

# Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la germinación de la semilla de dos patrones de cítricos

Fecha de recepción: 20/08/2008

Fecha de aceptación: 28/03/2009

Jorge Herrera Q.<sup>1</sup>

Ramiro Alizaga L.<sup>2</sup>

## Palabras clave

Germinación, semillas, almacenamiento de semillas, cítrico, humedad de la semilla, condiciones de almacenamiento, humedad de semillas, Swingle, Citrus volkameriana.

## Key words

Germination, seeds, seed storage, citric, seed moisture, seed storage conditions, Swingle, Citrus volkameriana.

## Resumen

Semillas de los patrones de cítricos Citrus volkameriana y citrumelo var. Swingle (Citrus paradisi x Poncirus trifoliata) fueron almacenadas a 5°C y tres contenidos de humedad: 17%, 20% y 23% en C. Volkameriana, y 24%, 27% y 30% en Swingle. Se utilizó tres tipos de empaque para almacenar la semilla: bolsa de polietileno doble, bolsa de papel dentro de bolsa de polietileno y bolsa de polietileno con arena con un contenido de humedad del 16%. Los resultados mostraron que Swingle

perdió más rápidamente su germinación. Las semillas de C. volkameriana y Swingle conservaron su capacidad germinativa por mayor tiempo cuando se almacenaron a un 23% y un 24% de humedad, respectivamente. El tipo de empaque afectó la calidad fisiológica de las semillas, ya que C. volkameriana conservó una mayor germinación en bolsa de polietileno con arena, mientras que Swingle obtuvo sus mayores valores en bolsa de papel dentro de bolsa de polietileno.

## Abstract

Seeds from the citrus rootstocks C. volkameriana and citrumelo var. Swingle (Citrus paradisi x Poncirus trifoliata) were stored at 5°C under three different seed moisture contents: 17%, 20% and 23% for C. volkameriana and 24%, 27% and 30% for Swingle. Three types of packaging were evaluated: 1) double polyethylene bags, 2) paper bag inside a polyethylene bag and 3) polyethylene bag filled up with sand, with a moisture content of 16%. The results showed that Swingle seed lost its

1. Catedrático. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Correo electrónico: jorge.herrera@ucr.ac.cr
2. Catedrático. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Correo electrónico: ramiro.alizaga@ucr.ac.cr

En muchos casos, la longevidad de las semillas recalcitrantes se puede aumentar reduciendo la temperatura de almacenamiento.

germination capability more rapidly. The seed of *C. volkameriana* kept its ability to germinate for a longer period when it was stored at 23% of moisture content, while Swingle showed a higher longevity at 24% of moisture content. This indicates a similar behaviour from both materials. A different response was found in both rootstocks to the storage conditions, *C. volkameriana* kept a higher germination percentage in polyethylene bags with sand, while Swingle showed higher results in paper bags inside the polyethylene bags.

## Introducción

Las semillas de muchas especies presentan el inconveniente de no poder almacenarse con bajos contenidos de humedad, por lo que se han clasificado como recalcitrantes (Chin, 1984). Estas semillas deben mantener un contenido de humedad relativamente alto para mantener su viabilidad (Bewley & Black, 1994). Sin embargo, aunque se almacenen con humedades altas, su longevidad tiende a ser breve y generalmente no excede unos pocos meses. Cabe señalar que esta clasificación no es absoluta y que dentro de este grupo de semillas se presenta una gran variabilidad de comportamientos. Así, muchas especies son capaces de soportar desecación, pero no bajas en la temperatura, como es el caso del ronrón (*Astronium graveolens* Jacq.) (Herrera y Alizaga, 2001); otras, como es el caso de los cítricos, soportan temperaturas relativamente bajas (5° C), pero requieren mantener humedades relativamente altas (Bewley y de Black, 1994; Ellis et al., 1990). Chin et al. (1984) clasifican estas semillas dentro del grupo de ortodoxas de vida corta o intermedia.

