ESTADO PLURINACIONAL DE BOLIVIA
MINISTERIO DE DESARROLLO RURAL Y TIERRAS

INIAF
Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal

PROYECTO "GENERACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE PRODUCCIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO EFICIENTE DE LOS FRUTOS AMAZÓNICOS PRIORIZADOS (CASTAÑA, ASAÍ, COPOAZÚ Y MAJO) EN LA AMAZONIA BOLIVIANA"

COMPONENTE INVESTIGACIÓN

TECNOLOGIAS SISTEMATIZADAS DE MAJO *(Oenocarpus bataua)*

GESTION 2024

Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal–INIAF Departamental Pando
Dirección: Calle Tarija Nº46, Barrio Mapajo, Cobija-Pando
Teléfonos: (591-3) 72934471 - 72915030
Pando – Bolivia

FICHA DE SISTEMATIZACION DE TECNOLOGIAS GENERADAS POR EL PROYECTO DE FRUTOS AMAZÓNICOS - INIAF	
Titulo	**LIOFILIZACIÓN DE SEMILLAS DE MAJO (*Oenocarpus bataua*) PARA ANALISIS MOLECULAR DEL PROYECTO FRUTOS AMAZÓNICOS DEL INIAF**
Palabras Clave	Marcadores Microsatélites, Majo (*Oenocarpus bataua*), Diversidad genética, liofilización.
Departamento (s) en los que se aplica la Tecnología	Pando
DESCRIPCION DETALLADA DE LA TECNOLOGIA	
Introducción	La Liofilización es un proceso de conservación mediante sublimación utilizado con el fin de reducir las pérdidas de los componentes de la muestra vegetal. La liofilización es un proceso de deshidratación que se utiliza en diversos campos, incluyendo la investigación molecular. Este método es una forma efectiva de preservar la calidad de los componentes volátiles termo-sensibles y moleculares de la muestra cómo (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, etc.) debido a que permite la eliminación del agua del material biológico sin alterar su estructura física. Para liofilizar una muestra vegetal para análisis molecular, primero se deben obtener las muestras y limpiarlas cuidadosamente para eliminar cualquier tipo de contaminante (insectos, polvo, etc.). A continuación, se deben cortar las muestras de manera uniforme para garantizar que se liofilicen por completo. En Bolivia no se tienen estudios realizados sobre análisis molecular de especies forestales, por lo que este documento tiene por finalidad de ser referencia para el estudio de la diversidad genética en especies forestales como el Asai a través del uso de marcadores moleculares que permiten detectar polimorfismos de ADN como son los microsatélites (SSR). Los marcadores microsatélites (SSR) tienen muchas ventajas debido a que son altamente polimórficos, robustos y co-dominantes. Además, debido a su transferencia entre diferentes especies es usado en estudios de conservación genética (Moreira et al., 2012).
Objetivo general	Conocer procesos de Liofilización de semillas de Majo (*Oenocarpus bataua)* para análisis molecular del Proyecto Frutos Amazónicos del INIAF.
Objetivos específicos	• Exponer el proceso de liofilización de semillas de Majo (*Oenocarpus bataua*) para análisis moleculares. • Conocer las etapas del proceso de liofilización

	• Conocer el proceso de liofilización en muestras vegetales
Descripción de la tecnología desarrollada y/o v alidada	**Localidad y coordenada.** El proceso de liofilización se realizó en el Laboratorio de Biología molecular del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) ubicado en la Localidad de Montenegro, Provincia de Quillacollo, km 23, camino a Cochabamba – Oruro. Situado a 17° 22` de latitud sud y 66° 19` de longitud oeste a una altura de 2505 m.s.n.m. **Material y equipos.** Liofilizador, moledor de muestras, reactivos como: Agitador magnético, Autoclave, Balanza Analítica, cámara de electroforesis Cole Parmer, Bandeja de electroforesis, Baño maria Julabo, Frezzer (-20°C), Documentador de imagen, Destilador de agua, Microcentrífuga, Thermo Scientific, Microondas wirpool, pHmetro de Hanna Instruments, Refrigerador Consul 4 ° C, Tanque para nitrógeno líquido (cap. 10 L) thermo Scientific, Termociclador Peq Lab, Transiluminador de rayos U.V. Photonyx. **Metodología Liofilizacion** Se recibieron en laboratorio muestras de semillas de Majo del Proyecto Frutos Amazónicos para el proceso de extracción de acidos nucleicos para evaluación de diversidad genética , los cuales fueron procesados en el Equipo de liofilización para luego ser Molidos en Moledor de muestras. Las muestras fueron almacenadas a – 20 °C luego de ser recepcionadas. **Sublimación**. Mediante esta etapa se elimina aproximadamente el 90% del agua total, principalmente el agua libre y alguna parte del agua ligada (Guallpa,2021). (Salazar y Zúñiga, 2019, p. 27). La variable de operación más importante en esta etapa es la presión en la cámara, ya que el proceso de sublimación es mucho más eficiente a presiones mínimas. **Secado secundario.** El fin de esta etapa es eliminar por desorción el agua que no fue congelada y que se encuentra ligada en el producto, se lleva a cabo a una temperatura hasta un valor próximo al del ambiente y manteniendo el liofilizador a baja presión, logrando una humedad final de hasta el 2 % (Guallpa,2021). (Parra, 2015. **Almacenamiento del producto seco en condiciones controladas**. Al finalizar el proceso, queda una estructura que conserva la forma y volumen pero que ha perdido peso y cuando se le agrega agua, recupera textura, aroma y sabor original. Se envasa en materiales impermeables a la humedad y al oxígeno conservando intactas sus propiedades, presenta menos costos de conservación y ofrece grandes desarrollos posibles de conservación de cualidades organolépticas. El equipo Moledor de muestras tiene 2 capsulas en las que se introduce las muestras y con ayuda de unas perlas de metal incorporadas ayudan

a moler el material. En función al tamaño de la muestra puede introducirse hasta 2 perlas, el tiempo dependerá de la dureza del material, colocamos las semillas y dejamos programado para moler 2 minutos. Que fueron suficientes para pulverizar la muestra. Que es el estado a partir del cual se realiza la extracción de ADN.

Figura 1. Proceso de liofilización de la muestra.

Figura 2. Molida del material liofilizado. (Tubos eppendorf con muestra pulverizada).

Extracción de ADN genómico de Majo

Protocolo de extracción de ADN de Majo *(Oenocarpus bataua)* . es una especie perteneciente a la familia de las palmas (*Arecaceae*), descrita por Martius en 1842. Se caracteriza por tener tallo solitario, rara vez cespitoso, erecto, alcanza entre los 10-20 m de altura y entre 10-23 cm de diámetro, sostenido por un cono de raíces epigeas rojizas muy juntas. Tiene una corona con 10 a 20 hojas, con vainas formadas por un pseudocaule de cerca de 1 m de largo, raquis con 2-3 m de largo, 60-90 pinnas angostas y péndulas que llegan hasta 80 cm de largo y 2-3 cm de ancho. La inflorescencia tiene un pedúnculo de cerca de 20 cm de largo, el raquis alcanza cerca

de 40 cm de largo y posee alrededor de 90 raquilas péndulas, blanquecinas y tomentosas. Los frutos son esféricos de poco más de 1 cm de diámetro, de color negro

violáceos en la madurez, con semillas globosas rodeadas de fibras delgadas y con endospermo homogéneo (Henderson, 1995; Galeano & Bernal, 2010).

(CTAB; Doyle & Doyle 1987).

