

# Acta AGRONOMICA

Volumen 51

Números 3 y 4

2001 - 2002

ISSN 0120 - 2812

- Improvement of *in vitro* induction of androgenesis in Phaseolus beans (*P. vulgaris* L. and *P. coccineus* L.).
- Estudio de deterioro de semilla en condiciones controladas de conservación.
- Sanidad vegetal e indicadores bioquímicos de resistencia sistémica a la gota en sistemas de agricultura ecológica y convencional.
- Influencia de sitio, variedad y densidad de siembra en la producción y calidad del forraje de yuca.
- Efecto de cinco manejos agroecológicos de un Andisol (*Typic Dystrandept*) sobre la macrofauna en el municipio de Piendamó, departamento del Cauca.
- Balance hídrico en tres fincas de la cuenca media del río Nima, eco-región andina de Colombia.
- Diseño, construcción y evaluación de un equipo renovador de praderas para tracción animal.
- Strategies for the development of antibiotic-free diets for piglets.



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

Sede Palmira



# Estudio de deterioro de semilla en condiciones controladas de conservación

C. I. Cardozo<sup>1</sup>\*, Y. López<sup>2</sup>, C. Guevara<sup>3</sup>

El objetivo del trabajo fue estudiar el comportamiento en el almacenamiento de semillas de *Arachis pintoi*, *Phaseolus vulgaris* y *Cucurbita moschata*. Las semillas se colocaron en bolsas de muselina dentro de recipientes sellados que contenían soluciones de  $H_2SO_4$  que permitieron cuatro valores de humedad relativa (HR). Los recipientes se incubaron a 20 y 35°C durante cuatro semanas hasta alcanzar el equilibrio y se les determinó su contenido de humedad (CH). Las semillas se almacenaron a -20°C en bolsas de aluminio y a 10°C en bolsas de aluminio y tarros plásticos durante un período de 24 meses. Después de 24 meses de almacenamiento, en su mayoría, las semillas incrementaron el CH y la germinación se redujo significativamente con diferencias entre especies y tipos de conservación. El rango de CH al cual las semillas alcanzaron su mayor longevidad varió entre especies y ambientes de conservación, desde 6.91 – 7.39% para *C. moschata*; 5.99 – 6.41% para *A. pintoi*; 4.53 – 5.95% para *P. vulgaris* var. Sangreoro y 6.61 – 6.86% para *P. vulgaris* var. Cauayá para las semillas equilibradas a 35°C y 20°C, respectivamente. Se concluye que existe un CH óptimo para cada especie, el cual cambia con el ambiente de conservación.

**Palabras claves:** conservación, deterioro, *Arachis pintoi*, *Phaseolus vulgaris*, *Cucurbita moschata*, humedad relativa, semilla, contenido de humedad, germinación, almacenamiento.

## ABSTRACT

The purpose of this research was to study the storage behaviour of *Arachis pintoi*, *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita moschata* seeds. Seeds were enclosed within muslin bags, and suspended in sealed containers over dilute solutions of sulfuric acid ( $H_2SO_4$ ) that maintained 4 RHs. The containers were incubated at 20°C and 35°C for 4 weeks; then they were evaluated for seed moisture. The seeds were stored at -20°C in aluminum bags and 10°C in aluminum bags and plastic bottles for a period of 24 months. The level of deterioration of seeds was measured periodically by assaying changes in the percentage germination and in the humidity content. After 24 months of storage the seeds increased the water content and the final germination were significantly reduced in all storage conditions with differences between species. The range of water contents that gave maximum longevity varied between species and the storage conditions, from 6.91 – 7.39% for *C. moschata*; 5.99 – 6.41% for *A. pintoi*; 4.53 – 5.95% for *P. vulgaris* cv Sangreoro and 6.61 – 6.86% for *P. vulgaris* cv. Cauayá for seeds that were equilibrated at 35°C and 20°C, respectively. It is concluded that there is an optimum water content for seed but it change with storage conditions.

**Keywords:** conservation, deterioration, *Arachis pintoi*, *Phaseolus vulgaris*, *Cucurbita moschata*, relative humidity, seed, water content, germination, storage.

## INTRODUCCIÓN

La conservación de germoplasma en bancos de semillas requiere técnicas que prolonguen la longevidad y conserven la calidad de las semillas. Esta calidad depende tanto de contribuciones genéticas como de condiciones ambientales durante la madurez, de la tecnología de cosecha, de las prácticas de almacenamien-

to y de los procesos de acondicionamiento de las semillas. Cualquier tratamiento adverso puede resultar en disminución de la calidad e incremento del deterioro (McDonald, 1999).

Los problemas de deterioro son más importantes en regiones geográficas tropicales y subtropicales que se caracterizan por altas temperaturas y humedades relativas que normalmente prevalecen durante los períodos de maduración y de almacenamiento de la semilla. Es de común aceptación que el contenido de agua de la semilla y la temperatura a la que se almacenen son los factores más importantes que afectan la longevidad de las semillas (Harrington, 1972; Chien y Lin, 1999). Sin

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.

<sup>3</sup> Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia (hasta 2000)

\* Autor para correspondencia, email:cicardozo@palmira.unal.edu.co



embargo, los efectos de los contenidos de humedad extremadamente bajos sobre la longevidad y la posible interacción del contenido de agua y la temperatura se encuentran en controversia (Hu *et al.*, 1998). La existencia de un nivel crítico de contenido de humedad para el almacenamiento de semilla es el punto más importante de debate. El contenido de agua, obtenido por equilibrio de las semillas a 20°C y 10-13% de humedad relativa, es crítico para su longevidad (Ellis *et al.*, 1989, 1990a, 1990b, 1991, 1995). A contenidos de agua superiores al valor crítico, la longevidad es función logarítmica del contenido de agua (Ellis y Roberts, 1980; Ellis *et al.*, 1986). A contenidos de agua inferiores al nivel crítico, la longevidad se afecta. Se han registrado efectos adversos en semillas secadas a muy bajos contenidos de agua, que sugieren un contenido de humedad óptimo para la conservación que puede ser obtenido con una humedad relativa entre 19 y 27% a la temperatura de almacenamiento (Vertucci y Roos, 1990).

Las normas recomendadas internacionalmente postulan que las semillas ortodoxas se deben secar a  $5 \pm 2\%$  de humedad antes del almacenamiento. Sin embargo, los experimentos con diferentes especies han mostrado que la longevidad se puede mejorar si las semillas se secan a niveles inferiores (Ellis 1988, Ellis *et al.*, 1989, 1990a, 1995). Debido a que el contenido de agua en la semilla aumenta cuando la humedad relativa aumenta y disminuye con la temperatura, Ellis (1998) y Walters (1998) proponen que el contenido óptimo para almacenar la semilla debe incrementarse al disminuir la temperatura de conservación. Sin embargo, aunque el contenido de agua puede cambiar según la temperatura de conservación, el efecto es mínimo y no hay evidencia del efecto de la temperatura en semillas de girasol y lechuga (Ellis *et al.*, 1995). Por otro lado, se ha reconocido la importancia de las propiedades del agua, como agua de composición, actividad y potencial hídrico como factores que rigen los mecanismos y cinética del deterioro en las semillas (Leopold y Vertucci, 1989; Roberts y Ellis, 1989; Vertucci y Roos, 1990; Walters, 1998).

