura ambiente.

Para los dos experimentos, el tiempo se registró utilizando la función de cronometro disponible en celulares Android. La temperatura se registró con termómetro marca ktj-Ta318. La inmersión en ácido sulfúrico y en agua a temperatura elevada se realizó en vasos precipitado. La inmersión a temperatura ambiente fue en recipientes plásticos.

3.4 Hipótesis

De acuerdo a la evaluación de las variables experimentales, se plantean las siguientes hipótesis como posibles resultados al finalizar la investigación:

H₀: La aplicación de las técnicas de pre germinación a las semillas de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*) para el rompimiento de la cutícula no incide en la germinación y el desarrollo de las plántulas.

H₁: Se considera que al menos una de las técnicas de pre germinación para el rompimiento de la cutícula de las semillas de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*), afectará de manera positiva la germinación y el desarrollo de las plántulas.

3.5 Variables Dependientes

Se registró la temperatura y humedad ambiental; y se tomaron datos al cuarto día pos siembra seguido del registro de datos cada tres días hasta el día 43 para *Leucaena* y el día 33 para botón de oro, permitiendo evaluar las siguientes variables:

Nivel de germinación (Porcentaje), tiempo de germinación (días), tiempo para formación de hojas seminales y nomófilas (días), longitud del tallo (cm), longitud de la raíz (cm), cantidad de hojas nomófilas (número), peso de la planta sin raíz (g) y peso de la raíz (g).

3.6 Fases de la Investigación

3.6.1 Ubicación. El proyecto se desarrolló en la sede Campo Elíseos (UFPS), municipio de Los Patios. Las técnicas de pre germinación se ejecutaron en el laboratorio de nutrición animal de dicha sede y la siembra se llevó a cabo en el módulo académico para proyectos de aula de la asignatura de Diseño Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente ubicado detrás del Laboratorio de Nutrición de peces y Laboratorio de Anatomía y Fisiología Animal. Las instalaciones del módulo corresponden a 5,5 m de ancho x 18 m de largo a campo abierto con cubierta de poli sombra al 65% de oscuridad. El suelo tiene una capa de triturado como soporte. La siembra se realizó en bolsa de vivero (ver figura 1).



Figura 1. Ubicación del laboratorio de nutrición animal y modulo académico en el cual se realizó la aplicación de los tratamientos, la siembra y el desarrollo del cultivo de *Leucaena* y botón de oro

3.6.2 Procedencia de la semilla. Las semillas de *Leucaena* se recolectaron a finales del mes de septiembre de 2019 en árboles con altura aproximada de 2,5 a 3,0 m y un tallo principal no bifurcado desde la base. El punto de recolección fue un terreno plano actualmente sin uso

agrícola o pecuario, ubicado en el municipio de Villa del Rosario Norte de Santander, al margen derecho de la vía que conduce de Cúcuta a San Antonio (Venezuela), próximo al intercepto con el desvío hacia el parque principal de Villa del Rosario (ver figura 2).



Figura 2. Lugar donde se recolectó y seleccionó las vainas de *Leucaena*

Se recolectaron vainas próximas a la dehiscencia de color marrón, dejándolas bajo sombra durante 8 días (Gonzales y Mendoza, 2008; Insuasty *et al.*, 2012; Uribe *et al.*, 2011). Posterior al reposo bajo sombra, se abrieron extrayendo las semillas, seleccionando las de color característico marrón, un tamaño homogéneo con una forma de gota (visual de 8 mm promedio).

Las semillas de botón de oro se recolectaron a la tercera semana del mes de octubre de 2019, de vegetación presente a orilla de carretera, en el tramo comprendido desde el desvío de la vía principal Cúcuta Pamplona hacia el municipio de Chinácota, Norte de Santander. Se tomaron de plantas con abundantes flores que hayan perdido parcialmente sus pétalos (Romero *et al.*, 2014), las cuales se dejaron secar bajo sombra cubiertas con periódico durante 8 días. Posteriormente se retiraron manualmente las semillas de botón de oro de cada flor (ver figura 3).



Figura 3. Proceso de recolección de las flores de botón de oro y la obtención de las semillas

3.6.3 Selección y desinfección de las semillas de *Leucaena* y botón de oro. En el laboratorio de Nutrición Animal se realizó la selección de las semillas de *Leucaena*, descartando defectuosas en color, tamaño y forma (semillas visualmente muy pequeñas o grandes al grupo extraído de la vaina para *Leucaena*; semillas amorfas) (Uribe *et al.*, 2011). De igual forma, se realizó selección visual de las semillas de botón de oro, descartando aquellas con presencia de insectos, vainas vacías, color blanquecino con apariencia de formación de hongos. Luego de seleccionarlas se desinfectaron con cloro (hipoclorito de sodio) sumergiendo las semillas en una solución al 5 % durante 5 minutos, terminado el tiempo se lavaron con abundante agua, trasladando las semillas a servilletas para su posterior secado (ver figura 4).



Figura 4. Selección, desinfección y conteo de las semillas de *Leucaena* y botón de oro

Se contó la cantidad de semillas de *Leucaena* y botón de oro requeridas por experimento, considerando el uso de tres repeticiones con 25 semillas por unidad experimental (25 bolsas de

4*8 pulgadas), con un adicional de 10% al requerido, propiciando por garantizar la disponibilidad de material al momento de la siembra.

3.6.4 Preparación del compostaje (gallinaza) en pila estática aireada. La propuesta inicial contempló para la siembra el uso de sustrato a base de gallinaza compostada (Hoyos *et al.*, 2010), sin embargo, durante el primer semestre de 2019, se inició la siembra con este material, generando como resultado, una germinación nula (0% de germinación). El proyecto se reestructuro al uso de compostaje de bovinaza (Vasques *et al.*, 2012).

3.6.5 Preparación del compostaje de bovinaza en pila estática aireada. A continuación, se indican los materiales que se utilizaron para la preparación del compostaje de bovinaza en pila estática aireada y el procedimiento para la elaboración del mismo. Los materiales son los siguientes: 1012 Kg de bovinaza, 7 Kg de aserrín, 4 Kg de melaza, 4 palas, un metro de tubo de PVC de 2 pulgadas, 3 cernidores y agua.

La bovinaza se obtuvo de la finca la ilusión ubicada en la vereda Agua blanca del municipio de San José de Cúcuta-Norte de Santander. El procedimiento de la preparación del compostaje de bovinaza en pila estática aireada fue el siguiente:

Paso 1. Se identificó por literatura la relación de carbono/nitrógeno (C/N) de la bovinaza pura (relación 25:1). Se utilizó aserrín por el alto valor de C/N de 638:1 (FAO, 2013), como material para obtener el rango ideal de un compostaje en pila que es de 25:1 a 30:1 (C/N) (Córdoba, 2006). La cantidad de aserrín se calculó con la siguiente operación:

1012 Kg (bovinaza previamente cernida) con relación (C/N) de 25:1

7 Kg de aserrín con relación (C/N) de 638:1

1019 Kg (cantidad total de la mezcla de la gallinaza y el aserrín)

$1012 \text{ Kg} \times 100 / 1019: 99,31$

$7 \text{ Kg} \times 100 / 1, 019,000: 0,6869$

$99,31 / 100: 0,9931$

$0,6869 / 100: 0,006869$

$0,9931 \times 25:1: 24,8275$

$0,006869 \times 638:1: 4,3824$

$24,8275 + 4,3824: \mathbf{29,2099}$

Paso 2. Se cernió y se pesó la bovinaza, luego se mezcló con el aserrín, posteriormente se le agregó 4 Kg de melaza más agua respectivamente hasta obtener una humedad óptima (se realizó la prueba de puño para medir la humedad del compostaje). Se amontono el compostaje en forma de pila, introduciendo un tubo de PVC de 2 pulgadas con agujeros de lado a lado para garantizar un buen sistema de aireación en la pila (ver figura 5).



Figura 5. Proceso de pesaje, mezcla de la bovinaza tamizada con el aserrín y la melaza, toma de temperatura diaria y volteos de la pila de bovinaza

Paso 3. Se registró la temperatura diaria (entre 6:30 am a 8:30 am). Se le realizó la prueba de humedad (prueba de puño), si la superficie de la pila del compostaje estaba muy seca, se agregaba agua. Se realizaron los volteos necesarios a la pila, para la entrada de oxígeno al compostaje (ver Figura 5). Finalmente se envió una muestra del compostaje al laboratorio del

Instituto Geográfico Agustín Codazzi - IGAC. Bogotá, para el respectivo análisis (ver anexos).

3.6.6 Aplicación de las técnicas de pre germinación en las semillas de *Leucaena* y botón de oro. En el primer experimento se evaluó el uso de ácido sulfúrico con tres tiempos de inmersión (13,0; 16,5 y 20,0 minutos) a tres concentraciones, 35, 50 y 65 % para *Leucaena* y 10, 20 y 30 % para botón de oro. Se utilizaron vasos precipitados que contenían 75 semillas y estaba rotulado con su respectivo tratamiento y repetición. Posterior a sumergir la semilla según tratamiento, las semillas de *Leucaena* se pasaron por filtro de porcelana y las semillas de botón de oro por un colador plástico de uso doméstico. Se les retiro el ácido sulfúrico con agua destilada, luego se colocaron en servilletas separándolas para su posterior secado (ver figura 6).



Figura 6. Aplicación del tratamiento de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión para la semilla de *Leucaena* y botón de oro

En el segundo experimento se evaluó el uso de agua caliente con tres tiempos de inmersión (2, 4 y 6 minutos) a tres temperaturas (50, 70 y 90 ° C) para *Leucaena* y botón de oro. Se usaron

planchas eléctricas y vasos precipitados marcados cada uno con su respectivo tratamiento y repetición, cada vaso contenía 75 semillas. Se llevó el agua a punto de ebullición, se introdujo el termómetro y se registró el descenso de temperatura, al observarse la temperatura experimental según tratamiento se sumergió la semilla, iniciando el registro de tiempo de inmersión. Se finalizó vaciando las semillas de *Leucaena* en un filtro de porcelana y las semillas de botón de oro en un colador plástico. Luego se colocaron en servilletas y se separaron las semillas, se dejaron en reposo para su posterior secado hasta alcanzar temperatura ambiente (ver figura 7).



Figura 7. Aplicación del tratamiento a las semillas de *Leucaena* y botón de oro a base de agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión

Para los dos experimentos realizados en el laboratorio de nutrición animal el tiempo se registró utilizando la función de cronómetro disponible en celulares Android. La temperatura del agua en el segundo experimento se registró con termómetro vidrio marca ASTM.

3.6.7 Siembra y desarrollo del cultivo de *Leucaena* y botón de oro. Se realizó la mezcla del compostaje de bovinaza con cienago en proporción 1:1. Se mezcló hasta homogenizar (ver figura 8).



Figura 8. Proceso de mezclado y homogenizado del compostaje de bovinaza con cienago en proporción 1:1

Se realizó el llenado de las bolsas (10 cm de ancho * 20 cm de alto), pesando el sustrato en balanza analítica (400 g/bolsa). Se aplicó un primer riego humedeciendo el sustrato. Se realizó un agujero de dos centímetros de profundidad y 1.5 cm de ancho; se procedió a introducir la semilla, se tapó con el mismo sustrato, se le realizó un riego suave (ver figura 9).



Figura 9. Llenado y pesaje de las bolsas de vivero, siembra de *Leucaena* y botón de oro

La siembra de *Leucaena* se realizó el día 08 de octubre del 2019. La figura 10 indica la distribución de las unidades experimentales para el cultivo de *Leucaena* y de botón de oro; y la tabla 3 detalla la conformación de cada tratamiento evaluado.

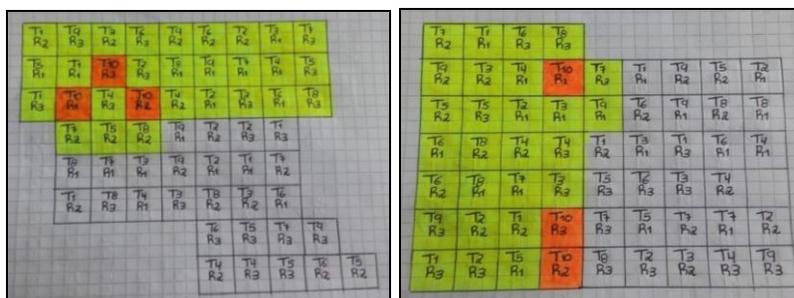


Figura 10. Distribución de unidades experimentales para el cultivo de *Leucaena* y botón de oro

La imagen de la izquierda corresponde al cultivo de *Leucaena* y en la derecha al botón de oro. En amarillo se indican las unidades experimentales para los tratamientos con ácido sulfúrico, en color naranja el grupo testigo y sin color los tratamientos con inmersión en agua a diferentes temperaturas.

Tabla 3. Tratamientos evaluados como técnicas de pre germinación en *Leucaena* y botón de oro

Tratamiento	Experimento 1		Experimento 2			
	Ácido sulfúrico – <i>Leucaena</i>	Ácido sulfúrico – Botón de oro	Inmersión e agua - <i>Leucaena</i> y Botón de oro			
	Concentración (%)	Tiempo (minutos)	Concentración (%)	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)
T1	35	13	10	13	50	2
T2	35	16,5	20	16,5	50	4
T3	35	20	30	20	50	6
T4	50	13	10	13	70	2
T5	50	16,5	20	16,5	70	4
T6	50	20	30	20	70	6
T7	65	13	10	13	90	2
T8	65	16,5	20	16,5	90	4
T9	65	20	30	20	90	6
T10	Testigo					

Una semana después, se aplicó en horas de la mañana un fungicida (MAKIO, ingrediente activo carbendazim) para controlar presencia de hongos en las plántulas, utilizando una dosis de 25 cc por 10 litros de agua. A la tercera semana pos siembra se presentó defoliación por presencia de insectos en el cultivo. Se aplicó un insecticida (FULMINATOR, ingrediente activo profenofos y cipermetrina) utilizando 5 cc por cada 10 litros de agua. Posterior a la fumigación, algunas plántulas no toleraron el producto químico, generando la pérdida de las plántulas recientemente germinadas (ver figura 11).



Figura 11. Aplicación de fungicida e insecticida los para controlar presencia de hongos y plagas; evidencia de la defoliación y afectación por el producto insecticida

Se registró temperatura ambiental, precipitación y humedad relativa diaria en los rangos de 6.30 am a 8.30 am. El experimento del cultivo de *Leucaena* finalizó el día 20 de noviembre del 2019 con una duración en campo de 43 días.

Con la finalidad de controlar preventivamente la presencia de hongos en el cultivo de botón de oro, previo a la siembra, en las horas de la mañana del día 21 de octubre de 2019, se desinfectó el sustrato (mezcla de compostaje con cienago), aplicando una fumigación directa con formol al 5% de solución (2 litros de formol por 40 litros de agua). Las bolsas se taparon durante tres días, al tercer día se destaparon y se le aplicó MAKIO (ingrediente activo carbendazim) con una dosis de 50 cc por 20 litros de agua. La siembra del botón de oro se realizó el día 02 de noviembre del

2019 y finalizó el día 05 de diciembre del 2019 con una duración del cultivo de 33 días (ver figura 12).



Figura 12. Desinfección del sustrato (mezcla de compostaje y cienago) con formol al 5% y fungicida (carbendazim 50 cc por 20 L de agua), previo a la siembra de botón de oro

3.6.8 Riego. Se realizó manual utilizando una manguera con pistola de varios tipos de chorros. El riego fue una vez al día en las horas de la mañana y cuando había presencias de lluvias durante el día o la noche anterior, no se realizaba el riego.