1. Adicionar 800 µL de buffer de extracción (CTAB 2%, 1.4M NaCl, 20mM EDTA, 100mM TrisHCl, 0.2% B-mercaptoetanol).
2. Incubar en baño maría a 60 °C por 30 minutos, mezclando por inversión cada 10 min.
3. Lavar con cloroformo: isoamil-alcohol (24:1) para la extracción orgánica añadiendo 700 µL
4. Centrifugar durante 7 minutos a 13000 rpm.
5. Recuperar 700 µL el sobrenadante o Fase acuosa a otro tubo
6. Repetir el paso 4 y5.
7. Retirar el sobrenadante o la fase acuosa a otro tubo.
8. Añadir isopropanol en 1 vol. al sobrenadante recuperado
9. Centrifugar por 5 minutos a 13000 rpm.
10. Lavar con etanol al 75% y centrifugar por 7 min a 13000 rpm.
11. Dejar secar por inversión los tubos. Resuspender en 50 µL de agua estéril libre de nucleasas.
12. Tratar con RNasa a 37°C durante 30 min.
13. Almacenar a -20°C.

Figura 3. Extracción de ADN genómico a partir de semillas de Majo

Electroforesis en gel de agarosa al 1%

Verificación de la concentración ADN en gel de agarosa mediante electroforesis:

- Preparar el gel de agarosa al 1%.
- Calentar la mezcla de agarosa en horno microondas
- Preparar una batería de tubos eppendorf con las muestras extraídas.
- Depositar 5 µL de agua destilada, 1 µL de ADN total de la muestra correspondiente y 2 µL de tampón de cargado.
- Colocar en un pocillo 2,5 µL del marcador de PM de 200 - 10.000 pares de bases
- Aplicar la corriente (5V/cm) por 45 a 60 min.
- Colocarlo sobre la fuente de luz ultravioleta.

- Documentar la imagen del gel.

Tabla 2. Preparación de Gel de Agarosa (cuantificación de ADN y Productos PCR).

	Gel mediano 200 ml	Buffer de corrida
Agarosa 1% (cuantificación de ADN)	2 g	400 ml
Agarosa 2% (cuantificación de ADN)	3 g.	600 ml
TBE 0,5X (ml) para el gel	200	
TBE 0,5X (ml) para la cubeta	600	

Protocolo de Amplificaciones mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimeraza)

La reacción de amplificación por PCR (reacción en cadena de la polymeraza), será llevada a cabo bajo protocolos estándares y con las especificaciones de amplificación detallada para cada microsatélite. Si los marcadores microsatélites presentan patrones de bandas múltiples (en inglés: slippage), se procederá a ajustar los protocolos de cada marcador variando la temperatura de hibridación y la concentración de los otros componentes de la reacción.

Tabla.3 Protocolo de Reacción PCR

REACTIVOS	concentración	VOLUMEN µL
Buffer PPL	10x	2.5
Mg Cl_2	25 m M	1
d NTPs	5 m M	2
Cebador FR	5 m M	5,0
Taq	5 U	0,2
H_2O	Variable	16,5
ADN		3

Protocolo Kit de PCR Qiagen.

Proceso de amplificación por PCR.

Resultados obtenidos

Luego de verificar la calidad del material extraído, se prepararán las muestras a las condiciones de amplificación del marcador molecular.

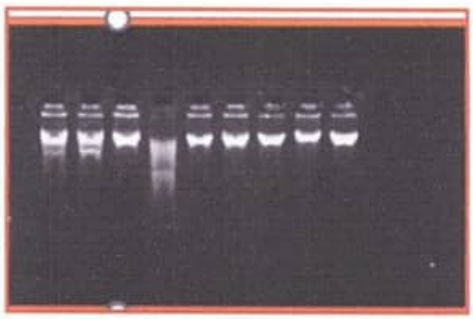


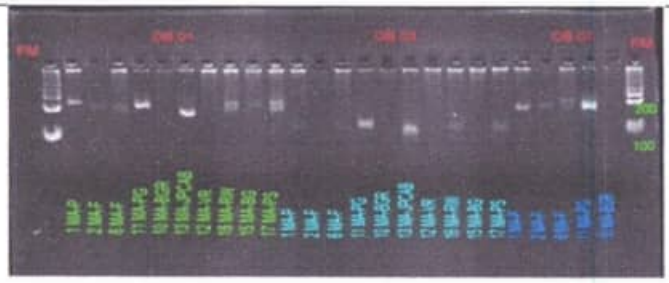
Figura.5. Bandas de ADN de Majo visualizados en gel de agaroza al 1%.

Pruebas de amplificación por PCR

Para la determinación de temperatura óptima de amplificación para cada marcador SSR se realizó PCR en gradientes de temperatura para cada una de ellos, determinando la temperatura de amplificación, como se muestra en tabla siguiente, donde podemos observar los valores utilizados y en otra corrida (T°C elegida) la temperatura elegida, considerando integridad, intensidad de la banda de ADN.

Amplificación de los Microsatélites SSR por PCR y Cuantificación

En cada grupo de accesiones para la amplificación por PCR se incluyó agua milli, que como control negativo para determinar contaminación. La amplificación fue positiva en todos los casos sugiriendo que las secuencias adyacentes al microsatélite son bastante bien conservadas

	 **Figura 3**. Visualización de separación del fragmento microsatélite OB 01, OB 03 Y OB 07 en gel de separación con accesiones de majo (*Oenocarpus bataua*), del Banco de Germoplasma del Proyecto Frutos Amazónicos del INIAF.
Conclusiones y recomendaciones	**CONCLUSIONES** Se logró conocer los procesos de liofilización de muestras vegetales, para análisis molecular Con esto podemos deducir que el liofilizador es un equipo multifuncional, el cual podemos usar para varios tipos de muestras vegetales, tales como: hojas, pulpa, semillas, mucilago como también para liofilizar muestras de ADN. Se pudo comprender que el proceso de liofilización tiene tres etapas que son: congelación, secado primario y secado secundario, son las etapas por las cuales pasa cualquier tipo de muestra con la que vayamos a trabajar. De acuerdo a la bibliografía revisada, los procesos de liofilización en muestras vegetales varían según el tipo de muestra a tratar, algunas muestras pueden ser más fáciles de procesar, y otras más complejas y de largo proceso, como en el caso de las semillas, ya que estás primero pasaron por un proceso de germinación. **RECOMENDACIONES** Debemos tener mucho cuidado y poner atención en los procesos de liofilización, desde el momento de la recolección de la muestra, como también al momento de guardar las muestras liofilizadas, ya que un mal almacenamiento de las muestras puede provocar que estas se degraden.
Bibliografía y/o páginas web consultadas	1. Kalstein. (2022, mayo 26). Liofilizador: ¿Qué es? ¿Para qué sirve? Kalstein; Kalstein Chile. (2022, mayo 26). Liofilizador: 2. (Guallpa,2021). (Marín, 2013, p. 34). "Evaluación del proceso de liofilización en fresa (fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria 3. Santarrosa, V. (2013). Evaluación nutricional comparativa de pitahaya (Hylocereus 4. triangularis) deshidratada en deshidratador de bandejas con la liofilizada.