Los estudios para determinar condiciones óptimas de almacenamiento presentan dificultades debido a que se requieren años de acumulación de datos experimentales. Por tal razón los investigadores realizan estudios en condiciones extremas de alta temperatura 65°C (Ellis *et al.*, 1989, 1990a, 1990b) y HR diferentes de las óptimas y luego las extrapolan para la construcción de los modelos. Según Walters (1998) no se conoce el contenido de agua óptimo o crítico para almacenamiento a

25°C o menos. Esto se debe a que los estudios a 20-25°C se han iniciado recientemente y estudios a más bajas temperaturas prácticamente no existen.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar, en condiciones controladas de conservación, la dinámica del deterioro de semilla de *Arachis pintoi*, *Phaseolus vulgaris* y *Cucurbita moschata*. Confirmar la existencia de un contenido de agua crítico en las semillas y determinar si este contenido crítico cambia con la temperatura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies estudiadas fueron *Cucurbita moschata* cv Bolo verde, *Arachis pintoi* cv Maní forrajero perenne, *Phaseolus vulgaris*, variedades Cauca y Sangre de toro, representantes de tamaño de semilla normal y mediano (41.9 y 27.8 g/100 semillas) respectivamente.

Se utilizaron ocho desecadores de vidrio con tapa, dentro de los cuales se colocaron soluciones de ácido sulfúrico (Hall, 1957) a una concentración por peso del ácido de 20, 40, 60 y 80%. Se colocaron cuatro desecadores a 20°C y los restantes a 35°C. Estas combinaciones generaron diferentes valores de humedad relativa (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Humedades relativas según temperatura y concentración de  $H_2SO_4$  por peso en la solución.**

Temperatura (°C)	Ácido por peso (%)			
	20	40	60	80
20	87.4	56.7	16.3	4.76
35	87.4	56.6	17.0	5.75

Dentro de cada desecador y sobre rejillas de porcelana se colocaron las semillas repartidas en cuatro repeticiones de peso conocido, en empaques de mueslina. Se determinó el contenido de humedad inicial (en base húmeda) de las semillas. Posteriormente se realizaron cuatro determinaciones del peso fresco de la semilla, tiempo en que alcanzaron el contenido de humedad en equilibrio (CHE), y en cada caso se estimó el contenido de humedad de la semilla, mediante la ecuación de Hong & Ellis (1996):

$$(100 - H_i) \times P_i = (100 - H_f) \times P_f$$

donde:

$H_i$  y  $H_f$  = humedad inicial y humedad final respectivamente.

$P_i$  y  $P_f$  = peso inicial y peso final respectivamente.

Con las semillas con CHE en cada ambiente de HR se



realizó una prueba de germinación para caracterizar la calidad fisiológica inicial y posteriormente se distribuyeron a los ambientes de conservación: (1) cuarto de conservación con ambiente controlado a 10°C y 20% de HR y (2) cuarto de conservación con ambiente controlado a -20°C. Los empaques utilizados fueron tarro plástico con aire y bolsa de aluminio sin aire en (1) y bolsa de aluminio sin aire en (2). Cada seis meses y durante 24 meses se realizaron evaluaciones. En cada evaluación y por cada tratamiento se determinó: Humedad en base húmeda (% bh) de las semillas, con molido por el método de la estufa a 130°C durante una hora; Germinación (%), con base en tres repeticiones de 30 semillas envueltas en rollos de papel Anchor, dentro de bolsas plásticas en germinador con temperatura alterna 20°C - 30°C (ISTA, 1999).

El diseño experimental utilizado fue el de completamente al azar, con pruebas de Duncan para separación de medias de tratamientos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido de humedad en equilibrio (CHE) pre almacenamiento

Entre las variedades de *Phaseolus*, Caucaýá alcanzó los mayores CHE en cada uno de los ambientes de HR, independientemente de la temperatura (Cuadro 2). En los valores de CHE en cada ambiente de HR influyó la temperatura y se observó mayor capacidad de desecación a 35°C, en los ambientes de 56.6 - 17 y 5.75 % de HR. Sin embargo, para los ambientes de HR de 87.4% las diferentes especies alcanzaron un mayor CHE a 35°C; fue mayor el de la variedad Caucaýá.

El rango de absorción de agua varió entre las especies y dentro de los dos materiales de la misma especie de *Phaseolus*. Las semillas con altos niveles de lípidos, *C. moschata* y *A. pinto*i absorbieron menos agua, resultados similares a los obtenidos por Vertucci y Roos (1990). Con base en lo anterior, se deben tener en cuenta las diferencias en la composición de lípidos

si las semillas se equilibran a HR específicas (Ellis *et al.*, 1989; Vertucci y Roos, 1990).

### Dinámica de humedad en almacenamiento

En el caso de *C. moschata* las mayores ganancias de humedad se alcanzaron en las semillas equilibradas a 35°C. Con respecto al empaque, el tarro plástico con aire presentó las mayores ganancias en las semillas que iniciaron el almacenamiento con el contenido de humedad más bajo (Cuadro 3). Sin embargo, el empaque de bolsa de aluminio sin aire a -20°C también registró ganancias en un rango de 0.13 - 1.6% (Cuadro 4). Las semillas equilibradas a 87.4% de HR, que tenían los contenidos de humedad más altos al inicio del ensayo, registraron menores alteraciones en la humedad durante el almacenamiento, independientemente del empaque utilizado.

En ambos ambientes, y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *A. pinto*i ganaron significativamente humedad durante los primeros seis meses (Cuadro 3). Al final del período de evaluación se puede observar que para los niveles de mayor contenido de humedad en las semillas (CHE a 87.4% HR), en empaques bolsa de aluminio sin aire y tarro plástico con aire, las semillas perdieron 0.28 y 0.38% respectivamente (Cuadro 4). Esto indica que la HR en el interior de los empaques con semillas alrededor de 8.4% de humedad, promovió un CHE promedio cercano a 8%. Las mayores ganancias, 2.05 y 2.9%, estuvieron asociadas con las semillas cuyo almacenamiento se inició con los niveles más bajos de humedad y fueron equilibradas en las HR más bajas a 20°C y 35°C, respectivamente.

Los dos materiales de fríjol mostraron comportamientos particulares que pueden estar asociados con el tamaño de la semilla (41.9 g/100 semillas de Caucaýá y 27.8 g/100 semillas de Sangretero) y con diferencias en la permeabilidad de la testa según se estableció en

Cuadro 2. Valores de CHE (% bh) de las semillas de las variedades a las cuatro semanas.