3.6.9 Registro de variables en las plantas de *Leucaena*. Finalizado el tiempo del experimento del cultivo de *Leucaena* se procedió a extraer las plantas de las bolsas de vivero, sin afectar físicamente la raíz para proceder a registrar las variables dependientes, actividad realizada en el laboratorio de Nutrición Animal.

Se registró para cada planta longitud del tallo (cm), longitud de la raíz (cm), cantidad de hojas nomófilas (número), peso de la planta sin raíz (g) y peso de la raíz (g).

Posteriormente se calculó por repetición el porcentaje de materia seca de la planta sin raíz. Se introdujeron al horno las bandejas durante tres días (03 hasta 06 de diciembre de 2019), con una temperatura de 60 ° C. Se retiró la bandeja dejándola en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiental. Finalmente se obtuvo el peso seco calculando el porcentaje de materia seca (ver figura

13).



Figura 13. Extracción de las plantas de *Leucaena* de las bolsas de vivero, registro de variables y análisis de materia seca

3.6.10 Registro de variables en las plantas de botón de oro. El experimento con semillas de botón de oro se consideró no exitoso. La cantidad de semillas germinadas fue baja. Se registró porcentaje y tiempo de germinación, tiempo para formación de hojas seminales y nomófilas.

3.7 Análisis de Datos

Para analizar los datos, se verificó el cumplimiento de homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene y normalidad usando Shapiro Wilk. En las variables que cumplen con estos supuestos se aplicó Análisis de varianza ANOVA bajo un modelo Factorial con un tratamiento extra o tratamiento testigo.

Al identificarse no cumplimiento de homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis. En este caso, se analizó cada factor de manera independiente asumiendo un modelo completamente al azar.

En algunos casos se reportó el coeficiente de determinación R^2 para establecer la bondad del modelo, en qué proporción es explicada la variable dependiente a partir de la independiente

analizada.

Para las variables de crecimiento y desarrollo de la planta, siempre que se cumpliera el supuesto de homogeneidad de varianzas se realizó COVARIANZA utilizando un modelo factorial completamente al azar con la variable longitud del tallo como covariable. En los casos de no cumplimiento de homogeneidad de varianzas se aplicó prueba no paramétrica, desconociendo la incidencia o relación de la longitud del tallo sobre las variables respuesta.

4. Resultados

A continuación, se presentan los resultados referentes a la temperatura del compostaje, las variables ambientales registradas durante el experimento, la siembra de *Leucaena* sometiendo la semilla a pre germinación con ácido sulfúrico y en agua a diferentes temperaturas. Finalmente se presentan los resultados obtenidos con la siembra de botón de oro.

4.1 Compostaje

El compostaje de bovinaza, sustrato que finalmente se utilizó para la siembra de los forrajes evaluados, evidenció en la etapa mesofílica una temperatura inicial de 29°C en el primer día, finalizando el día siete con una temperatura de 40,6 °C. La etapa termófila ocurrió entre el día ocho con una temperatura de 45°C hasta el día dieciséis, alcanzando la temperatura máxima de la pila en 58,1 °C. La última etapa de mesofílica finalizó el día veinticinco con una temperatura de 30,1 °C iniciando maduración con una temperatura de 26,5 °C (ver figura 14).

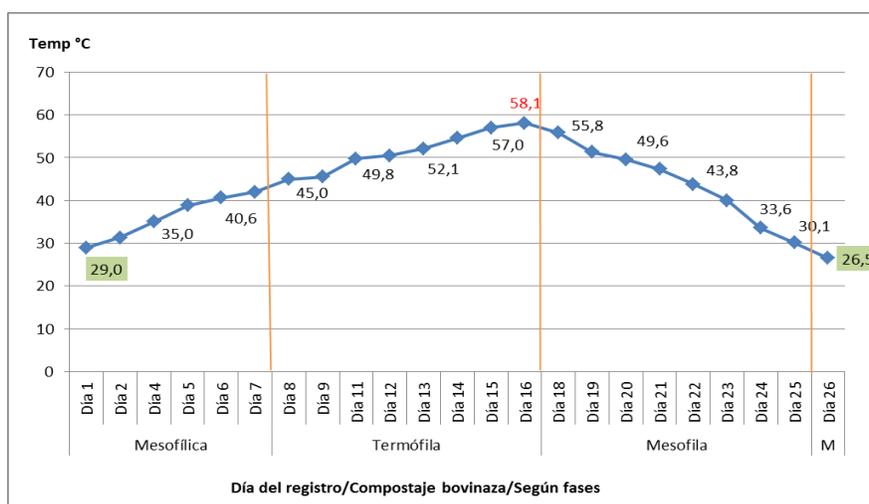


Figura 14. Temperatura promedio diaria registrada en el compostaje de bovinaza durante los 26 días en que se realizó este proceso

La tabla 4 indica el análisis químico realizado al compostaje de bovinaza utilizado en la siembra de *Leucaena* y botón de oro. El compostaje registro un pH básico de 8,14 y un nivel de materia orgánica de 36,34%. Considerando la ausencia de carbonato de calcio en la muestra, el carbono total es equivalente al carbono orgánico.

Tabla 4. Análisis químico del compost utilizado para la siembra de la *Leucaena* y el botón de oro

Ca	Mg	K	Fe	Cu	Mn	P	C	N	S	C/N
cmol (+)/Kg			(mg/Kg)			Porcentaje (%)				
19,10	11,85	43,74	51,22	2,38	68,63	446,22	21,08	1,72	0,42	12,25
Porcentaje (%)			Porcentaje (%)					--		--
0,38	0,14	1,71	--	--	--	0,044				

Fosforo disponible. Carbono y Nitrógeno Total. C/N: Relación carbono nitrógeno.

4.2 Variables Ambientales

El cultivo de *Leucaena* se desarrolló durante las ocho semanas relacionadas en la figura 19, 20 y 21. La siembra de botón de oro se desarrolló entre la tercera y octava semana del experimento. La temperatura ambiental más baja se registró en la sexta semana del experimento con 23,75 °C y la más alta en la quinta semana con 29,3 °C. La temperatura promedio durante las ocho semanas se registró entre 26,65 y 27 °C (ver figura 15).

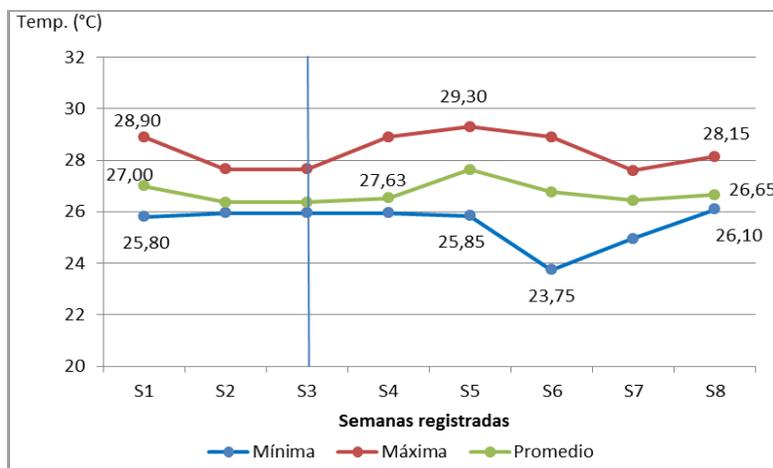


Figura 15. Temperatura ambiental mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento

La humedad relativa más baja se registró en la segunda semana del experimento con 54% y la más alta en la sexta semana con 86%. El promedio de la humedad relativa durante las ocho semanas se registró entre 65,50% y 68,11%. Desde la quinta a la octava semana, se presentó la humedad relativa más elevada (ver figura 16).

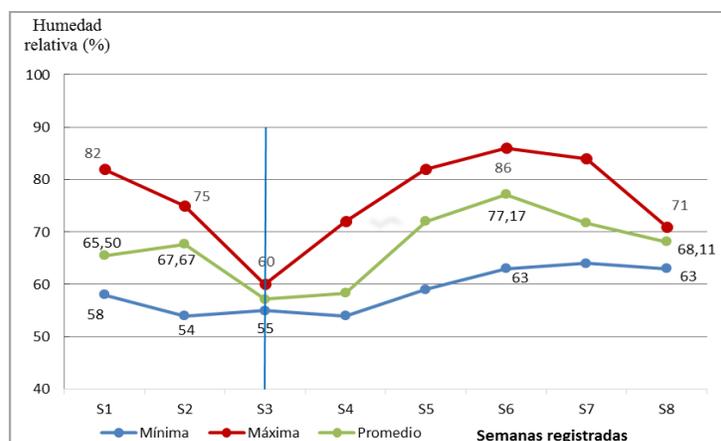


Figura 16. Humedad mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento

Durante la tercera y cuarta semana no se presentaron lluvias. La mínima y máxima precipitación ocurrió en la semana dos y seis respectivamente. Las lluvias más fuertes se presentaron desde la quinta a la séptima semana. El promedio de la precipitación durante las ocho semanas se registró entre 10,5 mL y 12 mL (ver figura 17).

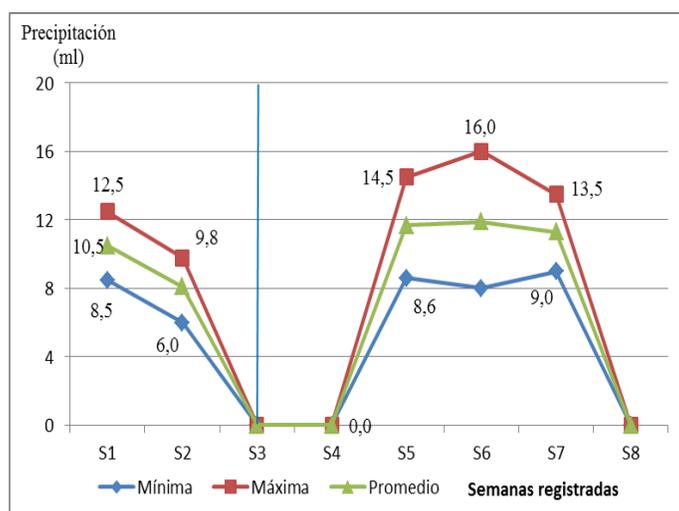


Figura 17. Precipitación mínima, máxima y promedio registrada semanalmente durante el desarrollo del experimento

4.3 Semillas de *Leucaena* Sumergidas en Ácido Sulfúrico a Diferentes Concentraciones y Tiempos de Inmersión

A continuación, se relacionan las variables evaluadas según el uso de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempo de inmersión:

4.3.1 Nivel de germinación (%) de semillas de *Leucaena*. Se presentaron diferencias significativas en el nivel de germinación de las semillas de *Leucaena* a partir de los tratamientos conformados por la concentración del ácido sulfúrico y el tiempo de inmersión, registrándose la mayor cantidad de semillas germinadas al usar 65% de ácido durante una inmersión de 20

minutos, seguido de sumergir la semilla 16,5 minutos y 13 minutos. El nivel más bajo de germinación se presentó en el grupo testigo y utilizando el ácido a 35% y 50% de concentración en los tres tiempos de inmersión mencionados (ver tabla 5).

Tabla 5. Nivel de germinación (%) de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos

TTO	Tratamiento	Promedio \pm EE CV	TTO	Tratamiento	Promedio \pm EE CV
1	35% a 13 min.	8,00 \pm 4,00 a CV: 86,60 %	6	50% a 20 min.	20,00 \pm 8,33 ab CV: 72,11 %
2	35% a 16,5 min.	9,33 \pm 1,33 a CV: 24,74 %	7	65% a 13 min.	36,00 \pm 8,33 c CV: 40,06%
3	35% a 20 min.	18,67 \pm 3,53 ab CV: 32,73 %	8	65% a 16,5 min.	50,67 \pm 2,67 d CV: 9,12 %
4	50% a 13 min.	18,67 \pm 5,33 ab CV: 49,49 %	9	65% a 20 min.	65,33 \pm 3,53 e CV: 9,35 %
5	50% a 16,5 min.	28,00 \pm 4,62 bc CV: 28,57 %	10	Testigo	9,33 \pm 2,67 a CV: 49,49 %

Promedio calculado con tres repeticiones. Cada repetición se constituyó de 25 bolsas de vivero.

El nivel de germinación fue estadísticamente diferente a partir de la concentración del ácido sulfúrico y el tiempo de inmersión. Al incrementar la concentración del ácido y el tiempo de inmersión, aumenta la cantidad de semillas germinadas, obteniéndose los mejores resultados al aplicar la técnica de pre germinación con 65% de concentración y 20 minutos de inmersión, seguido de 16,5 minutos (ver tabla 6).

Tabla 6. Nivel de germinación (%) de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según los factores (Factor A: concentración de ácido sulfúrico y Factor B: Tiempo de inmersión)

Factor A: Concentración		Factor B: Tiempo de inmersión	
Nivel	Promedio \pm EE CV	Nivel	Promedio \pm EE CV
35%	12,00 \pm 2,31 a CV: 57,74%	13 minutos	20,89 \pm 5,11 a CV: 73,40%
50%	22,22 \pm 3,47 b CV: 46,86%	16,5 minutos	29,33 \pm 6,18 ab CV: 63,23%
65%	50,67 \pm 5,03 c CV: 29,80%	20 minutos	34,67 \pm 8,16 b CV: 70,66%

4.3.2 Tiempo para germinación de semillas de *Leucaena*. Se presentaron diferencias significativas para el tiempo de germinación (días), evidenciándose que en la medida que aumenta la concentración del ácido y los tiempos de inmersión, disminuye el número de días requerido para germinar la semilla. La mayor cantidad de semillas germinadas se presentó al usar el ácido sulfúrico a concentración de 65% durante una inmersión de 20 minutos, seguido de sumergir la semilla 16,5 y 13 minutos (según TTO). El tiempo para germinar más bajo se presentó en el grupo testigo y utilizando el ácido a 35 y 50% de concentración en los tres tiempos de inmersión. Algunas semillas germinaron en un mínimo de 4 días y un máximo de 37 días (ver tabla 7).

El tiempo de germinación fue estadísticamente heterogéneo según la concentración del ácido sulfúrico (Factor A) y homogéneo para los diferentes tiempos de inmersión (Factor B). El mejor resultado se dio a partir de la mayor concentración de ácido (65%) utilizando cualquier tiempo de inmersión. El tiempo mínimo y máximo para germinar algunas semillas, fue de 4 y 37 días (ver tabla 8).

4.3.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de *Leucaena*. Se registró la cantidad de días transcurridos después de la germinación hasta la aparición de las hojas seminales. El tiempo requerido para formar las hojas seminales no presentó diferencias significativas entre tratamiento y a partir de los factores. El tiempo mínimo y máximo después de la germinación para formar las hojas seminales fue de 3 y 12 días (ver tabla 7 y 8).