5. (Duchitanga et al. 2018; Marques, y Freire, 2007). Análisis de la capacidad antioxidante de frutas y verduras sometidos a congelación y liofilización

6. (agenciapyme, 2020). Proceso conservación alimentos por el método de liofilización

7. (Guallpa,2021). (Talavera, 2018, p. 13). Evaluación del proceso de liofilización en fresa (Fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria"

8. (Guallpa,2021). (Serrano, 2015, p. 14). Evaluación del proceso de liofilización en fresa (Fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria" pág. 23 9. (Guallpa,2021). (Salazar y Zúñiga, 2019, p. 27). Evaluación del proceso de liofilización en fresa (Fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria"

10. (Guallpa,2021). (Ramos, 2017, p. 60). Evaluación del proceso de liofilización en fresa (Fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria"

11. 6 (Guallpa,2021). (Parra, 2015, p. 21.) Evaluación del proceso de liofilización en fresa (Fragaria ananassa) para su aplicación en la industria alimentaria"

12. (Morillo et al.; Velasco 2004). "Marcadores moleculares en biotecnología agrícola: manual de técnicas y procedimientos en iniap"

13. , (Mora-Newcomer2021) Aislamiento de ADN de alta calidad en Psidium guajava L. para estudios Volumen 32(2):638-649. Mayo-agosto,

14. (Giler, et al.; Luz 2012). Caracterización de las Hojas de Remolacha (Beta vulgaris) liofilizadas para su uso en la elaboración de Infusión

15. (Giler,2019). (Ramírez, 2011). Caracterización de las Hojas de Remolacha (Beta vulgaris) liofilizadas para su uso en la elaboración de Infusión.

16. (Aguilar y Vargas,2019) "determinación del contenido fenólico y la identificación molecular de la vid Vitis sp. Denominada "isabelita", del distrito de san antonio de cumbaza, san martín, Perú

17. (Maleno,2019, p.10). Evaluación del punto final de la liofilización en la pulpa de naranja

18. (Cubillos,2020, p.83) Evaluación de la extracción de pigmentos vegetales como la antocianina a partir de diferentes frutos silvestres para uso alimenticio

19. (Cordova,2022, p.13) efecto de la liofilización en las características fisicoquímicas y microbiológicas de musa paradisiaca pág. 24

20. (Nereida,2020) febrero de 2020 *Aceptado: 29 de marzo de 2020 * Publicado: 16 de abril de 2020 Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos

	21. (Huerta y Centeno-Cuadros) Aplicaciones de las técnicas de ADN ambiental al estudio y conservación de los recursos naturales 22. Ospina Colorado, J.A., 2018. Desarrollo de una metodología de extracción de ADN a partir de semillas de Arroz para un programa demejoramiento. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Risterucci, A.M., Grivet, L., N'Goran, J.A.K., Pieretti, I., Flament, M.H., Lanaud, C., 2000. A high-density linkage map of Theobroma cacao L. Theor. Appl. Genet. 101, 948– 955. 23. Colecta de tejido foliar, extracción de ADN y envío de muestras en poblaciones de Megathyrsus maximus (Pm21) e híbridos interespecíficos de Urochloa sp (Br19) para secuenciación genómica. Maria Camila Malatesta1 , Felix Pinzón1 Luis Miguel Hernández1 , Rosa Noemi Jauregui1
RESPONSABLE DE LA INFORMACION	
Nombre de la entidad	Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal – INIAF
Correo electrónico	contacto@iniaf.gob.bo
Teléfono	(591-2) - 22124404 – 2 2124411
Página web	https://www.iniaf.gob.bo/webiniaf/
Dirección	Calle Cañada Strongest, Esquina Otero de la Vega, N° 1573/ Zona San Pedro Centro
Nombre del investigador o responsable de la información	Ing. M. Sc Silene Veramendi Torrico
Nombre del programa y/o proyecto	Programa: Nacional de apoyo a la producción y recolección de frutos amazónicos (castaña, asai, copoazú y majo) Proyecto: Generación de tecnologías de producción para el aprovechamiento efectivo de los frutos amazónicos (castaña, asai, copoazú y majo)
Fecha de envió	19 de agosto 2024

FICHA DE SISTEMATIZACION DE TECNOLOGIAS GENERADAS POR EL PROYECTO DE FRUTOS AMAZÓNICOS - INIAF	
Titulo	**SEIS TIPOS DE SUSTRATOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAJO (*Oenocarpus bataua*) PROCEDENTES DE LA COMUNIDAD SANTA LOURDES DEL MUNICIPIO DE BELLA FLOR PANDO.**
Palabras Clave	Germinación, Sustrato, Amazonia
Departamento(s) en los que se aplica la Tecnología	Pando
DESCRIPCION DETALLADA DE LA TECNOLOGIA	
Introducción	La germinación de las semillas es un proceso vital para el desarrollo de las plantas y juegan un papel fundamental en la propagación y reproducción de las especies. Es conocido que diferentes factores ambientales, como el sustrato utilizado, pueden afectar significativamente este proceso. En el caso particular de las semillas de majo (*Oenocarpus bataua*), se ha observado que su germinación puede verse favorecida o perjudicada dependiendo del sustrato empleado. Según López (2016), la semilla de Majo (*Oenocarpus bataua* M.) la germinación se produce entre 45 y 120 días en condición natural. La utilización de diferentes sustratos es esencial en la agricultura, ya que cumplen un papel fundamental en la germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas. El sustrato es el medio en el cual se siembran las semillas, proporcionando nutrientes, aireación y retención de agua, entre otras funciones. En *Oenocarpus bataua*, se desconoce el efecto que diferentes tipos de sustratos pueden tener en la germinación de estas semillas. Por lo tanto, es fundamental realizar una investigación científica que evidencie el impacto de diferentes sustratos en este proceso y permita obtener conocimientos relevantes para mejorar la producción de este cultivo.
Objetivo general	Evaluar seis tipos de sustratos sobre la germinación de semillas de majo (*Oenocarpus bataua*) procedentes de la comunidad Santa Lourdes del Municipio de Bella Flor, Departamento de Pando
Objetivos específicos	• Determinar los sustratos más favorables para la germinación de las semillas de majo. • Comparar la velocidad y el porcentaje de germinación entre los diferentes sustratos evaluados.
Descripción de la tecnología desarrollada y/o v	**Localización** El ensayo se realizó en la ciudad de Cobija, Provincia Nicolás Suarez, Departamento del Pando, a una altitud: 159 metros sobre el nivel del mar, en las instalaciones del INIAF-Pando (Instituto Nacional de Innovación

alidada

Agropecuaria y Forestal), en la siguiente ubicación latitud -11.016414, longitud -68.753588.

Materiales y población de estudio.

Los materiales empleados en el desarrollo del trabajo de investigación fueron los siguientes:

Materiales de Gabinete	Herramientas de Campo	Equipos	Insumos	Material Vegetal
Hojas boom	Pala	Balanza	Tierra	Semilla de majo procedentes de la comunidad Santa Lourdes del municipio de Bella Flor
Bolígrafos	Carretilla	Cámara	Limo	
Marcador indeleble	Machete	Computadora portátil	Aserrín	
Lápiz	Arnés de trepado	Impresora	Cascara de castaña	
Masquin	Bandejas		Fuste o tallo descompuesto	
Etiquetas	Tacu		Arena de rio	
Tableros	Regadera			
Tijeras	Bandeja germinadera			

Metodología

La metodología empleada para responder los objetivos planteados fue del tipo experimental, y se siguieron los siguientes pasos:

a) Preparación de los sustratos
b) Colocado de sustratos en bandejas de germinación
c) Esterilización de los sustratos con agua hervida
d) Despulpado manual de los frutos de majo
e) Lavado y desinfección de las semillas con DG-6 (Piridonio cloruro, 10 gotas/100 ml de agua); es un antiséptico, desinfectante, bactericida, funguicida y detergente.
f) Colocar las semillas de majo en cada sustrato, manteniendo la misma cantidad de siembra en todas las bandejas
g) Regado de las bandejas regularmente para mantener la humedad adecuada
h) Registro del porcentaje de germinación y la velocidad de germinación en cada sustrato.
i) Realizar análisis estadístico para determinar diferencias significativas entre los sustratos evaluados