Temp. (°C)	HR (%)	<i>A. pinto</i> Maní forrajero	<i>C. moschata</i> Bolo verde	<i>P. vulgaris</i> Sangretero	<i>P. vulgaris</i> Caucaýá
35	87.4	11.7422 a*	12.4961 a	19.1942 a	23.9264 a
35	56.6	5.9904 b	6.9179 b	8.4070 b	9.4358 b
35	17	4.4164 c	5.4662 c	5.8467 c	6.6192 c
35	5.75	3.7352 d	4.8022 d	4.5365 d	5.7816 d
20	87.4	8.3923 a	9.5545 a	14.3197 a	14.6160 a
20	56.7	6.4177 b	7.3952 b	8.6902 b	9.5894 b
20	16.3	5.0117 c	6.1911 c	6.4831 c	7.4366 c
20	4.75	4.2745 d	5.5976 d	5.9530 d	6.8689 d

\* promedios en la misma columna en la misma temperatura con distinta letra difieren significativamente (P<0.01)



**Cuadro 3. Contenido de humedad de las semillas de los cuatro materiales a través del tiempo como promedio de las temperaturas y HR de equilibrio.**

Especie	Tiempo (meses)	Tipo de empaque y ambiente de conservación*			Promedio
		b 20	b 10	tp 10	
<i>C. moschata</i>	6	6.49	6.45	6.70	6.55 b **
	12	7.18	7.22	7.46	7.29 a
	18	6.49	6.69	7.60	6.92 c
	24	6.58	6.88	7.35	6.92 c
		Promedio 6.69 c	6.80 b	7.28 a	
<i>A. pintoi</i>	6	6.05	5.96	6.26	6.09 c **
	12	6.63	6.21	7.08	6.64 a
	18	6.15	6.06	7.00	6.40 b
	24	6.35	6.45	6.94	6.55 a
		Promedio 6.29 b	6.17 c	6.80 a	
<i>P. vulgaris</i> var. Cauayá	6	8.72	8.86	9.34	8.97 c **
	12	9.11	9.53	10.06	9.56 a
	18	8.93	8.19	9.49	8.87 d
	24	9.09	8.70	9.98	9.25 b
		Promedio 8.96 b	8.82 c	9.70 a	
<i>P. vulgaris</i> var. Sangreoro	6	8.89	9.04	9.71	9.21 c **
	12	9.51	9.74	10.69	9.96 a
	18	9.12	8.33	9.86	9.10 d
	24	9.34	8.84	10.36	9.51 b
		Promedio 9.21 b	8.99 c	10.14 a	

\* b -20; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación -20°C.

b 10; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación a 10°C y 20% HR.

tp 10; tarro plástico con aire y ambiente de conservación a 10°C y 20% HR.

\*\*promedios con letra diferente difieren significativamente al nivel de  $P \leq 0.01$ .

**Cuadro 4. Porcentajes de humedad ganados o perdidos (-) en el intervalo de 24 meses de evaluación (humedad final - inicial) en los diferentes empaques y ambientes de conservación.**

Empaque*		Semilla equilibrada a 20°C y HR				Semilla equilibrada a 35°C y HR		
Ambiente		4.75%	16.30%	56.70%	87.40%	5.75%	17.00%	56.60%
<i>C.moschata</i> Bolo verde	b-20	1.6	1.48	0.87	0.13	1.46	1.53	0.81
	b 10	2.12	1.53	0.96	0.67	1.76	1.64	0.99
	tp 10	2.85	2.12	0.88	0	3.04	2.98	1.35
<i>A.pintoi</i> Maní forrajero	b-20	1.09	0.86	0.69	-0.28	1.23	1.06	0.46
	b 10	1.29	1.2	0.71	0.19	1.71	1.43	0.43
	tp 10	2.05	1.74	0.95	-0.38	2.9	2.4	1.04
<i>P.vulgaris</i> Cauayá	b-20	0.93	0.83	0.4	-1.27	0.88	0.95	0.61
	b 10	0.56	0.35	-0.09	-2.23	0.85	0.78	0.44
	tp 10	2.49	2.06	0.67	-2.17	2.67	2.72	1.03
<i>P.vulgaris</i> Sangreoro	b-20	1.82	2.79	1.47	0.19	2.4	1.87	1.74
	b 10	1.43	1.26	0.96	-1.47	2.2	1.71	1.58
	tp 10	3.83	4.1	1.85	-1.71	4.73	3.28	2.24

\* b -20; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación -20°C.

b 10; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación a 10°C y 20% HR.

tp 10; tarro plástico con aire y ambiente de conservación a 10°C y 20% HR.

ensayos preliminares de imbibición. Con excepción de la semilla equilibrada a 87.4% de HR, en ambos ambientes y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *P. vulgaris* var. Cauayá ganaron significativamente humedad durante los primeros seis meses (Cuadro 3). El comportamiento fue similar al presentado por las semillas de *A. pintoi*, sólo que, debido a que es una semilla rica en proteínas, el CHE fue mayor

para todas las combinaciones de HR (Cuadro 4). En bolsa de aluminio sin aire y tarro plástico con aire, las semillas perdieron 2.23 y 2.17% de humedad, respectivamente (Cuadro 4). En el empaque de aluminio sin aire a -20°C las semillas perdieron en promedio 1.27%. Esto indica que la HR en el interior de los empaques disminuye por efecto de la reducción de la temperatura en los ambientes de conservación (10 y -20°C), y por



lo tanto semillas con alrededor de 14.6% de humedad alcanzaron un nuevo CHE promedio, cercano a 12.4%. Las mayores ganancias (2.49 y 2.72%) estuvieron asociadas con las semillas en tarro plástico con aire, que iniciaron el almacenamiento con niveles bajos de humedad y que fueron equilibradas en 4.75% de HR a 20°C y 17% de HR a 35°C. En estos casos, el CHE al final del tiempo de conservación varió entre 9.35 y 9.33% en tarro plástico con aire a 10°C. Es interesante destacar que los cambios en la humedad fueron perceptibles aun en los empaques de aluminio sin aire. Dichos cambios pueden afectar la dinámica del deterioro de las semillas en los diferentes ambientes de conservación, pues pueden afectar las tasas de respiración de éstas (Vertucci y Roos, 1990). Estos resultados permiten visualizar lo que ocurre cuando cambia la temperatura: si un sistema en equilibrio se perturba (cambio de temperatura), el sistema cambiará para restablecer el equilibrio (Smith, 1992).

Con excepción de la semilla equilibrada a 87.4% de HR, en ambos ambientes y en los diferentes empaques, las semillas de *P. vulgaris* var. Sangreoro registraron aumento significativo de humedad durante los primeros seis meses, con una tendencia a disminuir a los 24 meses de conservación (Cuadro 3).

Para los niveles de mayor contenido de humedad en las semillas (CHE a 87.4% HR y 20°C), las semillas sólo ganaron humedad en bolsa de aluminio sin aire a -20°C. En bolsa de aluminio sin aire y tarro plástico con aire a 10°C, las semillas perdieron 1.47 y 1.71% respectivamente (Cuadro 4). Esto indica que la HR en el interior de los empaques con semillas alrededor de 14.3% de humedad, promovió un CHE promedio cercano a 12.6%. Las mayores ganancias (3.83, 4.1 y 4.73, 3.28%) estuvieron asociadas con las semillas en tarro plástico con aire, que iniciaron el almacenamiento con niveles bajos de humedad y que fueron equilibradas en las HR de 4.75% y 16.3% a 20°C y en HR de 5.75 y 17% y 35°C (Cuadro 4).

Un análisis global de los resultados obtenidos durante esta fase de la investigación indica que la dinámica del agua en las semillas es función de la especie, del contenido de agua inicial, la HR y la temperatura a las que se alcanza dicha humedad y de los empaques y ambientes de conservación. En tal sentido se debe tener en cuenta que experimentos en un gran número de especies han mostrado que la longevidad de las semillas puede ser afectada negativamente si se secan por debajo de un valor crítico (Ellis, 1988, Ellis *et al.*, 1995, Vertucci y Roos, 1990).