Tabla 7. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos a base de ácido sulfúrico

Tratamiento	T. germinación	T. hojas seminales	T. hojas nomófilas
T1	17,5	4,2	6,0
T2	17,7	4,8	4,5
T3	17,5	5,1	5,4
T4	10,2	5,0	5,0
T5	9,6	4,4	6,0
T6	10,2	5,1	5,3
T7	8,8	4,5	4,9
T8	10,9	4,5	5,1
T9	10,8	5,0	5,3
T10	12,1	4,3	4,7

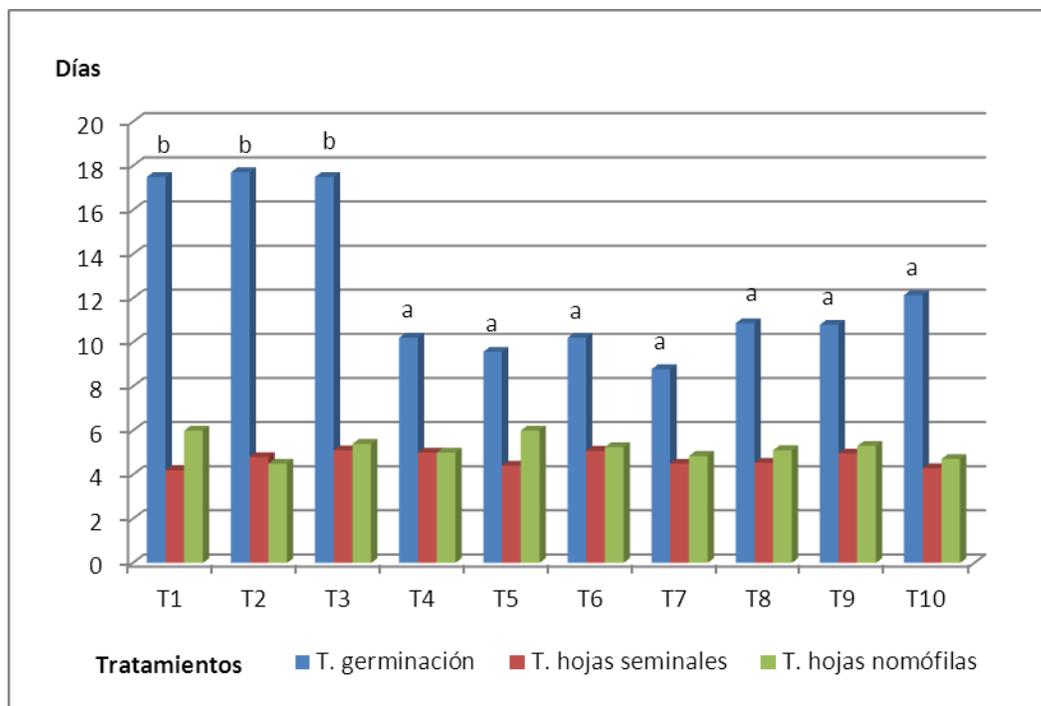


Figura 18. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos a base de ácido sulfúrico

Tabla 8. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según factores (concentración del ácido y tiempo de inmersión)

Factor	Tiempo para germinación				Tiempo posterior a la germinación para formar las hojas seminales				Tiempo posterior a la formación de hojas seminales para formar las hojas nomófilas			
	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.
Factor A: Concentración del ácido sulfúrico (%)												
35%	27	17,56 ± 1,94 b CV: 57,51%	7	37	20	4,80 ± 0,67 a CV: 62,17%	3	12	19	5,37 ± 0,49 a CV: 39,86%	3	12
50%	50	9,94 ± 0,62 ab CV: 44,16%	7	34	39	4,77 ± 0,24 a CV: 31,35%	3	6	37	5,51 ± 0,34 a CV: 37,42%	3	15
65%	114	10,34 ± 0,58 a CV: 59,47%	4	34	112	4,71 ± 0,16 a CV: 36,95%	3	9	110	5,13 ± 0,15 a CV: 30,02%	3	9
Factor B: Tiempo (minutos) de inmersión en el ácido sulfúrico												
13 minutos	47	10,32 ± 0,80 a CV: 53,29%	4	31	40	4,58 ± 0,26 a CV: 36,34%	3	9	40	5,03 ± 0,29 a CV: 36,75%	3	12
16,5 minutos	66	11,18 ± 0,79 a CV: 57,60%	4	34	59	4,53 ± 0,26 a CV: 43,30%	3	12	57	5,32 ± 0,27 a CV: 38,48%	3	15
20 Minutos	78	11,88 ± 0,91 a CV: 67,59%	7	37	72	5,00 ± 0,22 a CV: 37,68%	3	12	69	5,30 ± 0,17 a CV: 25,93%	3	9

4.3.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de *Leucaena*. Se registró la cantidad de días transcurridos después de la aparición de hojas seminales hasta la formación de las hojas nomófilas. No se presentaron diferencias en el tiempo requerido para formar las hojas nomófilas (según TTO y a partir de los factores). El tiempo mínimo y máximo después de la aparición de las hojas seminales para formar las hojas nomófilas fue de 3 y 15 días (ver tabla 7 y 8).

4.3.5 Sobrevivencia en el cultivo de *Leucaena*. Se registró pérdidas durante el desarrollo del cultivo en todos los tratamientos excepto el grupo testigo, sin embargo, las pérdidas se atribuyen a consecuencias de factores externos como presencia de plagas, hongos, condiciones ambientales no favorables y efectos secundarios de los productos químicos utilizados para controlar las plagas y la proliferación del hongo (ver tabla 9). En promedio para todos los grupos de plantas evaluados se registró una pérdida de 33,46%.

Tabla 9. Sobrevivencia (%) de la semilla germinada durante el desarrollo del experimento

	Plántulas que formaron cotiledón	Plantas que formaron hojas nomófilas	Plantas con registro en laboratorio	Pérdida total durante experimento
Promedio	85,18%	82,20%	66,54%	33,46%

4.3.6 Morfometría en las plantas de *Leucaena*. Se registraron las variables de peso de la raíz (g), longitud del tallo (cm), longitud de raíz (cm), peso plántula sin raíz (g) y cantidad de hojas nomófilas (#). Para cada tratamiento y/o factor se indicó el rango de edad en días para las plantas evaluadas. La variable peso de la raíz (g) presentó heterogeneidad de varianzas, por lo tanto, no se aplicó análisis de varianza. La longitud del tallo se tomó como covariable para longitud de la raíz y peso de la plántula. No se aplica análisis de varianza a cantidad de hojas

nomófilas por considerarse variable conteo.

Tabla 10. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 1

Tratamiento	Peso de la raíz (g)	Peso planta sin raíz (g)
T1	0,044	0,41
T2	0,019	0,21
T3	0,04	0,40
T4	0,034	0,41
T5	0,06	0,71
T6	0,046	0,51
T7	0,061	0,70
T8	0,045	0,50
T9	0,038	0,40
T10	0,045	0,62

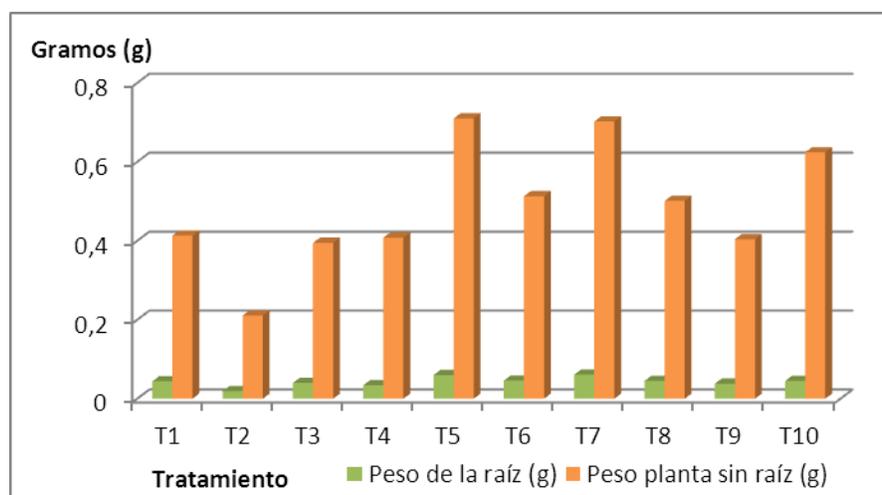


Figura 19. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 1

Tabla 11. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 2

Tratamiento	Longitud del tallo (cm)	Longitud de raíz (cm)
T1	4,65	9,60
T2	4,95	5,15
T3	5,93	9,98
T4	7,49	9,19
T5	6,59	11,34
T6	6,66	11,29
T7	7,76	12,39
T8	7,55	10,35
T9	8,05	12,49
T10	7,56	9,74

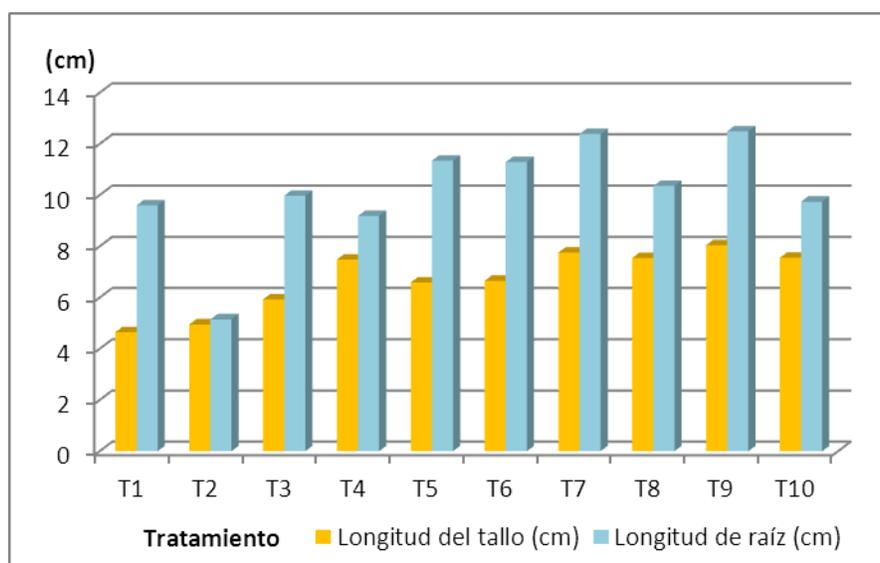


Figura 20. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 2

Tabla 12. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 3

Tratamiento	Cantidad de hojas nomófilas (#)
T1	4,75
T2	2,75
T3	4,33
T4	5,75
T5	5,86
T6	5,44
T7	6,00
T8	4,83
T9	4,76
T10	5,00

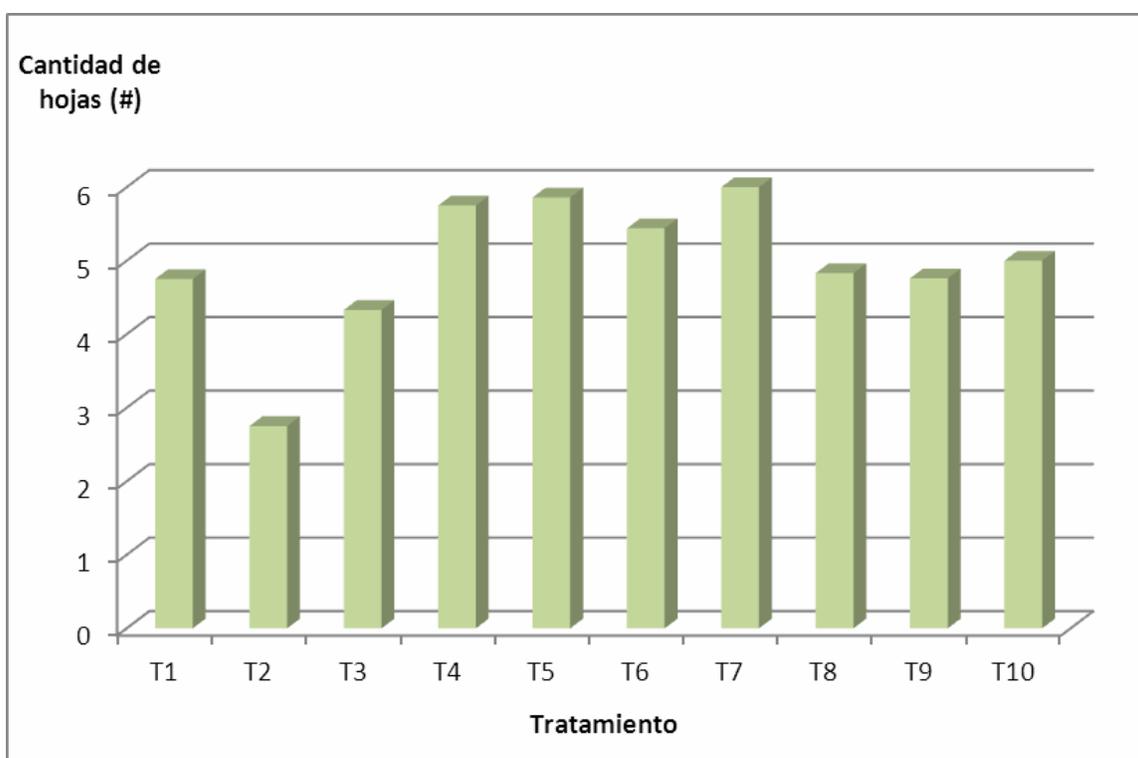


Figura 21. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tratamientos evaluados 3

Tabla 13. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según concentración del ácido sulfúrico

Factor A Conc.	Edad Min.	Edad Max.	n	Peso de la raíz (g)	Longitud del tallo (cm) R ² = 25% Beta = N/A	Longitud de raíz (cm) R ² Aj = 19% Beta = 0,52 cm	Peso planta sin raíz (g) R ² Aj = 36% Beta = 0,06 g	Cantidad de hojas nomófilas (#)
35%	9	36	17	0,036 ± 0,006 CV: 75,00%	5,400 ± 0,365 A CV: 27,87%	8,753 ± 1,020 a CV: 48,04%	0,356 ± 0,048 a CV: 56,46%	4,06 ± 0,378 CV: 38,42%
50%	27	36	31	0,049 ± 0,003 CV: 40,81%	6,842 ± 0,221 B CV: 18,03%	10,771 ± 0,423 ab CV: 21,90%	0,575 ± 0,038 a CV: 37,56%	5,71 ± 0,242 CV: 23,57%
65%	9	39	74	0,045 ± 0,002 CV: 73,33%	7,818 ± 0,211 C CV: 23,30%	11,776 ± 0,425 b CV: 31,06%	0,504 ± 0,030 a CV: 51,98%	5,07 ± 0,152 CV: 25,77%

Tabla 14. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra, según tiempo de inmersión en el ácido sulfúrico

Factor B T. de inmersión	Edad Min.	Edad Max.	n	Peso de la raíz (g)	Longitud del tallo (cm) R ² = 25% Beta = N/A	Longitud de raíz (cm) R ² Aj = 19% Beta = 0,52 cm	Peso planta sin raíz (g) R ² Aj = 36% Beta = 0,06 g	Cantidad de hojas nomófilas (#)
13 minutos	12	39	29	0,051 ± 0,007 CV:78,43%	7,255 ± 0,317 A CV:23,54%	11,121 ± 0,700 a CV:33,90%	0,581 ± 0,051 a CV:48,02%	5,76 ± 0,296 CV:27,70%
16,5 minutos	9	39	42	0,047 ± 0,004 CV:61,70%	6,981 ± 0,307 A CV:28,49%	10,188 ± 0,575 ab CV:36,57%	0,543 ± 0,044 a CV:53,59%	4,98 ± 0,211 CV:27,51%
20 minutos	9	36	51	0,040 ± 0,003 CV:52,50%	7,427 ± 0,252 A CV:24,28%	11,837 ± 0,455 b CV:27,44%	0,422 ± 0,023 a CV:38,86%	4,80 ± 0,179 CV:26,68%

Interacción de factores para longitud de raíz (p-valor = 0,046), para peso plántula (p-valor = 0,0001).

Peso de la raíz (g). El peso promedio de la raíz de *Leucaena* fue de 0,0432 g evidenciándose un dato mínimo de 0,019 g en el grupo del tratamiento 2 y un dato máximo de 0,061 g en el tratamiento 7 (ver tabla 11).