Diseños experimentales aplicados

La relación del número de semilla germinada sobre el total de semilla sembrada fue procesada con el modelo lineal generalizado con el supuesto de distribución binomial y la estructura del diseño completamente al azar (Steel y Torrie, 1992; Montgomery, 2004). Los días con la máxima germinación fue procesado con el modelo lineal general con el supuesto de

	distribución normal y también con el diseño completamente al azar, así el modelo estadístico fue: $y_{ij}=\mu+\tau_i+\varepsilon_{ij}$ Donde: i = 1, 2,... a de tratamiento j = 1, 2,... b de repetición y_{ij} = Valor de una variable de respuesta de la unidad experimental de la j-esima repetición y que recibe el i-esimo tratamiento μ= Media común τ_i= Efecto fijo del i-esimo tratamiento ε_{ij}= Error aleatorio del residuo $\sim DNII\ (0, \sigma_e^2)$
Resultados obtenidos	**Porcentaje de germinación** El análisis de varianza (Tabla 1) el efecto de los tratamientos (sustrato) sobre la germinación de semillas de majo (*Oenocarpus bataua*) en Cobija, en el departamento de Pando, reveló que existen diferencias significativas entre los tratamientos a P: 0.05. **Tabla 1.** *Prueba de Wald de la relación de semillas germinadas sobre el total de semillas sembradas de majo (Oenocarpus bataua) evaluados en diferentes tipos de sustrato, en la ciudad de Cobija, departamento de Pando.*

Fuente variación	Grados libertad	Chi-cuadrado	Pr > ChiSq
Tratamientos	5	12.28 *	0.0311

*: Significativo a P: 0.05

El tratamiento T2 (sustrato arena) presento el mayor porcentaje de germinación (Figura 1), el de menor valor de germinación fue el tratamiento T5 (Motacú descompuesto) que se diferencian a P: 0.05, los demás tratamientos presentaron valores intermedios. Los tratamientos T3 (Aserrín) y T4 (cáscara de castaña) pueden ser como alternativa de sustrato, por secundar al T2 (arena), en la germinación de semillas de majo.

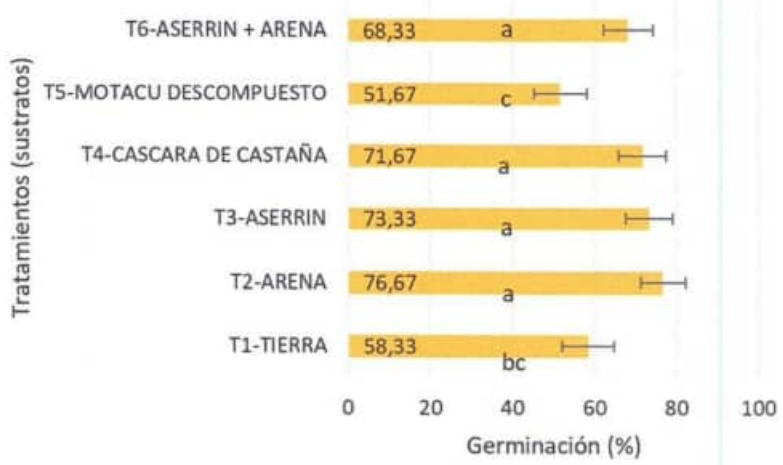


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de majo debido al efecto de tratamientos (tipos de sustratos).

Promedios con la misma letra carecen diferencia significativa a P: 0.05 según distribución normalizada (Z). Las líneas de las barras son error estándar de medias.

Número de días de la germinación máxima

Durante el período de evaluación de 43 días, los diferentes sustratos mostraron variaciones en el porcentaje acumulado de germinación de las semillas de majo (*Oenocarpus bataua*). En tratamiento con **arena de río (T2)** mostró un alto porcentaje de germinación temprano, alcanzando el 52% a los 15 días y aumentando consistentemente hasta el 77% al final del período. De manera similar, los tratamientos con **aserrín descompuesto (T3)** y **cáscara de castaña (T4)** presentaron altos porcentajes de germinación iniciales, con 67% y 60%, respectivamente, y alcanzaron un máximo de 73% y 72% sin cambios significativos después de los 22 días (Tabla 2).

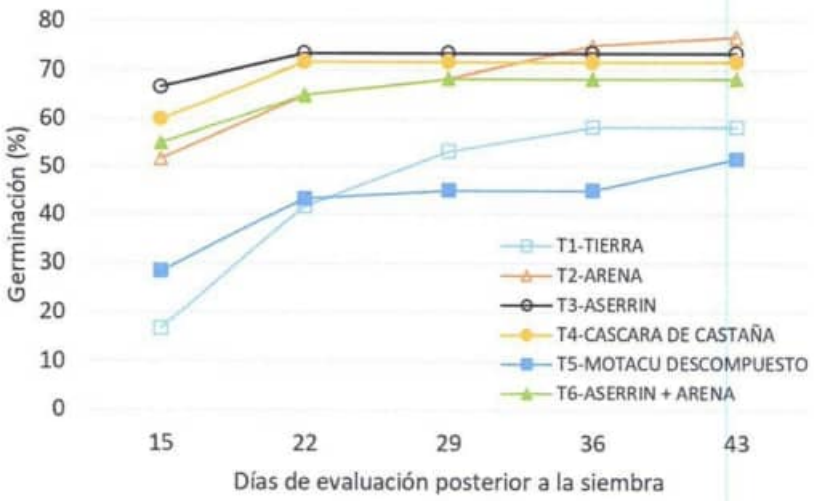


Figura 2. *Porcentaje acumulado de germinación de semillas de majo (Oenocarpus bataua) evaluados en diferentes tipos de sustrato, en la ciudad de Cobija, departamento de Pando., durante un periodo de evaluación de 43 días.*

Según el análisis (Tabla 2) los días con la germinación acumulada máxima, de semillas de majo, presento diferencias a P: 0.05 debido al efecto de los tratamientos (tipos de sustrato). Los tratamientos con menor número de días fueron los tratamientos T3 (aserrín) y T4 (cáscara de castaña) a P: 0.05 frente a los otros tratamientos (Figura 3).

Tabla 2. *Prueba de Wald para días a la germinación máxima de majo (Oenocarpus bataua) debido a los tratamientos (tipos de sustrato), en la ciudad de Cobija, departamento de Pando.*

Fuente de variación	Grados libertad	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamiento	5	699.61	139.92	3.95 *	0.0237
Error	12	424.67	35.39		

*: Significativo a P: 0.05

Figura 3. *Días con la germinación acumulada máxima de majo (Oenocarpus bataua) debido al efecto diferentes tipos de sustrato, en la ciudad de Cobija, departamento de Pando.*

Estos resultados indican que los sustratos con mejor drenaje y aireación, como el aserrín descompuesto (T3) y cáscara de castaña (T4), tienden a favorecer una germinación más rápida y efectiva en comparación con los demás tratamientos sustratos.

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

La investigación sobre la germinación de semillas de majo (*Oenocarpus bataua*) en seis tipos de sustrato reveló que las características físicas y químicas de los sustratos influyen en el porcentaje de germinación y la velocidad de germinación. Los sustratos de aserrín descompuesto (T3) y cáscara de castaña (T4) proporcionaron los mejores resultados en la germinación y en menor cantidad de días (22).

La arena de río (T2), presentó la máxima germinación y con 38.3 días.