La HR y la temperatura de cada ambiente de conservación definen un contenido de humedad crítico para cada especie. En consecuencia, el contenido de humedad recomendado por FAO / IPGRI (1994) sólo constituye una guía, ya que cada especie es un caso particular en el cual la constitución química de las semillas, el tamaño y la permeabilidad de la testa deben ser considerados para determinar el contenido de humedad apropiado para su conservación.

### *Dinámica de la germinación en almacenamiento*

En ambos ambientes y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *C. moschata* perdieron significativamente germinación durante los 24 meses (Cuadro 5). Las semillas que fueron equilibradas a 35°C presentaron germinación significativamente mayor que las equilibradas a 20°C (Figura 1).

Las semillas de *Cucurbita* en bolsa de aluminio sin aire almacenadas a -20°C presentaron en promedio menor germinación (61.9%) y fue significativamente inferior a bolsa de aluminio sin aire almacenadas a 10°C (66.7%) y tarro plástico con aire almacenadas a 10°C (69.7%) (Cuadro 5).

Este comportamiento tuvo relación con la humedad de la semilla (Cuadro 4). En el empaque tarro plástico, las semillas que alcanzaron los CHE más bajos, 4.8% y 5.59%, logrados a 5.75% de HR a 35°C y 4.75% de HR a 20°C respectivamente, presentaron significativamente menor deterioro. En contraste, en las semillas almacenadas a -20°C en bolsa de aluminio, las que presentaron significativamente menor deterioro fueron las semillas que alcanzaron sus CHE a 56% de HR (6.91% a 35°C y 7.39% a 20°C). Este comportamiento permite visualizar el concepto de contenidos de humedad críticos de la semilla para cada ambiente de conservación (Vertucci y Roos, 1990). Resultados similares fueron encontrados por Ellis *et al.* (1995) en semillas de *Lactuca sativa* y *Helianthus annuus* con almacenamiento hermético a 35°C que habían alcanzado su CHE a 8-10% de HR a 20°C; semillas con contenidos de humedad superiores o inferiores presentaron efectos negativos en germinación.

En ambos ambientes y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *A. pintoi* no perdieron significativamente germinación entre los 6 y los 24 meses (Cuadro 5). Las semillas equilibradas a 35°C presentaron una germinación significativamente menor que las equilibradas a 20°C (Figura 2).

Las semillas equilibradas a 87.3% y 56.6% de HR presentaron los valores mayores de germinación, 60.7



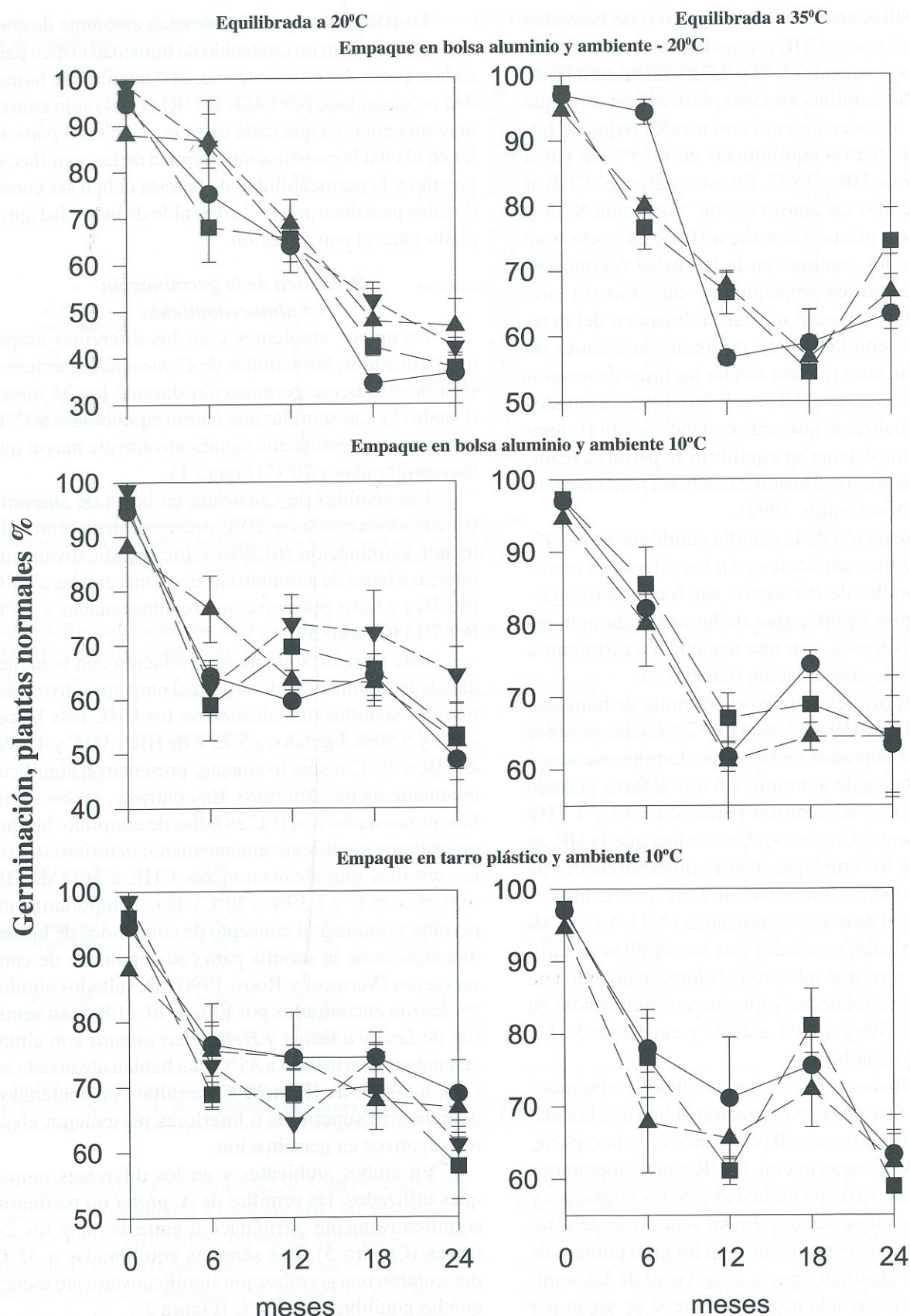


Figura 1. Germinación (plantas normales) de las semillas de *C. moschata*, Bolo verde con semillas equilibradas a 20° C y 35° C y humedad relativa: 4.75 y 5.75% (círculos); 16.3 y 17% (cuadros); 56.6 y 56.7% (triángulos invertidos) I = desviación estándar.