Cantidad de hojas nomófilas. En promedio para los diez tratamientos se registró 4,94 hojas nomófilas por planta; el rango varía entre 4 y 6 hojas, sin embargo, en el tratamiento dos se registró un conteo de 2,75 hojas (ver tabla 11, 12 y 13).

Longitud del tallo (cm). Esta variable está directamente relacionada con la edad de la planta. La concentración del ácido y el tiempo de inmersión explican el comportamiento de la altura del tallo en un 25%. Estadísticamente se presentaron diferencias a partir de los tratamientos, evidenciándose la mayor longitud al usar 65% de ácido con inmersión durante 20 minutos (TTO 9) y la menor longitud con 35% durante 13 minutos, sin embargo, se observa homogeneidad en el TTO 9 con el grupo testigo (TTO 10) (ver tabla 11).

Al evaluar la longitud según los factores, a mayor concentración del ácido sulfúrico se evidenció un mayor desarrollo del tallo, mientras el tiempo de inmersión indicó homogeneidad para esta variable (ver tabla 12 y 13).

Longitud de la raíz. La concentración del ácido y el tiempo de inmersión explican el comportamiento de la altura del tallo en un 25%. La longitud del tallo si incide como covariable sobre la longitud de la raíz, planteándose que por cada cm que crezca el tallo, la raíz crecerá en promedio 0,56 cm.

La mayor longitud en la raíz se registró en los tratamientos en que se utilizó el ácido a 65% con cualquiera de los tres tiempos de inmersión (TTO 7, 8 y 9). A su vez el grupo testigo, registra

homogeneidad con los tratamientos indicados (ver tabla 11).

Al evaluar según factores, se marca la diferencia estadística, identificándose que a mayor concentración del ácido utilizado como técnica de pre germinación, mayor es la longitud de la raíz. Respecto al tiempo de inmersión de la semilla, la tendencia es a la homogeneidad (ver tabla 12 y 13).

La interacción entre los factores presentó una probabilidad de 0,046 parámetro muy cercano al límite de confianza del 5%, por lo tanto, se asume la no existencia de diferencias según la interacción de factores.

Peso de la planta sin raíz. Esta variable es explicada en un 42% por la concentración del ácido y el tiempo de inmersión. Aunque la longitud del tallo si genera diferencias significativas como covariable, el peso de la planta varía tan solo en 0,06 g por cada cm que crezca el tallo.

Al evaluar esta variable según los tratamientos se observa una tendencia a la homogeneidad, criterio que se reitera al realizar el análisis según los factores, ratificándose que no se presentan diferencias significativas a partir de la concentración del ácido sulfúrico y a partir del tiempo de inmersión (ver tabla 11, 12 y 13). El peso de la planta es explicado por cada factor en un 36%.

La interacción entre los factores presentó diferencias significativas con una probabilidad de 0,0001. La figura 22 indica que existe la tendencia en la cual al aumentar la concentración manteniendo el mismo tiempo de inmersión incrementa el peso de la plántula sin raíz, sin embargo, para los tiempos de 16,5 y 20 minutos con la máxima concentración, disminuye el peso de la plántula.

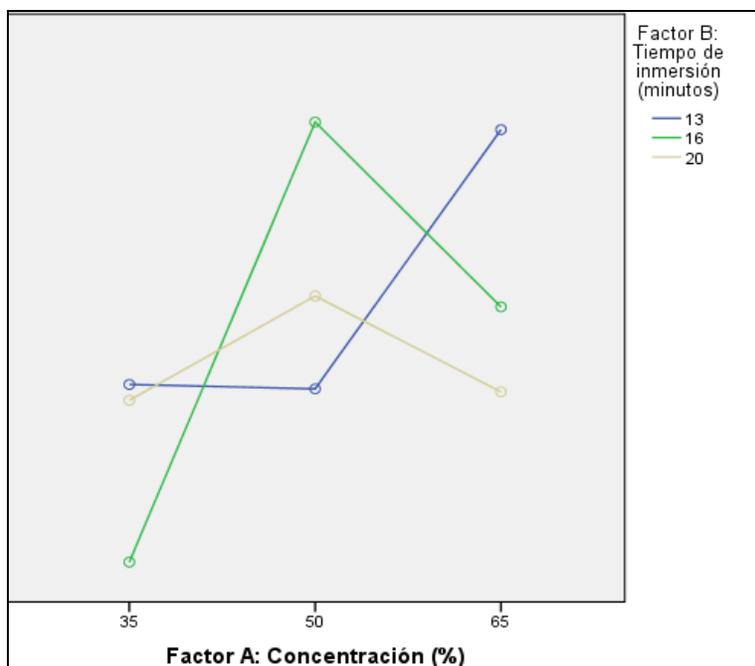


Figura 22. Interacción entre los factores para la variable de peso de la plántula sin raíz (g)

4.3.7 Materia seca de las plantas de *Leucaena*. El contenido promedio de materia seca en las plantas de *Leucaena* fue de 17,56% evidenciándose un dato mínimo de 15,91% en el tratamiento uno y un dato máximo de 19,18% en el tratamiento siete. En general, las plantas registraron un 17,73% de materia seca (ver tabla 15).

Tabla 15. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento

		MS (%)
Tratamiento	T 1	15,91
	T 2	16,72
	T 3	17,21
	T 4	18,93
	T 5	17,6
	T 6	17,28
	T 7	19,18
	T 8	17,56
	T 9	18,63
	T 10	16,63
Concentración	Ácido 30%	16,81
	Ácido 50%	18,02
	Ácido 65%	18,46
Inmersión	13 minutos	18,6
	16,5 minutos	17,29
	20 minutos	17,76

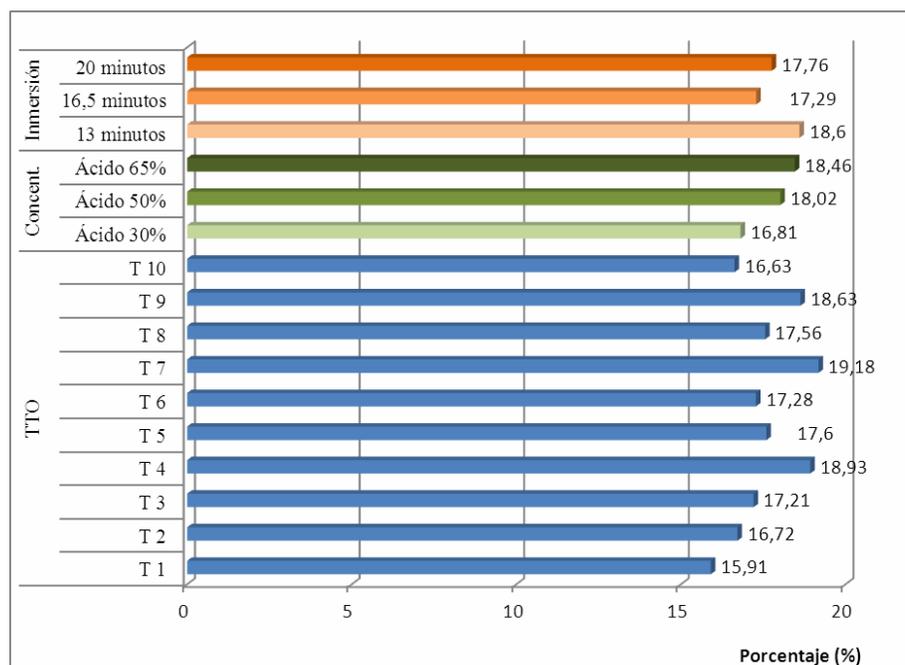


Figura 23. Interacción entre los factores para la variable de peso de la plántula sin raíz (g)

4.4 Semillas de *Leucaena* Sumergidas en agua a Diferentes Temperaturas y Tiempos de Inmersión

A continuación, se relacionan las variables evaluadas según el uso de agua a diferentes temperaturas y el tiempo de inmersión de la semilla:

4.4.1 Nivel de germinación (%) de semillas de *Leucaena*. Se presentaron diferencias significativas en el nivel de germinación de las semillas de *Leucaena* al aumentarse la temperatura del agua y el tiempo de inmersión, registrándose la mayor cantidad de semillas germinadas al usar 90 °C durante una inmersión de 4 minutos, seguido de sumergir la semilla 6 minutos y 2 minutos con la misma temperatura.

El nivel más bajo de germinación se presentó en los tratamientos con una temperatura de 50 °C y 70 °C seguido del grupo testigo en los tres tiempos de inmersión mencionados (ver tabla 16).

Tabla 16. Nivel de germinación (%) de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos (agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión)

Tratamiento		Promedio ± EE CV	Tratamiento		Promedio ± EE CV
1	50°C a 2 min.	14,67 ± 8,11 ab CV: 95,43%	6	70°C a 6 min.	24,00 ± 4,61 bc CV:33,33%
2	50°C a 4 min.	8,00 ± 2,30 a CV:50,00%	7	90°C a 2 min.	68,00 ± 4,61 d CV:11,76%
3	50°C a 6 min.	8,00 ± 2,30 a CV:50,00%	8	90°C a 4 min.	88,00 ± 6,11 e CV:12,02%
4	70°C a 2 min.	21,33 ± 2,66 abc CV:21,61%	9	90°C a 6 min.	72,00 ± 4,61 d CV:11,11%
5	70°C a 4 min.	32,00 ± 4,00 c CV:21,62%	10	Testigo	9,33 ± 2,66 a CV:49,41%

Promedio calculado con tres repeticiones. Cada repetición se constituyó de 25 bolsas de vivero, equivalente al 100%.

Al realizar el análisis por factores, el nivel de germinación fue estadísticamente heterogéneo a partir de las diferentes temperaturas del agua. Al incrementar la temperatura del agua, aumenta la cantidad de semillas germinadas, utilizando cualquier tiempo de inmersión, obteniéndose los mejores resultados al aplicar la técnica de pre germinación con 90 °C de temperatura y 4 minutos de inmersión (ver tabla 17).

Tabla 17. Nivel de germinación (%) de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según los factores evaluados

Factor A: Temperatura del agua		Factor B: Tiempo de inmersión en el agua	
Nivel	Promedio ± EE CV	Nivel	Promedio ± EE CV
50°C	10,22 ± 2,76 a CV:80,93%	2 minutos	34,67 ± 8,84 a CV:76,54%
70°C	25,78 ± 2,50 b CV:29,15%	4 minutos	42,67 ± 12,06 a CV:84,76%
90°C	76,00 ± 4,00 c CV:15,79%	6 minutos	34,67 ± 9,82 a CV:84,99%

4.4.2 Tiempo para germinación de semillas de *Leucaena*. Se presentaron diferencias significativas para el tiempo de germinación (días), registrándose el menor tiempo para germinar en el grupo testigo con 12,14 días (TTO 10), siendo este dato homogéneo con el tiempo requerido para germinar en los grupos en que se utilizó agua a 50°C durante 2 minutos y a 70°C y 90°C en los tres tiempos de inmersión. La tendencia es a la homogeneidad entre los tratamientos, indicándose que la técnica de pre germinación a base de agua a diferentes temperaturas y con diferentes tiempos de inmersión no afecta el tiempo para germinar (ver tabla 18).

El tiempo de germinación según la temperatura del agua fue estadísticamente homogéneo (Factor A) y heterogéneo para los diferentes tiempos de inmersión (Factor B). El mejor resultado se dio a partir del mayor tiempo de inmersión utilizando cualquier temperatura. El tiempo mínimo y máximo para germinar algunas semillas, fue de 7 y 37 días (ver tabla 19).

4.4.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de *Leucaena*. Se registró la cantidad de días transcurridos después de la germinación hasta la aparición de las hojas seminales. El tiempo requerido para formar las hojas seminales no presentó diferencias significativas entre tratamientos y a partir de los factores. El tiempo mínimo y máximo después de la germinación para formar las hojas seminales fue de 3 y 12 días (ver tabla 18 y 19).

4.4.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de *Leucaena*. Se registró la cantidad de días transcurridos después de la aparición de hojas seminales hasta la formación de las hojas nomófilas. No se presentaron diferencias en el tiempo requerido para formar las hojas nomófilas (según TTO y a partir de los factores). El tiempo mínimo y máximo después de la aparición de las hojas seminales para formar las hojas nomófilas fue de 3 y 15 días (ver tabla 18 y 19).

Tabla 18. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos a base de agua a diferentes temperaturas y con diferentes tiempos de inmersión

Tratamiento	T. germinación	T. hojas seminales	T. hojas nomófilas
T1	14,6	5,4	4,8
T2	20,5	4,8	4,2
T3	21,5	3,0	3,0
T4	16,2	4,3	3,5
T5	17,4	4,4	3,4
T6	18,3	3,6	4,5
T7	16,2	4,7	4,4
T8	14,6	4,2	4,1
T9	18,5	4,4	4,0
T10	12,1	4,3	4,7

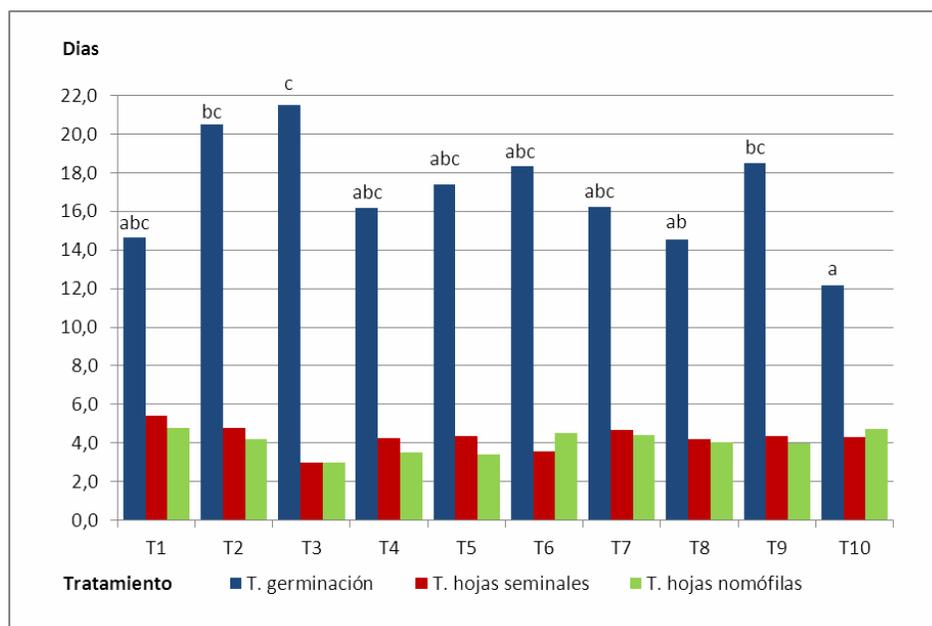


Figura 24. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según tratamientos a base de agua a diferentes temperaturas y con diferentes tiempos de inmersión

Tabla 19. Tiempo (días) para germinación, para formar las hojas seminales y para formar las hojas nomófilas de la semilla de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) según factores (temperatura del agua y tiempo de inmersión)

Factor	Tiempo para germinación				Tiempo posterior a la germinación para formar las hojas seminales				Tiempo posterior a la formación de hojas seminales para formar las hojas nomófilas			
	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.	n	Promedio ± EE CV	T Min.	T Max.
Factor A: Concentración del ácido sulfúrico (%)												
50 °C	23	17,96 ± 2,11 a CV:56,23%	7	34	16	5,06 ± 0,45 a CV:35,68%	3	9	16	4,50 ± 0,47 a CV:42,16%	3	9
70 °C	58	17,34 ± 1,00 a CV:44,09%	7	37	50	4,08 ± 0,22 a CV:38,62%	3	9	50	3,78 ± 0,24 a CV:44,81%	3	12
90 °C	171	16,30 ± 0,52 a CV:41,48%	7	34	162	4,39 ± 0,14 a CV:41,12%	3	12	160	4,14 ± 0,15 a CV:47,26%	3	15
Factor B: Tiempo (minutos) de inmersión en el ácido sulfúrico												
2 minutos	78	16,00 ± 0,80 a CV:44,21%	7	34	71	4,69 ± 0,24 a CV:42,88%	3	12	71	4,31 ± 0,27 a CV:52,27%	3	15
4 minutos	96	15,63 ± 0,71 a CV:44,60%	7	34	89	4,28 ± 0,18 a CV:39,37%	3	9	87	3,90 ± 0,17 a CV:40,87%	3	12
6 minutos	78	18,69 ± 0,87 b CV:40,95%	7	37	68	4,15 ± 0,19 a CV:37,56%	3	9	68	4,10 ± 0,23 a CV:45,38%	3	12

4.4.5 Sobrevivencia en el cultivo de *Leucaena* con el experimento a base de agua a diferentes temperaturas. Se registró pérdidas durante el desarrollo del cultivo en todos los tratamientos excepto el grupo testigo. Al igual que en el experimento con ácido sulfúrico las pérdidas se atribuyen a la presencia de plagas, hongos, condiciones ambientales no favorables y efectos secundarios de los productos químicos utilizados para controlar las plagas y la proliferación del hongo (ver tabla 20). En promedio para todos los grupos de plantas evaluados se registró una pérdida de 36,17 %.