Recomendaciones

Para mejorar este trabajo de investigación, se recomienda ampliar la variedad de sustratos evaluados, incluyendo mezclas con diferentes proporciones de materiales orgánicos e inorgánicos, para explorar una gama más amplia de condiciones de germinación. Además, sería beneficioso realizar pruebas en diferentes estaciones o bajo distintas condiciones climáticas para evaluar cómo estas variables afectan la germinación. Incluir un análisis más detallado de las propiedades físicas y químicas de los sustratos, como la porosidad, capacidad de retención de agua y contenido de nutrientes, podría proporcionar información más específica sobre las necesidades de las semillas de majo. Finalmente, aumentar el número de

	repeticiones y muestras para cada tratamiento podría mejorar la robustez estadística de los resultados y permitir conclusiones más precisas. Estos resultados pueden guiar a los agricultores y productores en la elección de sustratos para optimizar la producción de majo, una especie de importancia económica y ecológica en la región amazónica.
Bibliografía y/o páginas web consultadas	Alves, M. N. R. A.; Padilha de Oliveira, M.; Guerreiro, M. L. & Rodríguez, N. J. A. (2022). Variabilidade Genética em Oenocarpus Bacaba Mart. de Diferentes Procedências do Estado do Pará por Caracteres Morfoagronômico. Research, Society and Development, 11(4). https://doi.org/10.33448/rsd-v11i4.27418 Anderson, A.B. (1978). The names and uses of palms among a tribe of Yanomama Indians. Principes 22: 30 – 41. Anderson, C. J., Lemus, E. E., & Barros, C. A. (2012). Germinação e tolerância à dessecação de sementes de bacaba (Oenocarpus bacaba Mart.). Revista Brasileira de Sementes [Brazilian Seed Journal], 34(4), 651–657. https://doi.org/10.1590/s0101-31222012000400017 Atif, H. (2016). Mathematical Thermal Time Model to Explain Seed Germination. Balick, M. (1981). Jessenia bataua and Oenocarpus species; Native Amazonian palms as new sources of edible oil. En: Pryde, E., Pincen, L. y Mukherjee, K. (Eds.), New sources of fats and oil. American Oil Chemists Society, Champaign. Balick, M. (1982). Palmas neotropicales nuevas fuentes de aceites comestibles. Interciencia. 7 (1): 25-29. Balick, M. (1986). Systematics and economic botany of the Oenocarpus-Jessenia (Palmae) complex. Adv. Econ. Bot. 3: 1–140. Barros, D. I., Nunes, H. V., Silva, C. T. da, Nunes, B. H. di N., Oliveira, R. S. de, Lima, L. S. de S., Silva, C. O. C. da, Reis, A. F. P. dos, Carvalho, L. F., Cavalcante, M. A. L., Sena, D. M. de, & Andrade, F. A. C. de. (2020). Viability and vigor of bacaba seed (Oenocarpus bacaba) in different substrates. European Journal of Medicinal Plants, 46–50. https://doi.org/10.9734/ejmp/2020/v31i1630330 Cabrera, W. H., & Wallace, B. R. (2013). Patrones fenológicos de ocho especies de palmeras en un bosque amazónico de Bolivia / phenological patterns of eight palm species in an amazon forest of Bolivia. Centro de Biociencia Agrícola Internacional, CABI. (2022). Oenocarpus bataua [Data set]. En CABI Compendium. CABI Publishing. Chaves Yela, J. A.; Ortiz Tobar, D. P.; Bahos Ordoñez, E. M.; Ordoñez Forero, G. A. & Villota Padilla, D. C. (2020). Análisis del perfil de ácidos grasos y propiedades fisicoquímicas del aceite de palma de mil pesos

(Oenocarpus Bataua). Perspectivas en Nutrición Humana, 22(2), 175–188. https://doi.org/10.17533/udea.penh.v22n2a05

Cobas, M., Meijide, J., Sanromán, M. A., & Pazos, M. (2016). Chestnut shells to mitigate pesticide contamination. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 61, 166–173. https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.11.026

Dieter, W. (2013). Substrate for use in soils and a method for producing a substrate.

Franco-Quimbay, J., & Roja-Robles, R. (2013). Frugívora y dispersión de semillas de la palma Oenocarpus bataua en dos regiones con diferente estado de conservación Frugívora y dispersión de semillas de la palma Oenocarpus bataua en dos regiones con diferente estado de conservación.

Fuchs, J. (1999). Caracterización de sustratos de crecimiento vegetal.

Galeano, G. (1991). Estudios en la Amazonía Colombiana Vol 1. Las palmas de la región de Araracuara. Instituto de ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 180 p.

Gonzales, A., Mejía, K. M., & Torres, G. (2014). Caracterización morfológica de frutos de Oenocarpus bataua C. Martius "ungurahui." Folia Amazónica, 23(2), 131. https://doi.org/10.24841/fa.v23i2.18

Henderson, A. (1994). The palms of the Amazon. Oxford University Press, Nueva York. 334 p.

Idowu, A. T., Olatunde, O. O., Adekoya, A. E., & Idowu, S. (2020). Germination: an alternative source to promote phytonutrients in edible seeds. Food Quality and Safety, 4(3), 129–133. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz043

Krishaditersanto, R. (2018). Degradasi komponen serat serbuk gergaji hasil biokonversi jamur tiram putih (Pleurotus ostreatus) dengan level urea berbeda. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, 28(2), 175. https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2018.028.02.10

Lopez, J. M. (2016). Métodos de escarificación mecánico - físico en fase de vivero para la producción de plantines de asaí (Euterpe precatoria M.) y majo (Oenocarpus bataua M.) en el municipio de San Buenaventura. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES.

Lu, L. (2016). Dispositivo para procesar cáscaras de castañas.

Mendes, M. L., Sobrinho, S. de P., Da Luz, P. B., Aparecido, B. M. A., & Grillo, N. L. (2009). Influence of substrate and the level of moisture on the germination of seeds of pau-de-balsa.

Méndez-Durazno, C.; Cisneros-Perez, P. A.; Loja-Ojeda, B. A.; Monge-Sevilla, R.; Romero-Estévez, D.; Fernández, L. & Espinoza-Montero, P. J. (2023). Antioxidant Capacity through Electrochemical Methods and Chemical Composition of Oenocarpus bataua and Gustavia macarenensis from the

Ecuadorian Amazon. Antioxidants (Basel, Switzerland), 12(2), 318. https://doi.org/10.3390/antiox12020318

Menezes, R. de O., & de Oliveira, M. do S. P. (2009). Avaliação de caracteres geminativos em progênies de patauá (Oenocarpus bataua).

Miranda, J.; Montaño, F.; Zenteno, F.; Nina, H. & Mercado, J. (2008). El majo (Oenocarpus bataua M.) Una Alternativa de Biocomercio en Bolivia. TROPICO – PNBS – FAN. Ediciones TROPICO. La Paz, Bolivia.

Monteiro, C. O.; Cordazzo, D. M.; Paraguassú Smith de Oliveira, N. D.; Gomes da Silva, M.; Marcolino de Souza, T.; Marin, M. L; Matos C. L. & Bufalino, L. (2023). Characterization of raw and thermochemically-treated mesocarp fibers of Oenocarpus bataua, an Amazon palm. CERNE, 29. https://doi.org/10.1590/01047760202329013219

Montgomery. (2004). Diseño y análisis de experimentos. México D. F.: Limusa Wiley.

Moraes, M. (1996). Bases para el manejo sostenible de las palmeras nativas de Bolivia. Ministerio de desarrollo sostenible y medio ambiente, dirección nacional de conservación de la biodiversidad. Tratado de cooperación amazónica. La Paz.

Moraes, M. (2004). Flora de palmeras de Bolivia. Herbario Nacional de Bolivia, Instituto de Ecología. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 262p.