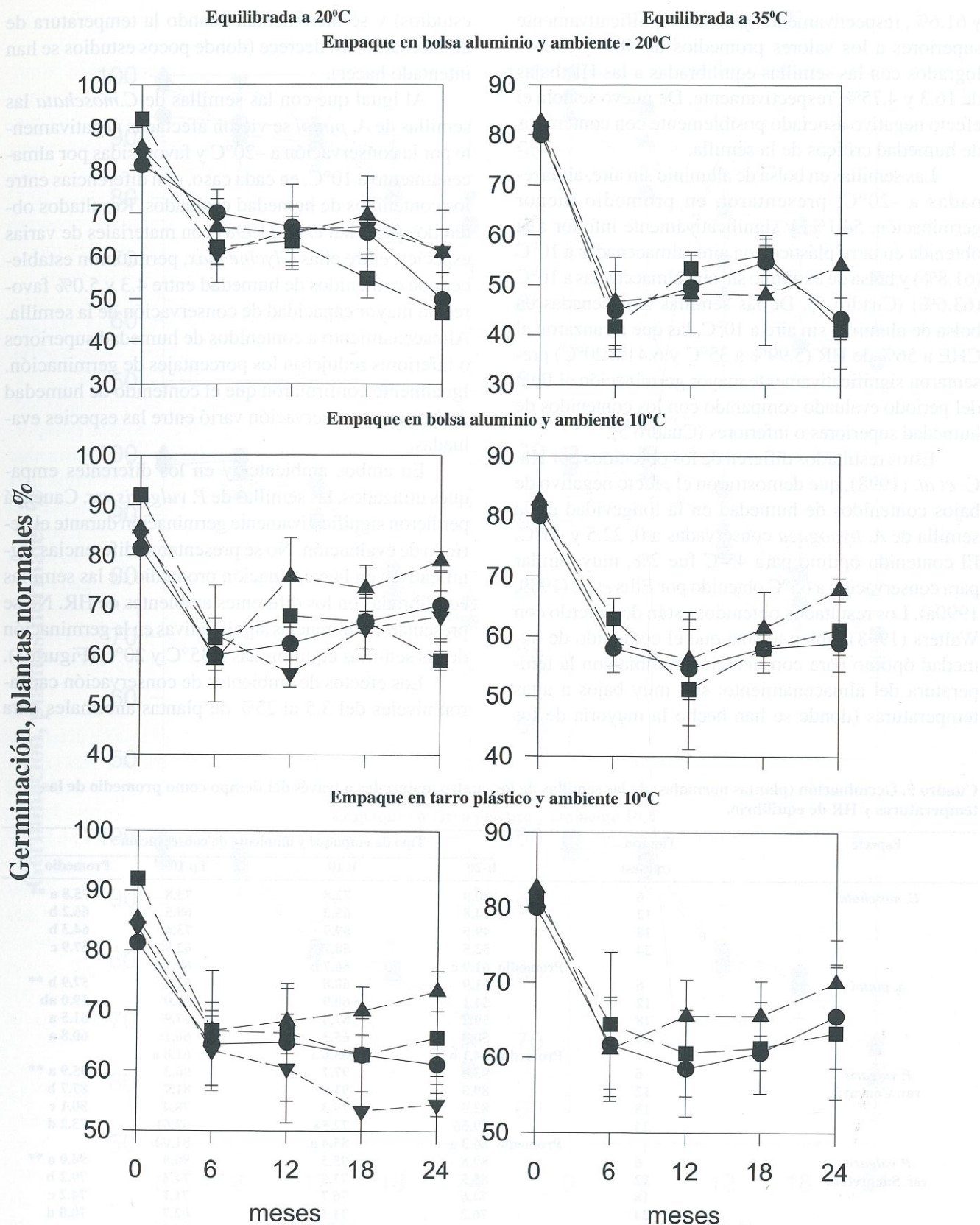


Figura 2. Germinación (plantas normales) de las semillas de *A. pinto*, Maní forrajero con semillas equilibradas a 20°C y 35°C y humedad relativa: 4.75 y 5.75% (círculos); 16.3 y 17% (cuadros); 56.6 y 56.7 (triángulos) y 87.4% (triángulo invertido). I = desviación estándar.



y 61.6%, respectivamente, y fueron significativamente superiores a los valores promedios de 58.7 y 58.6% logrados con las semillas equilibradas a las HR bajas de 16.3 y 4.75%, respectivamente. De nuevo se nota el efecto negativo asociado posiblemente con contenidos de humedad críticos de la semilla.

Las semillas en bolsa de aluminio sin aire, almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , presentaron en promedio menor germinación, 54.1%, y significativamente inferior a la obtenida en tarro plástico con aire, almacenadas a  $10^{\circ}\text{C}$  (61.8%) y bolsa de aluminio sin aire almacenadas a  $10^{\circ}\text{C}$  (63.6%) (Cuadro 5). De las semillas almacenadas en bolsa de aluminio sin aire a  $10^{\circ}\text{C}$ , las que alcanzaron el CHE a 56% de HR (5.99% a  $35^{\circ}\text{C}$  y 6.41 a  $20^{\circ}\text{C}$ ) presentaron significativamente mayor germinación al final del período evaluado comparado con los contenidos de humedad superiores o inferiores (Cuadro 5).

Estos resultados difieren de los obtenidos por Hu, C. *et al.* (1998), que demostraron el efecto negativo de bajos contenidos de humedad en la longevidad de la semilla de *A. hypogaea* conservadas a 0, 22.5 y  $45^{\circ}\text{C}$ . El contenido óptimo para  $45^{\circ}\text{C}$  fue 2%, muy similar para conservación a  $65^{\circ}\text{C}$  obtenido por Ellis *et al.* (1989, 1990a). Los resultados obtenidos están de acuerdo con Walters (1998), quien afirma que el contenido de humedad óptimo para conservación cambia con la temperatura del almacenamiento: son muy bajos a altas temperaturas (donde se han hecho la mayoría de los

estudios) y se incrementan cuando la temperatura de almacenamiento decrece (donde pocos estudios se han intentado hacer).

Al igual que con las semillas de *C. moschata* las semillas de *A. pinto* se vieron afectadas negativamente por la conservación a  $-20^{\circ}\text{C}$  y favorecidas por almacenamiento a  $10^{\circ}\text{C}$ , en cada caso, con diferencias entre los contenidos de humedad evaluados. Resultados obtenidos por Chai *et al.* (1998) con materiales de varias especies, entre ellas *Glycine max*, permitieron establecer que contenidos de humedad entre 4.3 y 5.0% favorecerían mayor capacidad de conservación de la semilla. Almacenamiento a contenidos de humedad superiores o inferiores redujeron los porcentajes de germinación. Igualmente confirmaron que el contenido de humedad óptimo para conservación varió entre las especies evaluadas.

En ambos ambientes y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *P. vulgaris* var. Caucayá perdieron significativamente germinación durante el período de evaluación. No se presentaron diferencias significativas en la germinación promedio de las semillas equilibradas en los diferentes ambientes de HR. No se presentaron diferencias significativas en la germinación de las semillas equilibradas a  $35^{\circ}\text{C}$  y  $20^{\circ}\text{C}$  (Figura 3).