Tabla 20. Sobrevivencia (%) de la semilla germinada durante el desarrollo del experimento

	Plántulas que Formaron cotiledón	Plántulas que formaron hojas Nomófilas	Plantas con registro en laboratorio	Pérdida total
Promedio	83,09%	82,78%	71,32%	36,17%

4.4.6 Morfometría en las plantas de *Leucaena*. Se registraron las variables de peso de la raíz (g), longitud del tallo (cm), longitud de raíz (cm), peso plántula sin raíz (g) y cantidad de hojas nomófilas (#). Para cada tratamiento y/o factor se indicó el rango de edad en días de las plantas evaluadas.

Tabla 21. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 1

Tratamiento	Peso de la raíz (g)	Peso planta sin raíz (g)
T1	0,053	0,41
T2	0,114	0,60
T3	0,038	0,30
T4	0,05	0,52
T5	0,067	0,52
T6	0,052	0,47
T7	0,041	0,39
T8	0,056	0,49
T9	0,079	0,61
T10	0,045	0,62

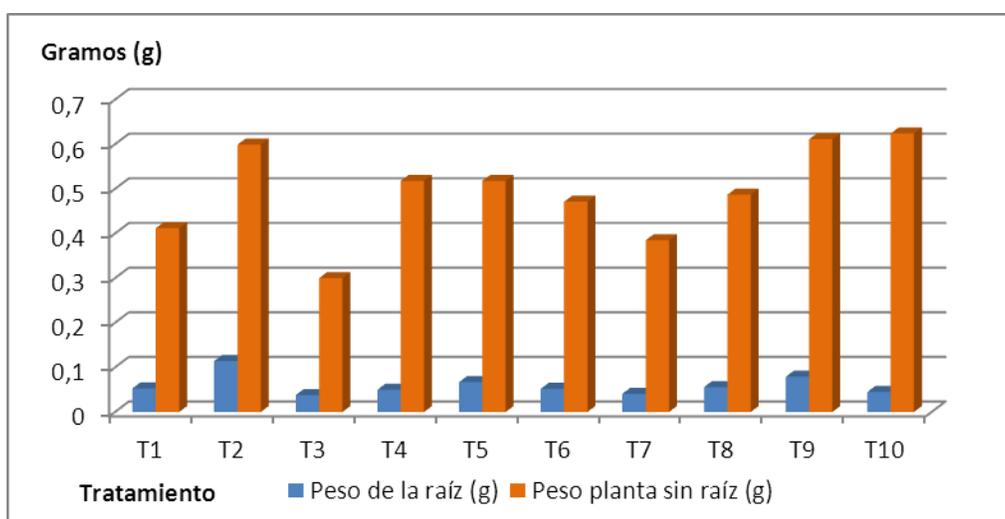


Figura 25. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 1

Tabla 22. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 2

Tratamiento	Longitud del tallo (cm)	Longitud de raíz (cm)
T1	6,00	9,32
T2	8,26	13,96
T3	4,20	6,70
T4	7,39	9,85
T5	6,97	10,86
T6	7,49	11,04
T7	7,29	9,67
T8	9,85	10,85
T9	8,39	12,99
T10	7,56	9,74

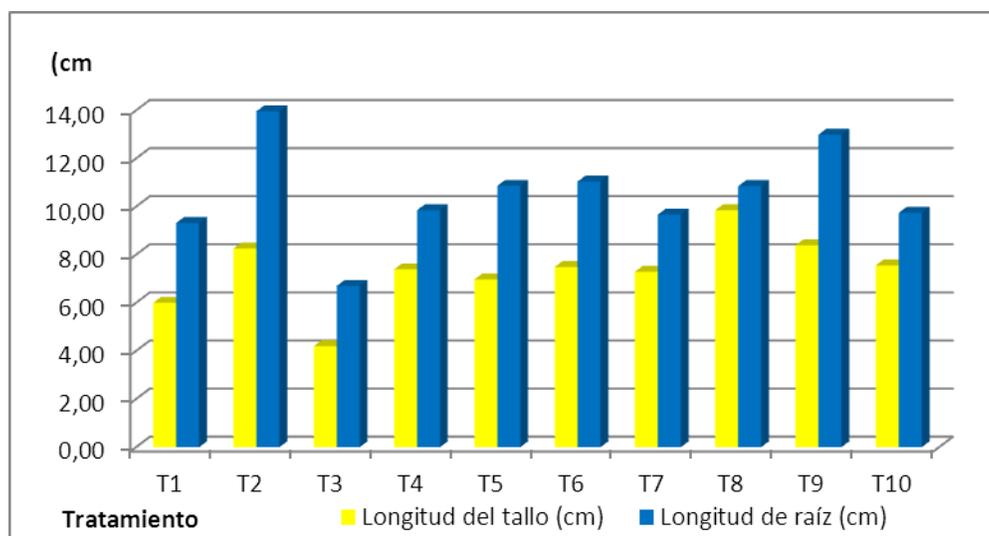


Figura 26. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 2

Tabla 23. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 3

Tratamiento	Cantidad de hojas nomófilas (#)
T1	3,40
T2	4,40
T3	4,00
T4	4,58
T5	4,64
T6	3,94
T7	4,38
T8	4,40
T9	5,24
T10	5,00

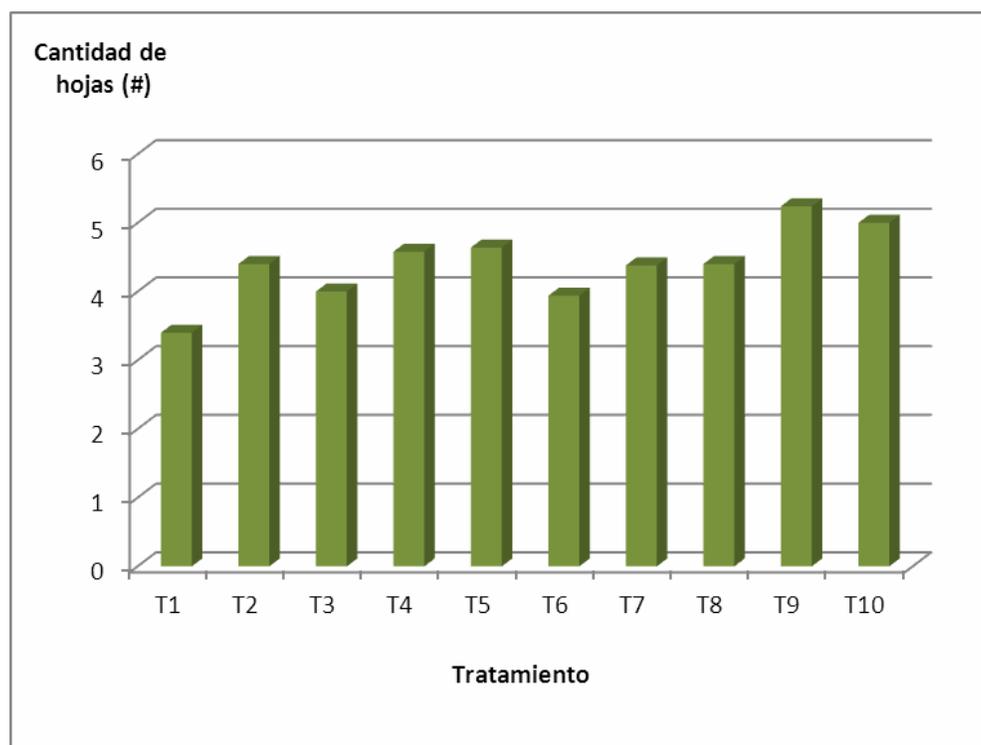


Figura 27. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según tratamientos 3

Tabla 24. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según factor A. Temperaturas

Factor A Temperatura	Edad Min.	Edad Max.	n	Peso de la raíz (g)	Longitud de raíz (cm)	Peso plántula sin raíz (g)	Longitud del tallo (cm)	Cantidad de hojas nomófilas (#)
50°C	9	36	11	0,073 ± 0,013 CV:63,95%	11,19 ± 1,59 CV:47,14%	0,486 ± 0,097 CV:66,04%	6,86 ± 1,05 a CV:50,74%	3,91 ± 0,44 CV:36,99%
70°C	9	36	50	0,058 ± 0,003 CV:40,10%	10,67 ± 0,50 CV:33,20%	0,501 ± 0,027 CV:38,72%	7,24 ± 0,31 a CV: 30,11%	4,40 ± 0,24 CV:38,14%
90°C	9	36	119	0,061 ± 0,004 CV:87,39%	11,41 ± 0,35 CV:33,67%	0,510 ± 0,024 CV:52,35%	8,50 ± 0,27 b CV:34,43%	4,75 ± 0,12 CV:26,47%
Promedio general				0,064 g	11,09 cm	0,499 g	7,53 cm	4,35 hojas

Tabla 25. Variables referentes al desarrollo del cultivo de *Leucaena* registradas al día 43 después de la siembra. – Experimento de temperatura según factor B. Tiempos de inmersión

Factor B Tiempo de inmersión	Edad Min.	Edad Max.	n	Peso de la raíz (g)	Longitud de raíz (cm)	Peso plántula sin raíz (g)	Longitud del tallo (cm)	Cantidad de hojas nomófilas (#)
2 minutos	9	36	51	0,044 ± 0,002 a CV:34,09%	9,68 ± 0,43 a CV:31,54%	0,417 ± 0,024 a CV:41,72%	7,19 ± 0,37 a CV:37,22%	4,33 ± 0,21 CV:34,12%
4 minutos	9	36	62	0,064 ± 0,005 b CV:65,62%	11,11 ± 0,44 b CV:30,91%	0,507 ± 0,024 ab CV:38,65%	8,70 ± 0,36 b CV:32,48%	4,48 ± 0,15 CV:26,71%
6 minutos	9	36	67	0,072 ± 0,007 b CV:84,72%	12,43 ± 0,53 b CV:35,01%	0,573 ± 0,039 b CV:55,67%	8,11 ± 0,35 ab CV:34,92%	4,91 ± 0,18 CV:30,44%
Promedio general				0,06 g	11,07 cm	0,499 g	8,00 cm	4,57 hojas

La prueba de homogeneidad de varianzas indicó heterocedasticidad (varianzas no homogéneas) en las variables evaluadas según los diez tratamientos, aplicándose la prueba de Kruskal Wallis (no paramétrica). Se determinó existencia de diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo, la prueba de comparaciones de medias de Fischer no detectó diferencias entre estos grupos. A continuación, se analizan las variables numéricamente según tratamientos.

Peso de la raíz (g). El peso promedio de la raíz de *Leucaena* fue de 0,059 g evidenciándose un dato mínimo de 0,038 g en el TTO 3 y un dato máximo de 0,114 g en el TTO 2 (ver tabla 20).

Cantidad de hojas nomófilas. En promedio para los diez tratamientos se registró en 4,39 hojas nomófilas por planta; el rango varía entre 4 y 6 hojas (ver tabla 20).

Longitud del tallo (cm). El promedio de longitud de tallo de las plantas de *Leucaena* para los diez tratamientos fue de 7,34 cm; presentando un dato mínimo de 4,20 cm en el TTO 3 y un dato máximo de 9,85 cm en el TTO 8 (ver tabla 20).

Longitud de la raíz (cm). La longitud promedio de la raíz de las plantas de *Leucaena* para los diez tratamientos fue de 10,50 cm. Registrando un dato mínimo de 6,70 cm en el TTO 3 y un dato máximo de 13,96 cm en el TTO 2 (ver tabla 20).

Peso de la planta sin raíz (g). El promedio de peso de la planta sin raíz para los diez tratamientos es de 0,492 g. evidenciándose un dato mínimo de 0,300 g en el TTO 3 y un dato máximo de 0,624 g en el TTO 10 (ver tabla 20).

Al analizar las variables según factores, el grado de temperatura (Factor A) cumple con homogeneidad de varianzas. El ANOVA indicó diferencias significativas para la variable

longitud de tallo (cm), sin embargo, la prueba de comparación de medias no detectó dichas diferencias. El restante de variables no presentó diferencias. A continuación, se analizan las variables numéricamente según los niveles de temperatura (factor A).

Peso de la raíz (g). El peso promedio de la raíz de *Leucaena* respecto a los tres niveles de temperatura fue de 0,064 g, evidenciándose un dato mínimo de 0,058 g utilizando temperaturas de 70 °C y un dato máximo de 0,073 g utilizando temperaturas de 50 °C (ver tabla 21).

Cantidad de hojas nomófilas. En promedio para los tres niveles de temperatura se registró 4,35 hojas nomófilas por planta, evidenciándose un dato mínimo de 3,91 hojas utilizando temperaturas de 50 °C y un dato máximo de 4,75 hojas utilizando temperaturas de 90 °C (ver tabla 21).

Longitud del tallo (cm). El promedio de longitud de tallo de las plantas de *Leucaena* para los tres niveles de temperatura fue de 7,53 cm, evidenciándose un dato mínimo de 6,86 cm utilizando temperaturas de 50 °C y un dato máximo de 8,50 cm utilizando temperaturas de 90 °C (ver tabla 21).

Longitud de la raíz (cm). La longitud promedio de la raíz de las plantas de *Leucaena* para los tres niveles de temperatura fue de 11,09 cm, registrando un dato mínimo de 10,67 cm utilizando temperaturas de 70 °C y un dato máximo de 11,41 cm utilizando temperaturas de 90 °C (ver tabla 22).

Peso de la planta sin raíz (g). El promedio de peso de las plantas sin raíz para los tres niveles de temperatura fue de 0,499 g, evidenciándose un dato mínimo de 0,486 g utilizando temperaturas de 50 °C y un dato máximo de 0,510 g utilizando temperaturas de 90 °C (ver tabla

22).

El análisis según tiempo de inmersión (factor B) no cumple con homogeneidad de varianzas. La prueba Kruskal Wallis indicó diferencias significativas. Se corrió la prueba de Fischer. A continuación, se presenta la interpretación de las variables considerando las diferencias detectadas estadísticamente.