Moraes, M. (2014). Palmeras de Bolivia, las especies mayormente aprovechadas para diferentes fines y aplicaciones. La Paz: Herbario Nacional de Bolivia – Universidad Mayor de San Andres. Plural Editores

Moreno Suarez. L. & Moreno Suarez O. (2006). Colección de las Palmeras de Bolivia Palmae – Arecaceae Ed. FAN. Santa Cruz – Bolivia.

Muhammad, J. (2017). The Effects of Salinity and Light to the Seed Germination Ofmung Bean (Vigna Radiata L..). International journal of humanities and social sciences.

Mushtaq, M.; Akram, S. & Hasany, S. M. (2019). Seje (Oenocarpus/Jessenia bataua) Palm Oil. En Fruit Oils: Chemistry and Functionality (pp. 883–898). Springer International Publishing.

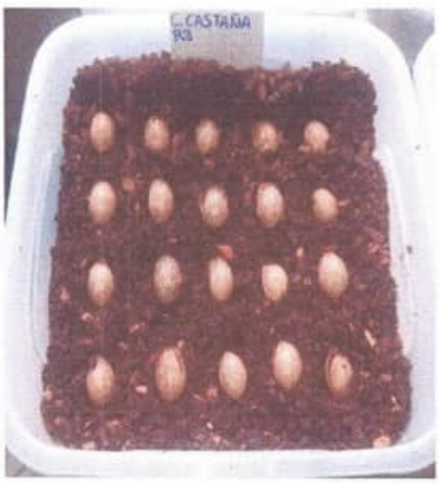
Obroucheva, N. (2017). Participation of Plasma Membrane H+-ATPase in Seed Germination. International journal of cell science & molecular biology, 2(3). https://doi.org/10.19080/ijcsmb.2017.02.555589

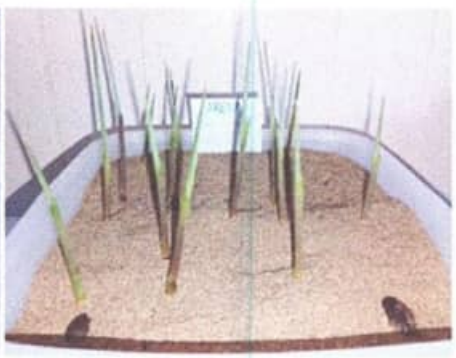
Penningsfeld, F. (1983). Kultursubstrate für den Gartenbau, besonders in Deutschland: — Ein kritischer Überblick. Plant and Soil, 75(3), 269–281. https://doi.org/10.1007/bf02369967

Peña, M. (1996). Ecology and Socioeconomics of palm heart extractión from wild populations of Euterpe precatoria Mart. in eastern Bolivia. Thesis presented to the graduate school of the University of Florida. Gainesville, Florida. 64 p.

	Peralta, C. (2007). Efecto del aprovechamiento comercial de frutos de majo (Oenocarpus bataua C. Martius) en estructura y densidad poblacional, en tres comunidades de la Provincia Vaca Diez [Universidad Autónoma del Beni]. In Unpublished. https://doi.org/10.13140/rg.2.2.24764.23684 Rasera, G. B., & De Castro, R. J. S. (2020). Germinação de grãos: uma revisão sistemática de como os processos bioquímicos envolvidos afetam o conteúdo e o perfil de compostos fenólicos e suas propriedades antioxidantes. Brazilian Journal of Natural Sciences, 3(1), 287. https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.90 SAS Institute Inc. (2013). SAS® STAT Guide 9.2. Help and documentation. NCary USA. Steel y Torrie (1992) Bioestadística: principios y procedimientos. Mc Graw-Hill. México D. F. Sylvest, E. D. (1982). Substrate for plant cultivation. Ureta, M., Martínez, P., Tupayachi, A., & Zúñiga, R. (2014). Fenología de palmeras arborescentes nativas de Madre de Dios – Perú Phenology. Revista Intropica, 9, 60–74. Velásquez J. & Araujo M. A. (2020). La semilla es el insumo fundamental para una buena producción agrícola. Maizysoya.com. https://www.maizysoya.com/lector.php?id=20200648 Xiao, Kui. & Li, Zongtang. (2013). Sawdust decomposing process. Zhou, P., Adeel, M., Guo, M., Ge, L., Shakoor, N., Li, M., Li, Y., Wang, G., & Rui, Y. (2022). Characterisation of biochar produced from two types of chestnut shells for use in remediation of cadmium- and lead-contaminated soil. Crop & Pasture Science, 74(2), 147–156. https://doi.org/10.1071/cp21297

RESPONSABLE DE LA INFORMACION	
Nombre de la entidad	Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal – INIAF
Correo electrónico	contacto@iniaf.gob.bo
Teléfono	(591-2) - 22124404 – 2 2124411
Página web	https://www.iniaf.gob.bo/webiniaf/
Dirección	Calle Cañada Strongest, Esquina Otero de la Vega, N° 1573/ Zona San Pedro Centro

Nombre del investigador o responsable de la información	Ing. José Martínez Humerez Ing. Hernán Salvatierra Cuellar
Nombre del programa y/o proyecto	Programa: Nacional de apoyo a la producción y recolección de frutos amazónicos (castaña, asai, copoazú y majo) Proyecto: Generación de tecnologías de producción para el aprovechamiento efectivo de los frutos amazónicos (castaña, asai, copoazú y majo)
Fecha de envió	19 de agosto 2024
Memoria fotográfica	**Semillas de majo** 



POLO GERMINATIVO DEL ASAI

FICHA DE SISTEMATIZACION DE TECNOLOGIAS GENERADAS POR EL PROYECTO DE FRUTOS AMAZÓNICOS - INIAF	
Titulo	**ESPECIES POLINIZADORAS DEL MAJO (*Oenocarpus bataua*), ESTUDIO EXPLORATORIO EN EL CENTRO BAJO VIRTUDES – COBIJA**
Palabras Clave	Polinización, Palmeras, Curculionidae, Majo
Departamento (s) en los que se aplica la Tecnología	Pando
DESCRIPCION DETALLADA DE LA TECNOLOGIA	
Introducción	En el contexto internacional en las últimas décadas se han intensificado las reflexiones e investigaciones interdisciplinarias relacionadas a la problemática del cambio climático, calentamiento global, sus efectos en nuestro planeta a nivel mundial, además de la conservación de la biodiversidad entre otros. Como país, Bolivia ha participado en la Cumbre Río +20 realizada en junio del 2012, y el país es parte de los acuerdos logrados durante la cumbre de Río de Janeiro de 1992, el Convenio de Diversidad Biológica (CDB) y del Acuerdo de Cartagena del 2006 y en otros eventos similares. En este sentido, el INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGROPECUARIA Y FORESTAL (INIAF), se adhiere a los principios establecidos en dichos acuerdos cuyos planteamientos se centran en: "resolver problemas de la perdida de diversidad biológica en su relación con todas las formas de vida y, en particular, con la humana, al reconocer, en primer término, la pobreza como un problema y, segundo, el uso de la diversidad biológica como una vía para resolver o al menos reducir la pobreza".
Objetivo general	• Identificar morfoespecies relacionadas a la polinización del majo en el departamento de Pando
Objetivos específicos	• Cuantificar la riqueza de morfoespecies asociadas a la polinización del majo en el Departamento de Pando • Determinar la abundancia de morfoespecies asociadas a la polinización del majo en el Departamento de Pando