Los efectos de ambientes de conservación causaron niveles del 3.5 al 25% de plantas anormales para

**Cuadro 5. Germinación (plantas normales) de las semillas de los cuatro materiales a través del tiempo como promedio de las temperaturas y HR de equilibrio.**

Especie	Tiempo (meses)	Tipo de empaque y ambiente de conservación*			
		b-20	b 10	tp 10	Promedio
<i>C. moschata</i>	6	80.9	72.8	73.8	75.8 a **
	12	64.8	65.2	68.5	66.2 b
	18	49.5	69.9	73.6	64.3 b
	24	52.5	58.7	62.9	57.9 c
	Promedio	61.9 c	66.7 b	69.7 a	
<i>A. pinto</i>	6	51.9	60.8	61.2	57.9 b **
	12	54.1	60.9	62.0	59.0 ab
	18	59.2	67.4	57.9	61.5 a
	24	50.9	65.3	66.1	60.8 a
	Promedio	54.1 b	63.6 a	61.8 a	
<i>P. vulgaris</i> var. Caucayá	6	93.8	97.7	96.3	95.9 a **
	12	89.3	91.9	81.7	87.7 b
	18	82.5	79.3	78.4	80.1 c
	24	79.56	72.54	67.61	73.2 d
	Promedio	86.3 a	85.4 a	81.0 b	
<i>P. vulgaris</i> var. Sangreoro	6	89.8	95.3	96.8	94.0 a **
	12	85.5	77.5	74.4	79.2 b
	18	74.6	76.7	71.1	74.2 c
	24	76.2	71.1	62.7	70.0 d
	Promedio	81.5 a	80.2 a	76.3 b	

\* b -20; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación  $-20^{\circ}\text{C}$ .

b 10; bolsa de aluminio sin aire y ambiente de conservación a  $10^{\circ}\text{C}$  y 20% HR.

tp 10; tarro plástico con aire y ambiente de conservación a  $10^{\circ}\text{C}$  y 20% HR.

\*\*promedios con letra distinta difieren significativamente al nivel de  $P \leq 0.01$ .



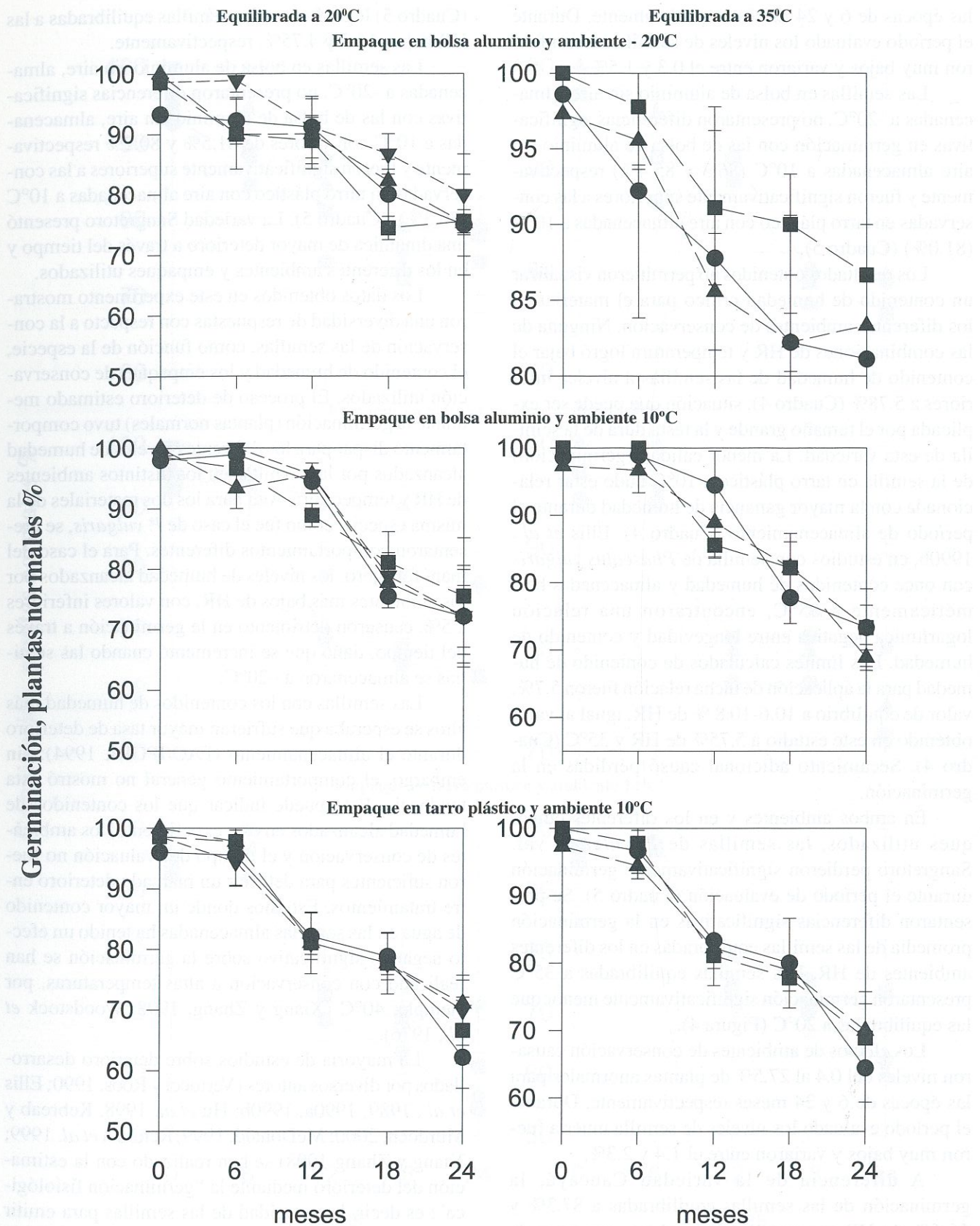


Figura 3. Germinación (plantas normales) de las semillas de *P. vulgaris*, Cauca yá con semillas equilibradas a 20°C y 35°C y humedad relativa: 4.75 y 5.75% (círculos); 16.3 y 17% (cuadros); 56.6 y 56.7 (triángulos) y 87.4% (triángulo invertido). I = desviación estándar.



las épocas de 6 y 24 meses respectivamente. Durante el período evaluado los niveles de semilla muerta fueron muy bajos y variaron entre el 0.3 y 1.5%.

Las semillas en bolsa de aluminio sin aire, almacenadas a -20°C, no presentaron diferencias significativas en germinación con las de bolsa de aluminio sin aire almacenadas a 10°C (86.3 y 85.4%) respectivamente y fueron significativamente superiores a las conservadas en tarro plástico con aire almacenadas a 10°C (81.0%) (Cuadro 5).

Los resultados obtenidos no permitieron visualizar un contenido de humedad crítico para el material en los diferentes ambientes de conservación. Ninguna de las combinaciones de HR y temperatura logró bajar el contenido de humedad de las semillas a niveles inferiores a 5.78% (Cuadro 4), situación que puede ser explicada por el tamaño grande y la testa dura de la semilla de esta variedad. La menor calidad (germinación) de la semilla en tarro plástico a 10°C pudo estar relacionada con la mayor ganancia de humedad durante el período de almacenamiento (Cuadro 4). Ellis *et al.*, 1990b, en estudios con semilla de *Phaseolus vulgaris* con once contenidos de humedad y almacenadas herméticamente a 65°C, encontraron una relación logarítmica negativa entre longevidad y contenido de humedad. Los límites calculados de contenido de humedad para la aplicación de dicha relación fueron 5.7%, valor de equilibrio a 10.6-10.8 % de HR, igual al valor obtenido en este estudio a 5.75% de HR y 35°C (Cuadro 4). Secamiento adicional causó pérdidas en la germinación.

En ambos ambientes y en los diferentes empaques utilizados, las semillas de *P. vulgaris* var. Sangreoro perdieron significativamente germinación durante el período de evaluación (Cuadro 5). Se presentaron diferencias significativas en la germinación promedio de las semillas equilibradas en los diferentes ambientes de HR. Las semillas equilibradas a 35°C presentaron germinación significativamente menor que las equilibradas a 20°C (Figura 4).