Peso de la raíz (g). El peso promedio de la raíz para los tres tiempos de inmersión fue de 0,06 g, evidenciándose diferencias significativas al aumentar el tiempo de inmersión de la semilla.

Longitud del tallo (cm). La longitud promedio del tallo fue de 8,00 cm. Se presentaron diferencias significativas a favor de un mayor tiempo de inmersión de la semilla en el agua, sin embargo, la tendencia es a evidenciar homogeneidad entre niveles de temperatura

Longitud de la raíz (cm). El promedio de la longitud de la raíz para los tres tiempos de inmersión fue de 11,07 cm, evidenciándose diferencias significativas al aumentar el tiempo de inmersión de la semilla.

Peso de la planta sin raíz (g). El peso promedio para los tres niveles de inmersión fue 0,499 g. Se presentaron diferencias significativas registrándose un mayor peso de la plántula al dejar más tiempo la semilla en inmersión.

Cantidad de hojas nomófilas. El promedio de hojas nomófilas para los tres tiempos de inmersión fue de 4,57 hojas. Numéricamente se evidenció un mayor conteo de hojas al sumergir la semilla en el agua durante 6 minutos y la menor cantidad de nomófilas usando 2 minutos.

4.4.7 Materia seca de las plantas de *Leucaena*. El contenido promedio de materia seca en las plantas de *Leucaena* fue de 22,25 % evidenciándose un dato mínimo de 16,63 % en el grupo testigo (TTO 10) y un dato máximo de 26,10 % en el tratamiento nueve. En general, las plantas registraron un 22,69 % de materia seca (ver tabla 23).

Tabla 23. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento

		MS (%)
Tratamiento	T 1	24,08
	T 2	23,05
	T 3	19,46
	T 4	19,49
	T 5	25,68
	T 6	24,9
	T 7	23,98
	T 8	19,2
	T 9	26,1
	T 10	16,63
Temperatura	Temp. 50 °C	22,2
	Temp. 70 °C	23,36
	Temp. 90 °C	23,09
Inmersión	2 minutos	22,32
	4 minutos	22,59
	6 minutos	23,99

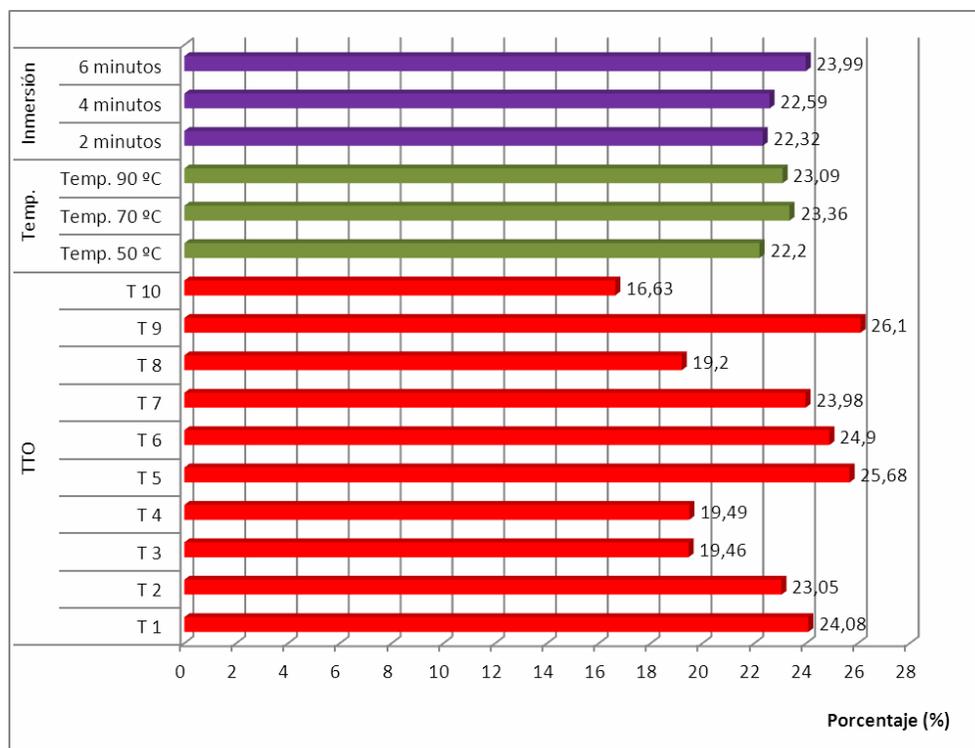


Figura 28. Porcentaje de materia seca de las plantas utilizadas en el experimento

4.5 Semillas de Botón de oro Sumergidas en Ácido Sulfúrico a Diferentes Concentraciones y Tiempos de Inmersión

A continuación, se relaciona un análisis numérico de las variables evaluadas según los datos recolectados con los dos experimentos, el uso de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempo de inmersión, y el uso de agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión.

4.5.1 Nivel de germinación (%) de semillas de botón de oro. Los resultados obtenidos a partir de las técnicas de pre germinación no permitieron el desarrollo esperado para el cultivo de botón de oro, registrándose con el experimento de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión (nueve tratamientos en total) un desarrollo de catorce plantas de un total de 675 semillas sembradas, equivalentes a 2,07% de germinación.

En el experimento con agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión (nueve tratamientos en total) crecieron 11 plantas de un total de 675 semillas 1,62%. En el grupo testigo crecieron cinco plantas de 75 semillas sembradas (6,66%).

La tabla 24 y 25, indica el nivel de germinación detallado según el tratamiento en el cual se registró la germinación. El análisis de los datos se realizó numéricamente.

El mayor nivel de germinación se registró al usar el ácido a 30% de concentración durante una inmersión de 2 y 6 minutos. En la mayoría de los casos el nivel de germinación fue entre 1,33 y 2,66% (ver tabla 24).

Tabla 24. Nivel de germinación (%) y tiempo de germinación (días) según nivel de concentración del ácido sulfúrico y el tiempo de inmersión en semillas de botón de oro

Tratamiento	Factor A: Nivel de concentración (%)	Factor B: Tiempo de inmersión (minutos)	# semillas sembradas/ TTO	Semillas germinadas/ TTO (%)	Tiempo de germinación (días)
3	10	6	75	2,66	19 a 22
4	20	2	75	2,66	16 a 19
6	20	6	75	1,33	7
7	30	2	75	5,33	4 a 19
8	30	4	75	1,33	19
9	30	6	75	5,33	7 a 19

En el experimento con agua a diferentes temperaturas, se observa que al usar 90°C con inmersión durante 4 y 6 minutos no ocurrió germinación de las semillas. La mayor germinación se registró al usar 50°C durante una inmersión de 4 minutos. En la mayoría de los casos el nivel de germinación fue entre 1,33 y 2,66% (ver tabla 25).

Tabla 25. Nivel de germinación (%) y tiempo de germinación (días) según temperatura del agua y tiempo de inmersión en semillas de botón de oro

Tratamiento	Factor A: Nivel de temperatura (°C)	Factor B: Tiempo de inmersión (minutos)	# semillas sembradas/ TTO	Semillas germinadas/ TTO (%)	Tiempo de germinación (días)
1	50	2	75	1,33	13
2	50	4	75	4,00	4 a 16
3	50	6	75	1,33	22
4	70	2	75	2,66	10 a 16
5	70	4	75	1,33	22
6	70	6	75	1,33	16
7	90	2	75	2,66	16 a 19

4.5.2 Tiempo germinar las plántulas de botón de oro. Con el experimento ácido sulfúrico se registró la germinación entre 4 y 22 días. La mayoría de plántulas germinaron a los 19 días (moda), seguidas de las semillas que tardaron 16 días para germinar. El grupo testigo registró una germinación en un rango de 4 a 7 días. La tabla indica el tiempo de germinación por tratamiento.

Con el experimento de agua a diferentes temperaturas también se registró la germinación entre 4 y 22 días. En este caso, la mayoría de plántulas germinaron a los 4 días (moda), seguidas de las semillas que tardaron 16 días para germinar (ver tabla).

4.5.3 Tiempo para formar hojas seminales en plántulas de botón de oro. En el experimento de ácido sulfúrico cinco plántulas formaron hojas seminales en un tiempo de 3 días en los tratamientos 3 y 4 y hasta a 6 días en los tratamientos 6 y 7, contados posteriores a la germinación.

En el experimento con agua a diferentes temperaturas cuatro plántulas formaron hojas seminales en un tiempo de 6 a 9 días contados posteriores a la germinación, con datos en los

tratamientos 2, 4 y 7. En el grupo testigo cinco plántulas formaron hojas seminales en un tiempo de 3 a 6 días, contados posteriores a la germinación.

4.5.4 Tiempo para formar hojas nomófilas en plántulas de botón de oro. En el experimento de ácido sulfúrico cinco plantas formaron hojas nomófilas en un tiempo de 3 a 6 días, contados posteriores a la germinación. En los tratamientos 3, 4 y 7 se registraron 3 días y en el tratamiento 6 se registraron 6 días.

En el experimento con agua a diferentes temperaturas dos plantas formaron hojas nomófilas en un tiempo de 3 a 6 días contados posteriores a la germinación, con datos en los tratamientos 2 y 4 respectivamente. En el grupo testigo cinco plantas formaron hojas seminales en un tiempo de 3 días, contados posteriores a la germinación.

4.6 Registro de Variables en Laboratorio

Considerando el bajo número de plantas que formaron hojas nomófilas (cinco con experimento de ácido sulfúrico, dos con el experimento de agua a diferentes temperaturas y cinco en el grupo testigo, para un total de doce plantas a partir de 1425 semillas sembradas), no fue viable el registro de estas variables.

5. Discusión

Experimentos con semillas de *Leucaena*:

El mayor nivel de germinación de la *Leucaena* en condiciones de campo abierto bajo poli sombra se registró al usar el ácido sulfúrico a 65% durante 20 minutos (65,33%) y sumergiendo la semilla en agua a 90°C durante 4 minutos (88,00%).

Castro *et al.* (2016) al utilizar ácido sulfúrico al 98% durante 5 y 10 minutos reportó una germinación del 94% y 97% respectivamente. Este estudio reitera la conclusión de la presente investigación en la cual se determinó que a mayor concentración o tiempo de inmersión se obtiene un mayor nivel de germinación.

Autores como Insuasty *et al.* (2012) reportan en condiciones de laboratorio un nivel de germinación del 89,33% sumergiendo la semilla en ácido al 75% durante 10 minutos, seguido de colocar en imbibición durante 24 horas. La mejor germinación registrada por este autor está relacionada con el hecho de ejecutar el experimento en condiciones controladas de laboratorio, utilizar una mayor concentración y como complemento haber dejado la semilla sumergida en agua. Esto debido a que solo con sumergir la semilla en agua, autores como Sánchez *et al.* (2018) y Castro *et al.* (2016) indican una germinación del 45,3% (inmersión durante 12 horas) y del 34% (inmersión durante 72 horas) respectivamente, por lo tanto, posiblemente al combinar el uso de ácido sulfúrico seguido de inmersión en agua a temperatura ambiente se logra mejorar los niveles de germinación obtenidos.

Además, autores como Sánchez & Ramírez (2006), indican 91,50% de semilla germinada al sumergir la semilla en agua a 80°C durante diez minutos, seguido de colocar en inmersión a

temperatura ambiente durante dos horas, cifra superior al nivel de germinación obtenida en la presente investigación, reiterándose una mejora en la germinación al combinar un método de escarificación con imbibición en agua a temperatura ambiente.

El menor nivel de germinación obtenido al usar ácido sulfúrico frente al uso de agua a elevada temperatura puede estar relacionado con la incidencia de factores ambientales (Sánchez *et al.*, 2005), esto debido a que en la presente investigación las bolsas de vivero del experimento con ácido quedaron espacialmente distribuidas en un área con mayor presencia de sombra (generada por vegetación de estrato alto en el área de estudio), respecto a la distribución de las semillas tratadas con agua a diferentes temperaturas, sin embargo, la investigación de Sánchez y Ramírez en el 2006 con 91,5% de germinación, junto al estudio de González y Mendoza en el 2008, quienes reportaron 88,9% de germinación usando agua a 80°C durante dos minutos, permitirían afirmar que el uso de agua a elevada temperatura es causal de una mayor germinación frente al uso del ácido sulfúrico, descartando la opción de una menor germinación en el grupo experimental por causa de la sombra proyectada por la vegetación existente en el área de estudio.

El menor tiempo transcurrido para germinar las semillas de *Leucaena* se registró al usar el ácido sulfúrico a 65% durante 13 minutos (8,78 días); mientras que en el experimento del agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión (50, 70 y 90°C durante 2, 4 y 6 minutos) el grupo testigo (12,14 días) y los nueve tratamientos experimentales (promedio general 17,53 días) indicaron un tiempo para germinar homogéneo.

Autores como Insuasty *et al.* (2012) reportan una tasa de germinación entre 12,82 y 14,88 días utilizando ácido sulfúrico a concentraciones de 50%, 75% y 100% durante un tiempo de inmersión de 10 minutos, resultados similares al tiempo de germinación registrado en el grupo

testigo y con los tratamientos a base de inmersión de la semilla en agua a diferentes temperaturas, sin embargo, los 12,82 días excede el tiempo registrado con ácido al 65% durante 13 minutos. El mayor tiempo para germinar reportado en la investigación de Insuasty *et al.*, (2012) está relacionado con la ejecución del experimento del ácido sulfúrico en un lugar con una temperatura ambiente de 14°C frente a los 26,65°C (temperatura ambiental) registrados en la presente investigación, planteándose que en climas fríos el desarrollo de las plantas es menor frente a un clima cálido (Hadas, 2004). Sin embargo, retomando el análisis ejecutado hasta el momento, se puede plantear que el ácido sulfúrico incide en obtener una germinación más rápida (en días) frente al uso de agua a diferentes temperaturas.

Sánchez & Ramírez (2006) reportaron un tiempo de germinación de 13,80 días utilizando como tratamiento pre germinativo agua a temperatura de 80 °C durante un tiempo de inmersión de 10 minutos y 12,82 días utilizando agua a temperatura ambiente (26°C) durante un tiempo de inmersión de 2 horas. Estos resultados fueron homogéneos con el grupo testigo y el uso de lija N°80 a diferentes tiempos de escarificación evaluados por el mismo autor. En este experimento se debe tener en cuenta que las semillas de *Leucaena* fueron almacenadas en un refrigerador a una temperatura de 10±1°C por 21 días antes de aplicarle los tratamientos pre germinativos y la mezcla final del abono preparada con capa vegetal y abono de río en proporción 2:1, fue desinfectada con formol cuaternario al 37%, a una dosis de 150 mL por m². El reporte de Sánchez y Ramírez (2006) permiten reiterar que el uso de agua a diferentes temperaturas no incide en el tiempo de germinación de la semilla, generando resultados similares con la presente investigación. Al considerar similitud en el tiempo de germinación registrado en las dos investigaciones, se podría plantear que el almacenamiento de la semilla bajo las condiciones reportadas por Sánchez y Ramírez (2006) no inciden sobre el tiempo de germinación, esto

considerando que en la presente investigación la siembra se realizó dos días después de cosechar y seleccionar la semilla, almacenándose a temperatura ambiente al aire libre.

Para el cultivo de *Leucaena*, en la presente investigación las variables de crecimiento y desarrollo se registraron a los 43 días. La mayor longitud de tallo se registró utilizando ácido sulfúrico a concentración de 65 % durante un tiempo de inmersión de 20 minutos (8,045 cm) y sumergiendo la semilla en agua a 90°C durante 4 minutos (9,85 cm), resultados relacionados con el hecho que dichas condiciones de pre germinación fueron las que permitieron los mejores resultados en germinación (%) y tiempos de germinación (días).