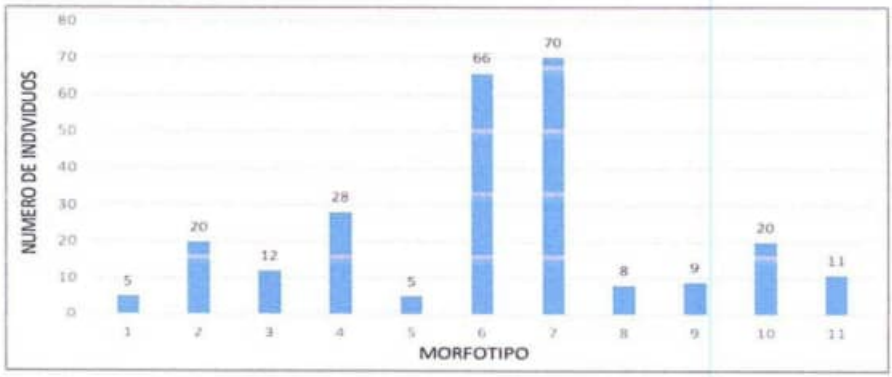


Figura 5. Cantidad total de individuos por cada uno de los 11 morfotipos encontrados

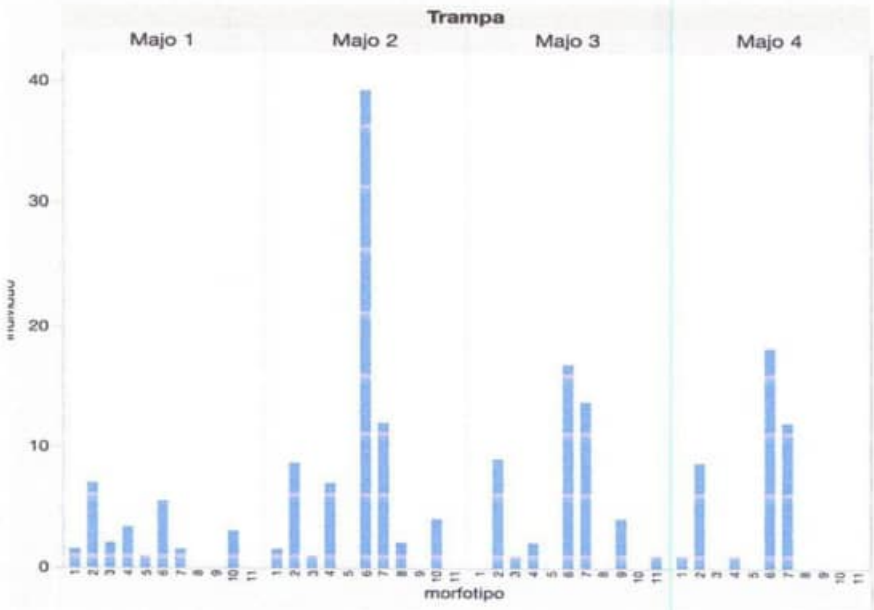


Figura 6. Cantidad de individuos según cada morfotipo en cada trampa.

A B

Figura 3. Disposición de trampas para colecta de insectos asociados a la polinización del majo. A) ascenso hasta la ubicación de la inflorescencia. B) disposición final de la trampa.

El material colectado, fue separado en submuestras para individualizar los morfotipos de Curculionidae, del resto del material (figura 4).

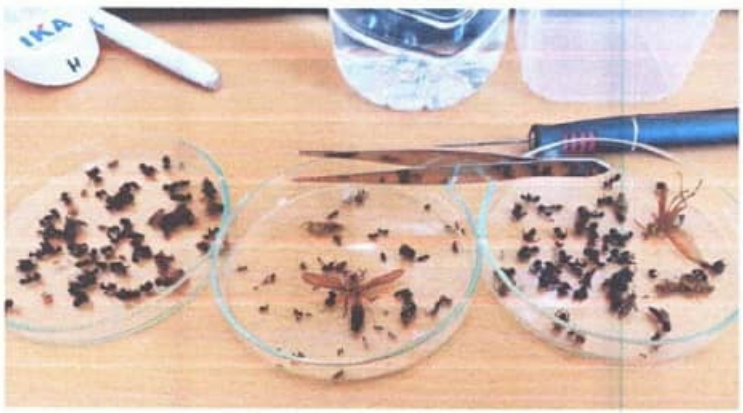


Figura 4. Separación del material en submuestras para separación de morfotipos de Curculionidae asociados a la polinización del majo.

El total de muestras de morfotipos asociados a la polinización del majo (Curculionidae), representa aproximadamente menos del 10% de todo el material colectado.

Así, Un total de 478 individuos de la familia Curculionidae fueron detectados y agrupados en 11 morfotipos (tabla 1 y figura 5).

El promedio de individuos por morfotipo fue de 23 con una desviación estándar de 22,22, con un valor mínimo de 5 y un máximo de 66.

Descripción de la tecnología desarrollada y/o validada

Los materiales usados fueron:

- GPS
- Planilla de campo
- Trampas para captura de insectos
- Estereomicroscopio con aumento hasta 90x
- Alcohol para fijación de muestras
- Pinzas entomológicas
- Frascos plásticos tipo Falcon, para separación de muestras
- Alfileres entomológicos
- Cajas entomológicas

Seleccionados los 4 individuos de palmeras, se obtuvo su ubicación georreferenciada y se procedió a colocar las trampas para captura de insectos por 2 a 3 días. Posteriormente, el material colectado fue guardado en alcohol al 70% y transportado hasta el laboratorio.

El material de cada frasco fue divido en grupos de submuestras así, cada submuestra pudo observarse en el estereomicroscopio para separar los especímenes de interés, del resto de muestras (hormigas, chinches, mosquitos, etc.).

El material de interés es separado en morfotipos e identificado con la literatura disponible y con el apoyo de especialistas.

Resultados obtenidos

Tabla 1. Ubicación geográfica de las trampas para insectos asociados a la polinización del majo

individuo	latitud	longitud
1	-11,044833	-68,8136
2	-11,044796	-68,813252
3	-11,044034	-68,809481
4	-11,044640	-68,809517

Las trampas fueron dispuestas junto a las inflorescencias de las palmeras (figura 3).

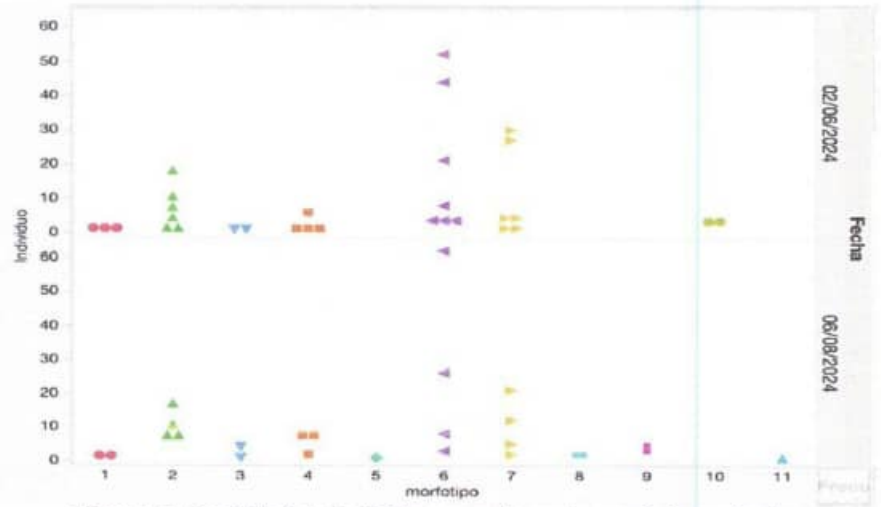


Figura 7. Cantidad de individuos según cada morfotipo y fecha.