Los efectos de ambientes de conservación causaron niveles del 0.4 al 27.5% de plantas anormales para las épocas de 6 y 24 meses respectivamente. Durante el período evaluado los niveles de semilla muerta fueron muy bajos y variaron entre el 1.4 y 2.3%.

A diferencia de la variedad Caucayá, la germinación de las semillas equilibradas a 87.3% y 56.6% de HR presentaron los valores mayores de germinación: 82.1 y 81.7%, respectivamente, y fueron superiores a los valores promedios de 78.5 y 76.4%

(Cuadro 5) logrados con las semillas equilibradas a las HR bajas, 16.3 y 4.75%, respectivamente.

Las semillas en bolsa de aluminio sin aire, almacenadas a -20°C, no presentaron diferencias significativas con las de bolsa de aluminio sin aire, almacenadas a 10°C con valores de 81.5% y 80.2% respectivamente y fueron significativamente superiores a las conservadas en tarro plástico con aire almacenadas a 10°C (76.3%). (Cuadro 5). La variedad Sangreoro presentó una dinámica de mayor deterioro a través del tiempo y en los diferentes ambientes y empaques utilizados.

Los datos obtenidos en este experimento mostraron una diversidad de respuestas con respecto a la conservación de las semillas, como función de la especie, el contenido de humedad y los empaques de conservación utilizados. El proceso de deterioro estimado mediante la germinación (plantas normales) tuvo comportamiento dispar para los diferentes niveles de humedad alcanzados por las semillas en los distintos ambientes de HR y temperatura. Aun para los dos materiales de la misma especie, como fue el caso de *P. vulgaris*, se presentaron comportamientos diferentes. Para el caso del maní forrajero, los niveles de humedad alcanzados por los ambientes más bajos de HR, con valores inferiores a 5%, causaron detrimento en la germinación a través del tiempo, daño que se incrementó cuando las semillas se almacenaron a -20°C.

Las semillas con los contenidos de humedad más altos se esperaba que sufrieran mayor tasa de deterioro durante el almacenamiento (FAO/IPGRI, 1994); sin embargo, el comportamiento general no mostró esta tendencia. Esto puede indicar que los contenidos de humedad alcanzados en este experimento, los ambientes de conservación y el tiempo de evaluación no fueron suficientes para detectar un marcado deterioro entre tratamientos. Estudios donde un mayor contenido de agua en las semillas almacenadas ha tenido un efecto negativo significativo sobre la germinación se han realizado con conservación a altas temperaturas, por ejemplo, 40°C (Xiang y Zhang, 1998; Woodstock *et al.*, 1976).

La mayoría de estudios sobre deterioro desarrollados por diversos autores (Vertucci y Roos, 1990; Ellis *et al.*, 1989, 1990a, 1990b; Hu *et al.* 1998, Kebreab y Murdoch, 2000; McDonald, 1999, Rehman *et al.* 1999; Xiang y Zhang 1998) se han realizado con la estimación del deterioro mediante la "germinación fisiológica"; es decir, la capacidad de las semillas para emitir radícula. En el presente estudio el deterioro se ha estimado en términos de germinación de plantas normales. La germinación fisiológica tiene el inconveniente



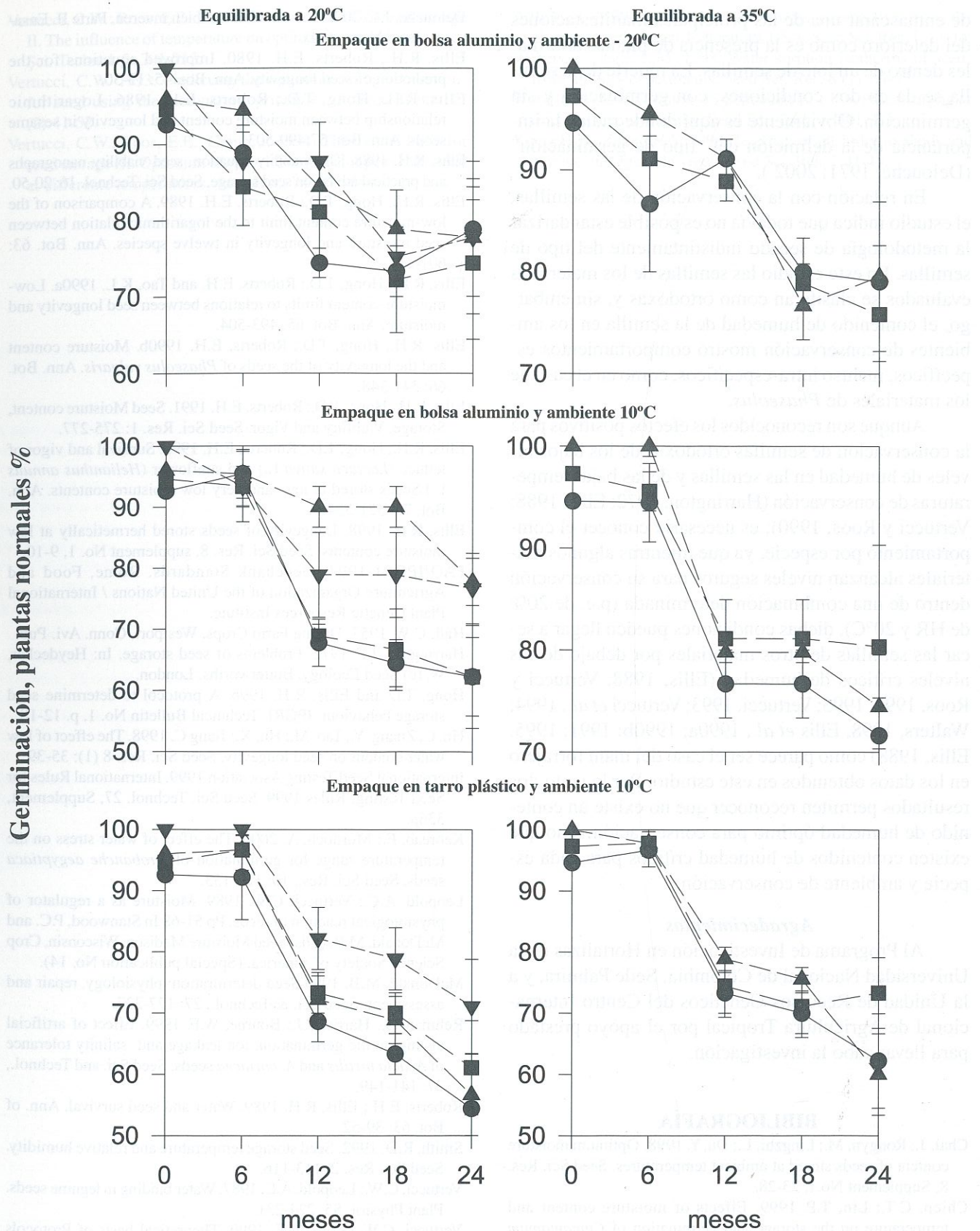


Figura 4. Germinación (plantas normales) de las semillas de *P. vulgaris*, Sangretrero con semillas equilibradas a 20°C y 35°C y humedad relativa: 4.75 y 5.75% (círculos); 16.3 y 17% (cuadros); 56.6 y 56.7 (triángulos) y 87.4% (triángulo invertido). I = desviación estándar.



de enmascarar una de las principales manifestaciones del deterioro como es la presencia de plantas anormales dentro de un lote de semillas. La muerte de la semilla se da en dos condiciones: con germinación y sin germinación. Obviamente es aquí donde radica la importancia de la definición del "tipo de germinación" (Delouche, 1971; 2002 ).