Insuasty *et al.* (2012) registraron resultados satisfactorios a los 32 días después de la siembra en cuanto a la longitud del tallo (11,3 cm) utilizando ácido sulfúrico a 75 % durante 10 minutos de inmersión, dato mayor al registrado en la presente investigación, además que existe una diferencia de 11 días al momento de registrar los datos. Posiblemente el menor desarrollo del tallo registrado en la presente investigación está relacionado con la compactación del sustrato utilizado (mezcla de compostaje a base de bovinaza con cienago de río en proporción 1:1) limitando el desarrollo radicular y por consiguiente el crecimiento del tallo.

Autores como Sánchez y Ramírez (2006), registraron una mayor longitud de tallo con 11,16 cm, utilizando agua a 80 °C durante 10 minutos de inmersión, seguido de una longitud de tallo de 9,91 cm utilizando agua a temperatura ambiente (26°C) durante 2 horas. Estos datos superan la longitud del tallo registrada en la presente investigación con el experimento de ácido sulfúrico y agua a diferentes temperaturas, sin embargo, se debe tener en cuenta la variación en las temperaturas y tiempos de inmersión. Estos resultados en los cuales no se define una tendencia a una menor o mayor longitud de tallo puede estar relacionados al hecho que al sumergir la semilla

en agua a diferentes temperaturas no incide en el tiempo de germinación, por consiguiente, el tiempo pos germinación no representa diferencias marcadas para la longitud del tallo. En este experimento la proporción 2:1 de capa vegetal con abono de río favorece la menor compactación del sustrato a utilizar.

En la presente investigación, la mayor longitud de raíz se obtuvo utilizando ácido sulfúrico a concentración de 65% durante un tiempo de inmersión de 20 minutos (12,494 cm) y en agua a temperatura de 50°C durante un tiempo de inmersión de 4 minutos (13,96 cm).

Insuasty *et al.* (2012) reportó a los 32 días después de la siembra de *Leucaena* una longitud de raíz de 10,18 cm y 10,90 cm utilizando ácido sulfúrico a 50 % y 75 % durante un tiempo de inmersión de 10 minutos. En este caso, la longitud de raíz fue menor a los datos obtenidos en la presente investigación, incluso considerando que la longitud de tallo en las plantas de Insuasty *et al.* (2012) fue mayor a la presente investigación.

Sánchez & Ramírez (2006) registraron la mayor longitud de raíz en 10,90 cm y 10,18 cm utilizando agua a 26°C durante de 2 horas y 80°C durante 10 minutos, resultados inferiores a los registros de la presente investigación. En este caso el análisis es similar, aun cuando la longitud de tallo reportada por Sánchez y Ramírez (2006) es mayor a la presente investigación, la longitud de la raíz es menor. La situación plantea la necesidad de establecer en próximas investigaciones la relación exacta entre edad de la planta (tiempos de germinación), la longitud del tallo y la longitud de la raíz, esto considerando el nivel de compactación del sustrato y los factores de pre germinación evaluados, para lo cual se propone la búsqueda de una ecuación de predicción.

El mayor número de hojas por planta se reportó al utilizar ácido sulfúrico a 65 % durante 13 minutos de inmersión (6 hojas/planta) y agua a temperatura de 90°C durante 6 minutos (5,24

hojas/planta).

Insuasty *et al.* (2012) reportó a los 32 días después de la siembra un total de 4,6 y 4,2 hojas por planta utilizando ácido sulfúrico a concentración de 75 % y 50 % durante un tiempo de inmersión de 10 minutos. Sánchez y Ramírez (2006) observaron a los 32 días el mayor número de hojas en 4,62 y 4,17 hojas/planta utilizando agua a 26 °C durante un tiempo de inmersión de 2 horas y 80°C durante 10 minutos. En ambos casos, se indica menor cantidad de hojas respecto a la presente investigación.

Considerando una mayor longitud de tallo y menor cantidad de hojas reportada por Insuasty *et al.* (2012), posiblemente se presentó un mayor desarrollo del tallo en búsqueda de luz solar, esto considerando el experimento en condiciones controladas con una temperatura ambiental de 14°C. Adicional, se establece que en las investigaciones de Insuasty *et al.* (2012) y Sánchez y Ramírez (2006) se reporta mayor longitud de tallo y menor cantidad de hojas por planta en comparación a la presente investigación. Posiblemente un mayor desarrollo del tallo incide en menor cantidad de hojas, sin embargo, se debe considerar la edad de la planta al momento del registro del dato, identificándose que a los 32 días se habrán formado menor cantidad de hojas respecto a los 43 días del presente experimento.

Para el análisis de los datos no se encontraron investigaciones que reportaran peso de la planta sin raíz (g), el peso de la raíz (g), el tiempo para formar hojas seminales y el tiempo para formar hojas nomófilas.

En la presente investigación se registró el mayor peso de la planta sin raíz utilizando ácido sulfúrico a concentración de 50% durante un tiempo de inmersión de 16,5 minutos (0,710 g) y en agua a temperatura de 90°C durante un tiempo de inmersión de 6 minutos (0,624 g).

El mayor peso de la raíz fue de 0,061 g y 0,114 g utilizando ácido sulfúrico a concentración de 65% durante un tiempo de inmersión de 13 minutos y en agua a temperatura de 50°C durante un tiempo de inmersión de 4 minutos.

Experimentos con semillas de botón de oro:

En la presente investigación los resultados obtenidos no fueron satisfactorios al utilizar ácido de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión (nueve tratamientos en total) obteniendo un nivel de germinación de catorce plantas de un total de 675 semillas sembradas, equivalentes a 2,07% de germinación. Al usar agua a diferentes temperaturas y tiempos de inmersión los resultados fueron similares con una germinación de 11 plantas de un total de 675 semillas (1,62%). En el grupo testigo crecieron cinco plantas de 75 semillas sembradas (6,66%).

El tiempo para germinar las semillas usando el ácido sulfúrico se registró entre 4 y 22 días. La mayoría de plántulas germinaron a los 19 días, el grupo testigo registró una germinación en un rango de 4 a 7 días. Con el experimento de agua a diferentes temperaturas se registró la germinación entre 4 y 22 días. La mayoría de plántulas germinaron a los 4 días.

6. Conclusiones

Al utilizar ácido sulfúrico sobre semillas de *Leucaena* se determinó que a mayor concentración del ácido (65%) y mayor tiempo de inmersión (20 minutos) se obtiene un mayor nivel de germinación. A mayor concentración del ácido, sin tener en cuenta el tiempo de inmersión, se reduce el tiempo requerido para germinar la semilla. El tiempo requerido para formar las hojas seminales y nomófilas no es afectado por la concentración del ácido y el tiempo de inmersión de la semilla.

El mayor nivel de germinación de *Leucaena* se presentó al sumergir la semilla en agua a 90°C durante cuatro minutos. La temperatura del agua no afecta el tiempo para germinar la semilla, sin embargo, el tiempo de inmersión si incide en el tiempo de germinación, obteniendo el mejor resultado con cuatro minutos. El tiempo requerido para formar las hojas seminales y nomófilas no es afectado por la temperatura del agua y el tiempo de inmersión.

Las variables de crecimiento y desarrollo de la *Leucaena* indicaron una mayor longitud de la raíz (cm) con menor longitud del tallo y mayor cantidad de hojas, esto respecto a otras investigaciones.

El tiempo para formar hojas seminales y nomófilas en el cultivo de *Leucaena* no es afectado por el hecho de sumergir la semilla en ácido sulfúrico a diferentes concentraciones y agua a diferentes temperaturas como técnica de pre germinación. Al utilizar ácido sulfúrico y agua a diferentes temperaturas sobre semillas de botón de oro no se logró determinar el efecto de la temperatura del agua y el tiempo de inmersión sobre las variables de germinación, tiempo para germinación y tiempos para formar hojas seminales y nomófilas.

7. Recomendaciones

Se recomienda continuar con investigaciones que permitan aumentar el porcentaje de germinación y el desarrollo rápido de las plántulas de *Leucaena* en su fase de vivero, realizando ensayos con rangos más amplios en las temperaturas del agua, la concentración de ácido sulfúrico y los tiempos de inmersión de la semilla.

De acuerdo al análisis de los resultados, es pertinente experimentar la combinación de técnicas de pre germinación y la combinación con el proceso de imbibición en agua a temperatura ambiente.

Se deben realizar más investigaciones que evalúen diferentes métodos para obtener y seleccionar la semilla de botón de oro, garantizando la viabilidad de dichas semillas, esto antes de pensar en la implementación de técnicas de pre germinación que permitan incrementar o acelerar la cantidad de germinación y los tiempos de germinación.

Es conveniente realizar métodos de desinfección del sustrato antes de la siembra, seguido del control de plagas y enfermedades, durante el desarrollo del cultivo en el vivero evitando la muerte de las plántulas.

Se recomienda realizar trabajos investigativos sobre la evaluación de sustratos que puedan garantizar una germinación más eficiente y con mayor vigorosidad de las plántulas.

Referencias Bibliográficas

- Agámez, M. (2006). Determinación de los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y de los compuestos orgánicos volátiles presentes en un proceso de computación.
- Agboola, D., Idowu, W. & Kadiri, M. (2006). Seed germination and seedling growth of the Mexican Sunflower *Tithonia diversifolia* (Compositae) in Nigeria, Africa. *Revista de biología tropical*, 54 (2), 395-402.
- Albuquerque, S., Guimarães, M., Almeida, F. & Clemente, S. (2007). Métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1716-1721.
- Almeida, C., Ursulino, A., Lucena, C., Gomes, F. & Melo, S. (2012). Métodos para la superación del entumecimiento en semillas de *Leucaena leucocephala*.
- Alvarado, A. (2001). Informe anual sobre pastizales CIAE – Barinas, Venezuela. p. 29.
- Arturo, S. (2013). Evaluación de artrópodos asociados a las especies forrajeras de matarratón, nacedero y botón de oro y sus interacciones ecológicas.
- Bacab, H., Madera, F., Solorio, F., Vera. & Marrufo. (2013). Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. *AIA 17*, 67-81.
- Banda, J. & Ayoade, J. (2004). *Leucaena leucocephala* cv. Peru as proteic suplement for malawian goats chopped maize stover.
- Bernal, E. (1994). Pastos y forrajes tropicales, producción y manejo. Santa Fe de Bogotá, Colombia: Editorial Banco Ganadero. Tercera Edición.

- Borges, D., Quiroz, R., Becerra, F. & Sánchez, L. (2018). Respuestas en plántulas de *Leucaena* a la imbibición de las semillas con lixiviado de pseudotallo de plátano.
- Cáceres, O. & González, E. (1996). Valor nutritivo del follaje de árboles y arbustos tropicales. II *Leucaena leucocephala* cv. CNIA-250. Pastos y Forrajes 19,277-281.
- Carvalho, N. & Nakagawa, J. (2012) Semillas: ciencia, tecnología y producción. Jaboticabal, 590.
- Castillo, R., Betancourt, T., Tora, O. & Iglesias, J. (2016). Influencias de diferentes marcos de plantación en el establecimiento y la producción de *Tithonia diversifolia*.
- Castro, F., Bitencourt, A., Rocha, D., Da Silva, B., Lucas, S. & Magalhães, M. (2016). Superacao da dormencia em sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.
- Córdoba, C. (2006). Estudio de factibilidad técnico-económica para instalar una planta de compostaje, utilizando desechos vegetales urbanos. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile.
- Cuadros, S. (2008). Compostaje y Biometanización.
- De Souza, J. & Gualberto, R. (2007). Influência de espaçamentos e da época de corte na produção de biomassa e valor nutricional de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray (Tesis de maestrado). Universidade de Marília, Faculdade de Ciências Agrárias, São Paulo, Brasil.
- Doria J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Cultivos Tropicales 31(1), 74-85.
- Duke, J. (1981). The gene revolution. Office of Technology Assessment, Background papers for innovative biological technologies for lesser developed countries. USGPO. Washington. I,

89-150.

Espinosa, F., Araque, C., León, L., Quintana, H. & Perdomo, E. (2001). Efecto del banco de proteína sobre la utilización del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en pastoreo con ovinos, *Zootecnia Tropical*. (3), 19.

Faria, J., García, & Gonzáles, B. (1996). Nota técnica: métodos de escarificación para cuatro leguminosas forrajeras tropicales. *Revista de Facultad Agronómica*, 13 (1), 573-579.

Fasuyi, A., Dairo, F. & Ibitayo, F. (2010). Ensiling wild sunflower (*Tithonia diversifolia*) leaves with sugar cane molasses. *Livestock Research for Rural Development*, 22 (3).

Fasuyi, A., Ibitayo, F. & Alo, S. (2013) Histopathology, haematology and serum chemistry of growing pigs fed varying levels of wild sunflower (*Tithonia diversifolia*) leaf meal as protein supplements. *Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. 4 (1), 41-50.

Gallego, L., Mahecha, L. & Angulo, J. (2015). Crecimiento y desarrollo de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray en condiciones de trópico alto.

Gallego, L., Mahecha, L. & Angulo, J. (2017). Calidad Nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray bajo tres sistemas de siembra en el trópico alto. *Agronomía Mesoamericana*. 28(1), 213–222.

García, D., Medina, M., Cova, L., Soca, M., Pizzani, P. & Baldizán, A. (2008). Aceptabilidad de follajes arbóreos tropicales por vacunos, ovinos y caprinos en el Estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia tropical*, 26 (3), 191-196.

Gómez, F; Vidal, L. Trejo, R. & Molinos, C. (2010). Escarificación y germinación in vitro de semillas de heliconias. Univ. Ciencia (26), 293-297.

González, Y. & Mendoza, F. (2008). Efecto del agua caliente en la germinación de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. Pas. For. 31: 47-52.

González, Y., Reino, J; Sánchez, G. & Machado, R. (2012). Efecto del almacenamiento al ambiente en semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham sometidas a hidratación parcial, (35), 393-399.

Graham, P. & Vance, C. (2003). Legume Importance and Constraints to Greater Use. Plant Physiology, 131, 872-877.

Hadas, A. (2004). Seedbed preparation: The soil physical environment of germinating seeds. p. 3-49. In R.L. Benech-Arnold and R.A. Sanchez (eds.). Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture. Food Product Press, New York, USA.

Hernández, M. (2011). Principales especies arbóreas y arbustivas usadas en sistemas silvopastoriles de la región del Sumapaz-Colombia. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá, COL.

Hoyos, J., Vargas, C. & Velasco, R. (2010). Evaluación de compost obtenido en pila móvil empleando mezclas de gallinaza de jaula con material celulósico.

Inayat, A. & Gordon, O. (2009). Influencia de las fases lunares (Menguante y Luna llena) sobre la propagación vegetativa del botón de oro *Tithonia diversifolia* para la formación de un banco de proteína (Tesis), Sede el Prado, Quito, Facultad de Ingeniería de Ciencias Agropecuarias, Ecuador.