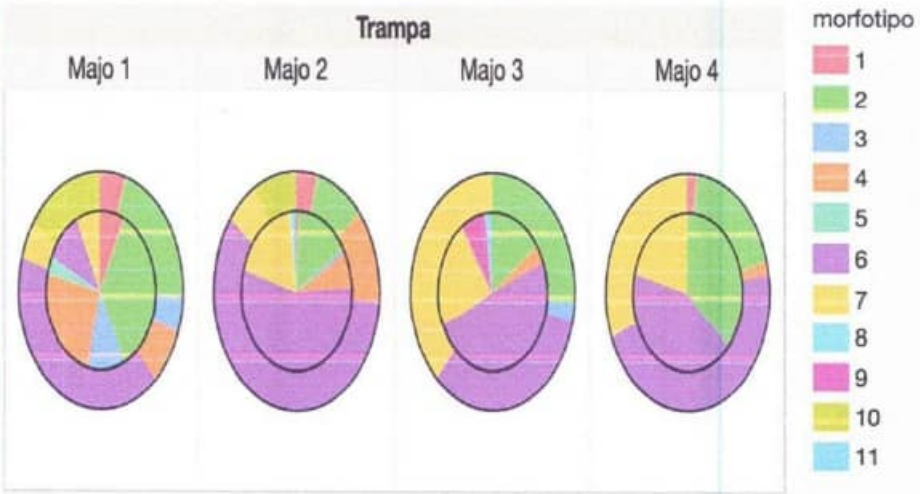


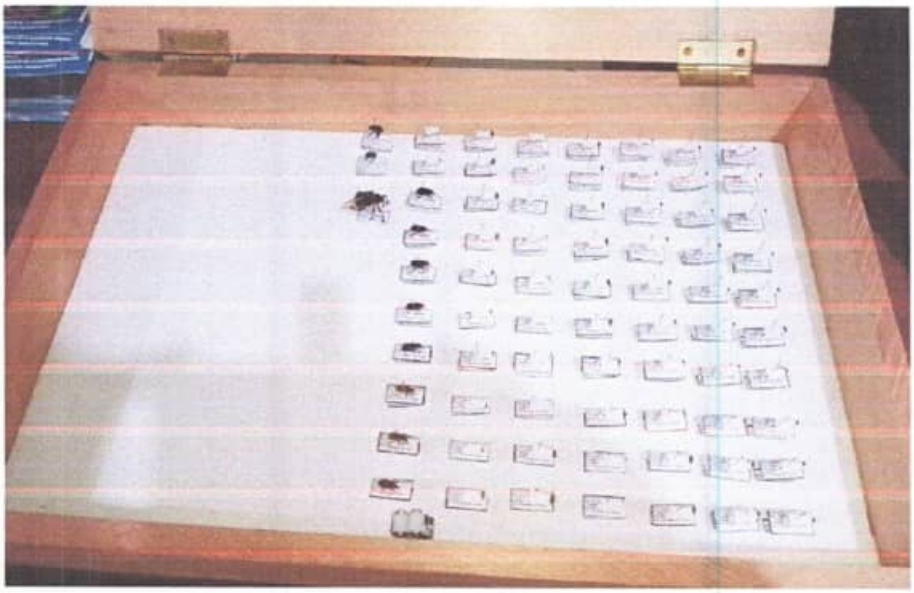
Figura 8. Proporción de cada morfotipo según cada evento de muestreo. La circunferencia menor corresponde a la primera fecha y la circunferencia mayor corresponde a la segunda fecha

Conclusiones y recomendaciones	Se han identificado 11 especies de escarabajos de la familia Curculionidae con posible implicación en la polinización del majo en el Departamento de Pando. Este primer estudio en el departamento, brinda una idea del alcance que es necesario respecto al trabajo entomológico, para tener mayores avances para conocer la biología, la taxonomía, biogeografía, y otros aspectos necesarios para mejorar la toma de decisiones que repercutan

	en evitar, mantener y aumentar la productividad de esta especie promisoria. Se recomienda que los trabajos de campo futuros, deben ajustarse a un procedimiento enfocado al análisis de los polinizadoras no solo respecto a la fenología general de la palmera sino también enfocándose a la dinámica intersexual de la palmera (ver sección 3.15.3), pues varios aspectos relacionados a la biología floral, las fases flores y la morfología floral respecto a los polinizadores, permiten corroborar o descartar la real magnitud del aporte a la polinización de cada tipo de insecto. También se recomienda considerar que al menos 2 morfotipos, el morfotipo 9 y 11, Metamasius y *Homalinotus* respectivamente, en realidad pueden tener poca relación con la polinización del majo y por el contrario, representan especies que deben ser monitoreadas pues han sido asociadas a daños en otras plantas de interés.
Bibliografía y/o páginas web consultadas	Aguirre A Dirzo REffects of fragmentation on pollinator abundance and fruit set of an abundant understory palm in a Mexican tropical forest, Biological Conservation, 2008, vol. 141 (pg. 375-384) Aizen M Morales CL Morales J.MInvasive mutualists erode native pollination webs, PLoS Biology, 2008, vol. 6 pg. e31 10.1371/journal.pbio.0060031 Anderson AB, The biology of Orbignya martiana (Palmae), a tropical dry forest dominant in Brasil., 1983PhD ThesisUniversity of Florida Anderson AB Overal B Henderson APollination ecology of a forest-dominant palm (Orbignya phalerata Mart.) in Northern Brazil, Biotropica, 1988, vol. 20 (pg. 192-205) Anstett MCAn experimental study of the interaction between the dwarf palm (Chamaerops humilis) and its floral visitor Derelomus chamaeropsis throughout the life cycle of the weevil, Acta Oecologica, 1999, vol. 20 (pg. 551-558) Ashe JSWheeler Q Blackwell MMajor features in the evolution of relationships between gyrophaenine staphylinid beetles (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae) and fresh mushrooms, Fungus insect relationships; perspectives in ecology and evolution., 1984New YorkColumbia University Press (pg. 227-255) Ashe JSEgg chamber production, egg protection and clutch size among fungivorous beetles of the genus Eumicrota (Coleoptera: Staphylinidae) and their evolutionary implications, Zoological Journal of the Linnean Society, 1987, vol. 90 (pg. 255-273) Askgaard A Stauffer F Hodel DR Barfod ASFloral structure in the Neotropical palm genus Chamaedorea (Arecoideae, Arecaceae), Anales del Jardin Botanico de Madrid, 2008, vol. 65 (pg. 197-210)

	Azuma H Toyota M Asakawa Y Takaso T Tobe HFloral scent chemistry of mangrove plants, Journal of Plant Resources, 2002, vol. 115 (pg. 47-53) Valle H Henderson AThe identity of Ynesa colenda (Palmae), Brittonia, 1987, vol. 39 (pg. 1-6)
RESPONSABLE DE LA INFORMACION	
Nombre de la entidad	Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal – INIAF
Correo electrónico	contacto@iniaf.gob.bo
Teléfono	(591-2) - 22124404 – 2 2124411
Página web	https://www.iniaf.gob.bo/webiniaf/
Dirección	Calle Cañada Strongest, Esquina Otero de la Vega, N° 1573/ Zona San Pedro Centro
Nombre del investigador o responsable de la información	Ing. Gilda Ticona Saravia
Nombre del programa y/o proyecto	Programa: Nacional de apoyo a la producción y recolección de frutos amazónicos (castaña, asai, copoazu y majo) Proyecto: Generación de tecnologías de producción para el aprovechamiento efectivo de los frutos amazónicos (castaña, asai, copoazu y majo)
Fecha de envió	15 de agosto 2024

Memorias fotográficas



Colección de referencia de insectos asociados a la polinización del majo.

Detalle de una muestra de referencia de la colección seca, con las respectivas etiquetas de colecta y etiqueta taxonómica.