En relación con la conservación de las semillas, el estudio indica que todavía no es posible estandarizar la metodología de secado indistintamente del tipo de semillas. En este estudio las semillas de los materiales evaluados se clasifican como ortodoxas y, sin embargo, el contenido de humedad de la semilla en los ambientes de conservación mostró comportamientos específicos, incluso intra-específicos, como en el caso de los materiales de *Phaseolus*.

Aunque son reconocidos los efectos positivos para la conservación de semillas ortodoxas de los bajos niveles de humedad en las semillas y de las bajas temperaturas de conservación (Harrington, 1972; Ellis, 1988; Vertucci y Roos, 1990); es necesario conocer el comportamiento por especie, ya que mientras algunos materiales alcanzan niveles seguros para su conservación dentro de una combinación determinada (p.e. de 20% de HR y 20°C), dichas condiciones pueden llegar a secar las semillas de otros materiales por debajo de sus niveles críticos de humedad (Ellis, 1988; Vertucci y Roos, 1990; 1993; Vertucci, 1993; Vertucci *et al.*, 1994; Walters, 1998, Ellis *et al.*, 1990a; 1990b; 1991; 1995, Ellis, 1988) como parece ser el caso del maní forrajero en los datos obtenidos en este estudio. Por lo tanto, los resultados permiten reconocer que no existe un contenido de humedad óptimo para conservación, sino que existen contenidos de humedad críticos para cada especie y ambiente de conservación.

### Agradecimientos

Al Programa de Investigación en Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, y a la Unidad de Recursos Genéticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical por el apoyo prestado para llevar cabo la investigación.

### BIBLIOGRAFÍA

- Chai, J.; Rongyn, M.; Lingzhi, L.; Du, Y. 1998. Optimum moisture content of seeds stored at ambient temperatures. *Seed Sci. Res.* 8, Supplement No.1, 23-28.
- Chien, C.T.; Lin, T.P. 1999. Effects of moisture content and temperature on the storage and germination of *Cinnamomum camphora* seeds. *Seed Sci. Technol.*, 27: 315-320.
- Delouche, J.C. 1971. Precepts of seed storage. In *Handbook of seed Technology*. Mississippi State University. 119-53 pp.
- Delouche, J.C. 2002. Las semillas también mueren. Parte II. Ensayo. *Seed News*. 6(4).
- Ellis, R.H.; Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Ann. Bot.* 45: 13-30.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1986. Logarithmic relationship between moisture content and longevity in sesame seeds. *Ann. Bot.* 57:499-503.
- Ellis, R.H. 1988. The viability equation, seed viability nanographs and practical advice on seed storage. *Seed Sci. Technol.* 16: 20-50.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1989. A comparison of the low-moisture content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in twelve species. *Ann. Bot.* 63: 601-611.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. and Tao, K.L. 1990a. Low-moisture-content limits to relations between seed longevity and moisture. *Ann. Bot.* 65: 493-504.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1990b. Moisture content and the longevity of the seeds of *Phaseolus vulgaris*. *Ann. Bot.* 66: 341-348.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1991. Seed Moisture content, Storage, Viability and Vigor. *Seed Sci. Res.* 1: 275-277.
- Ellis, R.H., Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1995. Survival and vigor of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds stored at low and very low moisture contents. *Ann. Bot.* 76: 521-534.
- Ellis, R.H. 1998. Longevity of seeds stored hermetically at low moisture contents. *Seed Sci. Res.* 8, supplement No. 1, 9-10.
- FAO/IPGRI 1994. Genebank Standards. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations / International Plant Genetic Resources Institute.
- Hall, C.W. 1957. *Drying Farm Crops*. Westport, Conn. Avi. Pub.
- Harrington, J.F. 1972. Problems of seed storage. In: Heydecker, W. (e) *Seed Ecology*. Butterworths. London.
- Hong, T.D and Ellis, R.H. 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI. Technical Bulletin No. 1. p. 12-18.
- Hu, C. Zhang, Y., Tao, M.; Hu, X.; Jiang C. 1998. The effect of low water content on seed longevity. *Seed Sci. Res.* 8 (1): 35-39.
- International Seed Testing Association 1999. *International Rules for Seed Testing*. Rules 1999. *Seed Sci. Technol.* 27, Supplement, 336p.
- Kebreab, E.; Murdoch, A. 2000. The effect of water stress on the temperature range for germination of *Orobanche aegyptiaca* seeds. *Seed Sci. Res.*, 10: 127-133.
- Leopold, A.C.; Vertucci, C.W. 1989. Moisture as a regulator of physiological reaction in seeds. Pp 51-68 In Stanwood, P.C. and McDonald, M.B. (Eds) *Seed Moisture* Madison, Wisconsin, Crop Science Society of America. (Special publication No. 14).
- McDonald, M.B. 1999 Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Sci. & Technol.*, 27: 177-237.
- Rehman, S., Harris, P.J.; Bourne, W.F. 1999. Effect of artificial ageing on the germination, ion leakage and salinity tolerance of *Acacia tortilis* and *A. coriacea* seeds. *Seed Sci. and Technol.*, 27: 141-149.
- Roberts, E.H.; Ellis, R.H. 1989. Water and seed survival. *Ann. of Bot.* 63: 39-52.
- Smith, R.D. 1992. Seed storage temperature and relative humidity. *Seed Sci. Res.* 2, 113-116.
- Vertucci, C.W.; Leopold, A.C. 1987. Water binding in legume seeds. *Plant Physiol.* 85: 224-231.
- Vertucci, C.W.; Roos, E.E. 1990. Theoretical basis of Protocols for Seed Storage. *Plant Physiol.* 94: 1019-1023.
- Vertucci, C.W.; Roos, E.E. 1991. Seed moisture content storage, viability and vigor. *Seed Sci. Res.* 1. 277-279.



- Vertucci, C.W.; Roos, E.E. 1993. Theoretical basis for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Sci. Technol.* 3: 201-213.
- Vertucci, C.W. 1993. Predicting the optimum storage conditions for seed using thermodynamic principles. *J. Seed Techn.* 17 (2):41-52.
- Vertucci, C.W., Roos, E.E.; Crane, J. 1994. Theoretical basis for seed storage III. Optimum Moisture Contents for pea seed stored at different temperatures. *Ann. Bot.*, 74: 531-540.
- Walters, C. 1998. Ultra-dry technology: perspective from the National Seed Storage Laboratory, USA. *Seed Sci. Res.* 1: 11-14.
- Walters, C.; Hill, L.M. 1998. Water sorption isotherms of seeds from ultradry experiments. *Seed Sci. Res.* 8 (1): 69-73.
- Woodstock, L.W.; Simkin, J.; Schoeder, E. 1976. Freeze drying to improve seed storability. *Seed Sci. Tech.* 4, 301-311.
- Xiang H.K.; Zhang H.Y. 1998. The effect of ultra-dry methods and storage on vegetable seeds. *Seed Sci. Res.* 1:41-45.