- Insuasty, S., Ballesteros, P., Chávez, J. & Quintero, D. (2012). Efectos de tratamientos pre germinativos con ácido sulfúrico (H₂SO₄) en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.
- Ipou, J., Toure, A., Adou, L., Kouame, K., & Fgue, A. (2011). A new invasive species of the agrosystems in the south of Côte d'Ivoire: *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae). *African Journal of Food Science and Technology*, 1 (6): 146-150.
- Jama, B., Palm, R., Buresh, A., Niang, C., Gachengo, G., Nziguheba, B., & Amadalo. (2000). *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya A review. *Agrofor. Syst.* 49,201-221.
- Kozłowski, T. & Pallardy, G. (2002). Acclimation and adaptative response of woody plants to environmental stresses. *Botanical Review.* 68:270.
- Machado, R. & Roche, R. (1996). Variedades comerciales. *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. *Pastos y Forrajes* 19,72.
- Machado, R., Milera, J., Menéndez, & García, H. (1978). *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*), (Lam.) de Wit. *Pastos y Forrajes* 1,321-347.
- Mahecha, L. & Rosales, M. (2005). Valor nutricional del follaje de Botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray, en la producción animal en el trópico. *Livestock Research for Rural Development*, 17 (9).
- Mahecha, L., Escobar, J., Suárez, J. & Restrepo, L. (2007). *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (botón de oro) como suplemento forrajero de vacas F1 (Holstein por Cebú). *Livestock Research for Rural Development*, 19 (2).

- Mazorra, C., Borroto, Ángela, Pérez, R., Fontes, Dayami, y Borges, G. (2004). Potencialidades de los subproductos citrícolas en la alimentación de los ovinos.
- Medina, M., García, D., González, M., Cova, L. & Moratinos, P. (2009). Variables morfoestructurales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. *Zootecnia Tropical*, 27 (2), 121-134.
- Mejía, D., Mahecha, L. & Angulo, A. (2017). Potencial nutricional del botón de oro (*Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray) en vacas lecheras. *Agron. Mesoam.* 28(1), 289-302.
- Mello, J. & Thomas, D. (1977). Alimentación animal. Forraje prometedor y cultivos arbóreos para los trópicos. Washington, DC: Nacional Academia de Ciencias.
- Muoghalu, J. & Chuba, D. (2005). Seed germination and reproductive strategies of *Tithonia diversifolia* (hemsl.) Gray and *Tithonia rotundifolia* (p.m.) Blake. *Applied Ecology and Environmental Research* 3, 39-46.
- Murgueitio E., Uribe F., Molina C., Molina E., Galindo W., Chará J., Flores M., Giraldo C., Cuartas, C., Naranjo J., Solarte L. & González, J. (2016). Establecimiento y manejo de sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena*. (eds). Editorial CIPAV. Cali, Colombia. 220p.
- Murgueitio, E. & Ospina, S. (2002). Tres especies vegetales promisoras: Nacedero (*Trichanthera gigantea*), Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) y Bore (*Alocasia macrorrhiza*). Colciencias-Cab-Cipav.Cali, Colombia.
- Murgueitio, E., Rosales, M. & Gómez, E. (2003). Agroforestería para la producción animal sostenible. 3. Ed. CIPAV. Cali, Colombia.

- Murgueitio, E., Xóchitl, M., Calle, Z., Chara, J., Barahona, R., Molina, C. & Uribe, F. (2015). Productividad en sistemas silvopastoriles intensivos en América Latina.
- Murgueitio, E., Zuluaga, A., Cuartas, C., Uribe, F. & Naranjo, J. (2010). Árboles y arbustos para producir leche. Parte I. *Revista Infortambo Andina*. Número, 21, 12 – 14.
- Navarro, M. (2003). Desempeño fisiológico de las semillas árboles de uso múltiple en el trópico.
- Olabode *et al.*, (2007). Evaluation of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray for soil improvement. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3 (4), 503.
- Organización Panamericana de la Salud. (1999) Manual para la Elaboración de Compost – Bases Conceptuales y Procedimientos.
- Parrotta, J. (1992). *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 8.
- Pérez *et al.*, (2009). *Tithonia diversifolia* (Helms.) A. Gray. *Pastos y Forrajes*, 32 (1), 10-15.
- Pérez, A. (2008). Manual de Compostaje.
- Peters, M., Franco, H., Schmidt, Y. & Hincapié, B. (2003). *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. En especies forrajeras multipropósitos.
- Peters, M., Franco, L., Schmidt, A. & Hincapié, B. (2002). Especies forrajeras multipropósito: opciones para productores de Centroamérica. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.

- Possenti, A., Schammas, A., Demarchi, J. & Frighetto, S. (2008). Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1509 – 1516.
- Prates, T., Paes, J., Pires, N., Pereira, I. & Magalhães, C. (2000). Efeito do extrato aquoso de *Leucena* na germinação e no desenvolvimento do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n. 5, p. 909-914.
- Razz, R. & Clavero, T. (2003). Efecto de la escarificación, remojo y tiempos de almacenamiento sobre la germinación de *Pithecellobium dulce*. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 20,180.
- Razz, R., & Clavero, T. (1996). Métodos de escarificación en semillas de *Leucaena leucocephala*. *Rev. Facultad de Agronomía*. Universidad del Zulia (Venezuela), 13,73-77.
- Rios, C.(2002). Usos, manejos y producción de botón de oro, *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. En tres especies vegetales promisorias: Nacadero (*Trichanthera gigantea*), Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) y Bore (*Alocasia macrorrhiza*). Ed. Sonia Ospina y Enrique Murgueitio. CIPAV. Cali; Colombia. 211 pp.
- Ríos, I. & Salazar, A. (1995). Botón de oro (*Tithonia diversifolia*. Hemsl. Gray) una fuente proteica alternativa para el trópico. *Livestock Research for Rural Development*, 6(3).
- Rivas, F., Castillo, J. & Ortega, L. (2009). Selectividad de herbicidas y control de malezas para establecer una asociación *Brachiaria brizantha*-*Leucaena leucocephala*.

- Rodríguez, D. (2011). Estación depuradora de aguas residuales y planta de compostaje de ASPE. Instituto Universitario del Agua y de las Ciencias Ambientales, España.
- Rodríguez, I. (2017). Potencialidades de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray en la alimentación animal *Livestock Research for Rural Development*, 29(4).
- Roig, J. & Mesa, A. (1974). Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana, Cuba.
- Román, P., Martínez, M. & Pantoja, A. (2013). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (FAO). Manual de compostaje del agricultor, Experiencias en América Latina.
- Romero, O., Galindo, A., Murgueitio, E. & Calle, Z. (2014). Primeras experiencias en la propagación del botón de oro (*Tithonia diversifolia*, Hemsl. Gray) a partir de semillas para la siembra de sistemas silvopastoriles intensivos en Colombia. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17(3), 525-528.
- Ruiz, T. & Febles, G. (2006). Agrotecnia para el fomento de sistemas con leguminosas. Parte 2. En: Recursos forrajeros herbáceos y arbóreos. (Ed. Milagros Milera). EEPF “Indio Hatuey” Matanzas, Cuba-Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. p. 103
- Ruíz, T., Febles, G., Galindo., Juana, L., Savón., Lourdes, L., Chongo., Bertha, B. & Torres, V. (2014). *Tithonia diversifolia*, sus posibilidades en sistemas ganaderos. *Revista. Cuba Ciencias Agrícolas*. 48 (1), 79-82.
- Rusdy, M. (2015). Enhancing germination in seeds of *Centrosema pubescens*. *Int. J. Sci. Res. Publ.* 5 (10), 1-4.

- Rusdy, T. (2016). Mejora de la germinación de semillas y el crecimiento temprano de las plántulas de *Leucaena leucocephala* por agua fría, escarificación mecánica y ácida pre tratamiento.
- Saavedra, S., Cotes, J. & Naranjo, J. (2011). Avances en la caracterización fisiológica de la semilla sexual de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) gray. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 24:511.
- Sagarpa. (2007). Elaboración de Composta.
- Sánchez, A., Reino, B., Muñoz, Y., González, L., Montejo, F. & Machado, D. (2005). Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la germinación, la emergencia y el vigor de las plántulas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. Pas. For. 28: 209-220.
- Sánchez, G., Rosendo, P., Vargas, R., Rosales, M., Platas, R. & Becerril, P. (2018). Energía germinativa en guaje (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) con diferentes métodos de escarificación de la semilla
- Sánchez, K. & Ramírez, M. (2006). Tratamientos pre germinativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 23,257.
- Sanson, D., Fogaza, C. & Peres, F. (2014). Evaluación de la viabilidad de las semillas de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit) por la prueba de tetrazolio. Unicentro, Guarapuava -PR.
- Sao, N., Mui, N. & Binh, D. (2010). Biomass production of *Tithonia diversifolia* (Wild Sunflower), soil improvement on sloping land and use as high protein foliage for feeding goats. Livestock Research for Rural Development, 22 (8).

- Shelton, H. & Brewbaker, J. (1998). *Leucaena leucocephala* - Leguminosas de forraje de gran uso. Publicado por Tropical Sociedad de pastizales de Australia Inc. St Lucía, Queensland y Australia.
- Solans, X., Alonso, R. & Gadea, E. (2008). Plantas de compostaje para el tratamiento de residuos: riesgos higiénicos.
- Solorio, S. & Solorio, S. (2008). Manual de manejo agronómico: *Leucaena leucocephala* (Guaje), una opción forrajera en los sistemas de producción animal en el trópico.
- Summ, D., (2005). Como cultivar el botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en Colombia.
- Toral, O. (2005). La utilización del germoplasma arbóreo forrajero en Simón L. (Ed). *El silvopastoreo*. Matanzas, Cuba.34-47.
- Torres, A., Alvarado, A., Chacón, E., Zerpa, A., y Romero, R. (2002). Producción de semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit en Venezuela.
- Urdaneta, J. & Borges, J. (2008). Evaluación de dos sistemas de siembra sobre el rendimiento de biomasa en *Leucaena leucocephala* (Lam.). *Memorias V Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Pecuaria Sostenible*. Maracay estado Aragua, Venezuela. 145.
- Uribe, T., Zuluaga, S., Murgueito, R., Valencia, C., Zapata, C., Solarte, P., Cuartas, C., Naranjo, R., Galindo, S., González, S., et al. (2011). Proyecto ganadería colombiana sostenible: Manual 1. Establecimiento y manejo de sistemas silvopastoriles.

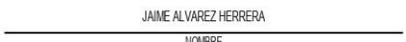
- Varela, S. & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pre germinativos. Cuadernillo No.3. Serie técnica: Sistemas forestales integrados. Área Forestal-INTA EEA Bariloche. Varela, S. A., y Aparicio, A. (eds.). Argentina. ISSN: 1853-4775.
- Vasques, T., Moreira, W. & Roxo, P. (2011). Técnicas de quebra de dormencia e estudo de substratos orgânicos para produção de mudas de leucena.
- Vento, M. (2000). Estudio sobre la Preparación del Compost estático y su Calidad.
- Vergara *et al.*, (2006). Efecto de la suplementación con *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* Lam. De Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch). Revista Científica. 16,642
- Wambui, C., Abdulrazak, A. & Noordin, Q. (2006). The effect of supplementing urea treated maize stover with *Tithonia*, *Calliandra* and *Sesbania* to growing goats. *Livestock Research for Rural Development*, 18 (5): article 64.
- Wang, S., Weibang, S. & Xiao, C. (2004). Attributes of plant proliferation, geographic spread and the natural communities invaded by the naturalized alien plant species *Tithonia diversifolia* in Yunnan China. *Sheng Tai Xue Bao*, 24 (3): 444-449
- Willan, L. (2000). Pretratamientos de semillas. En: Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No 39. CATIEPROFESORDFSC. Turrialba, Costa Rica.
- Yadete, G. (2014). Efecto de la paja de trigo. Tratamiento de urea y *Leucaena leucocephala*. Suplementos de heno follaje en la ingesta, digestibilidad, balance de nitrógeno y crecimiento de corderos. En. *J. Ganadería de Producción*. 6 (4), 88 - 96.

- Zapata, C. & Vargas, S. (2014). Botón de oro: Manual para su establecimiento y manejo en sistemas ganaderos (1 ed.). Manizales, Caldas, Colombia: Universidad de Caldas.
- Zavala., Rodríguez, J. & Cerrato, M. (2007). Concentración de carbono y nitrógeno a seis frecuencias de poda en *Tithonia diversifolia* y *Morus alba*. *Tierra Tropical*. 3, 221.
- Zumbado, A. & Azofeifa, D. (2018). Insectos de Importancia Agrícola. Guía Básica de Entomología. Heredia, Costa Rica. Programa Nacional de Agricultura Orgánica (PNAO). 204 pp.
- Zurcan, V. (2010) Estudio experimental en planta piloto del proceso de compostaje de residuos agroalimentarios. Facultad de Ingeniería. Universidad de Montevideo, Uruguay.

ANEXOS

Anexo 1. Resultados de los análisis químicos realizados en el compostaje de bovinaza

RESULTADOS DE ANÁLISIS QUÍMICO – COMPOST Y ABONOS Q-60														FECHA			
GESTIÓN AGROLÓGICA														AAAA-MM-DD			
														2019-12-27			
NOMBRE Y APELLIDO / EMPRESA / PROYECTO						OBALDO SEPULVEDA				TIPO DE MUESTRA		SUELO		No. SOLICITUD		4213_1	
DEPARTAMENTO / MUNICIPIO / LOCALIZACIÓN						Norte Santander - Los Patios											
SUPLEMENTO DE RESULTADOS						<input type="checkbox"/> DE FECHA		DIRECCIÓN DEL CLIENTE				AVENIDA 6 No 18 - 38 BARRIO LA CABRERA					
No. DE LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO	PROFUNDIDAD (cm)	pH	RELACIÓN DE pH	CARBONATO DE CALCIO Cualitativo*	COMPLEJO DE CAMBIO cmol(+)Kg				FÓSFORO DISPONIBLE mg/Kg	ELEMENTOS MENORES DISPONIBLES (mg/kg)				CARBONO TOTAL %	NITRÓGENO TOTAL %	
						Ca	Mg	K	B.T.		Mn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	B (mg/Kg)			
MQ1-40641	ABONOS COMPOSTAJE	-	8.140	1.2	(-)	19.10	11.85	43.74	74.69	446.22	68.63	51.22	2.38	N.A.	21.08	1.72	
AZUFRE TOTAL %																	
0.42																	

Observaciones:	No se reporta resultados de la determinación analítica BORO (B), ya que por presentar interferencias de color en el extracto no fue posible cuantificar dicho parámetro por la técnica de espectrofotometría.
<p>N.A. = NO APLICA; N.E. = NO ESPECÍFICA; N.D. = NO DETECTADO * CaCO₃: (+) = (-) = NO PRESENTE; BAJO; (++) = MEDIO; (+++) = ALTO; (++++) = MUY ALTO.</p> <p>NOTA: Los resultados almacenados en la base de datos y los enviados por correo electrónico se conservarán durante tres años a partir de la entrega de los mismos. Las muestras para análisis químicos, físicos y mineralógicos se almacenarán durante seis meses a partir de la fecha de entrega de resultados. Las muestras para análisis biológicos se conservarán 15 días a partir de la fecha de entrega de resultados; aguas y abonos no se conservarán. La información emitida por el Laboratorio Nacional de Suelos, se limita al análisis de la(s) muestra(s) entregadas por el cliente.</p> <p>Favor comunicar su sugerencia, observación o reclamo al Laboratorio Nacional de Suelos Cra 30 N° 48-51 Bogotá, Telefax 3694016 ó 3694000 Ext. 91548 y 91266, mail: laboratorio@gac.gov.co Prohibida la reproducción parcial sin autorización escrita del Laboratorio. Certificaciones BVQI para las normas ISO 9001:2015, NTCGP 1000:2009 e ISO 14001:2015</p>	
<p>APROBADO POR COORDINADOR DEL GIT:</p> <p style="text-align: center;">  NOMBRE Firma </p>	