En muchos casos, la longevidad de las semillas recalcitrantes se puede aumentar reduciendo la temperatura de almacenamiento. Sin embargo, esto no es siempre posible especialmente en el caso de algunas semillas de especies tropicales,

las cuales, debido a las condiciones climáticas de su lugar de origen, no han desarrollado mecanismos de supervivencia que les permitan mantener su viabilidad cuando se almacenan a bajas temperaturas.

Desde un punto de vista práctico, las semillas recalcitrantes presentan varios problemas para investigadores y productores, uno de los cuales es la dificultad de mantener una alta diversidad genética, sobre todo en especies ante las que no se puede recurrir a la propagación asexual (Bewley y Black, 1994). También representa un problema el almacenamiento de la semilla entre la cosecha y la siembra de los materiales para la siguiente generación.

El cultivo de cítricos ha tomado gran importancia en Costa Rica durante los últimos diez años, lo cual ha obligado al establecimiento de plantaciones de árboles injertados sobre patrones resistentes a las principales enfermedades. Por esto, la semilla de los cítricos utilizados como patrones para el injerto es necesaria para la producción masiva de plantas. Estas semillas presentan el inconveniente de ser recalcitrantes, lo cual dificulta su utilización cuando la época de cosecha no coincide con la época de siembra. Por ello se hace necesario desarrollar sistemas de almacenamiento que permitan conservar la viabilidad de las semillas por períodos de tres a doce meses.

Bewley y Black (1982) señalaron originalmente que la semilla de cítricos era recalcitrante y que se conservaba adecuadamente a baja temperatura (5°C) y un contenido de humedad relativamente alto (18%). Sin embargo, en una publicación posterior (Bewley y Black, 1994), consideraron que la semilla de *Citrus* limón era ortodoxa y que la dificultad de conservar estas semillas se debía al desconocimiento de los requerimientos particulares de la especie. Por su parte, Mas-Camacho et al. (1995) recomiendan almacenar la semilla a 4°C y con una humedad de equilibrio con el ambiente de entre 35% y 40%, lo que equivale

aproximadamente al ámbito entre 9,85% y 10.62%, de acuerdo con la fórmula de Henderson (Henderson y Perry, 1974).

De lo anterior se deduce que cada especie y, en algunos casos, diferentes variedades pueden presentar necesidades específicas para su conservación, por lo que resulta importante determinar las condiciones óptimas en cada caso particular.

En el caso de las semillas ortodoxas, las condiciones de almacenamiento que se deben considerar son básicamente la humedad de la semilla y la humedad y temperatura ambientes. Sin embargo, en el caso de las semillas recalcitrantes también se debe considerar el medio en el cual se deben colocar las semillas, especialmente para evitar la desecación. Generalmente se ha utilizado medios con algún grado de humedad, de manera que se evite la salida de humedad proveniente de la semilla.

El objetivo de este trabajo fue evaluar varios contenidos de humedad de la semilla en combinación con diversos tipos de empaque para almacenamiento, bajo una sola temperatura en dos patrones de cítricos, a saber, *C. volkameriana* y citrumelo var. Swingle (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*), utilizados comúnmente en Costa Rica para la producción de cítricos.

## Materiales y métodos

Se utilizó semilla de los patrones *Citrus volkameriana* y citrumelo var. Swingle (*Poncirus trifoliata* x *Citrus paradisi*), proveniente de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno de la Universidad de Costa Rica, situada en La Garita, Alajuela. Una submuestra de las semillas se trasladó a las instalaciones del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) inmediatamente después de la cosecha, donde se determinó su humedad, para lo cual se utilizó un horno de convección mecánica de aire a 103°C por 24 horas. Se encontró que la misma

fue de 41,8% en *C. volkameriana* y de 49,3% en citrumelo.

Las semillas se secaron en la Estación Experimental a 20°C hasta alcanzar humedades de 25% en el caso de *C. volkameriana* y 30% en citrumelo. Una vez en el CIGRAS, se continuó el proceso hasta obtener sublotes de semillas con 17%, 20% y 23% de humedad en *C. volkameriana* y 24%, 27% y 30% en citrumelo. Los ensayos de almacenamiento en citrumelo y en *C. volkameriana* se llevaron a cabo con diferentes contenidos de humedad de las semillas, debido justamente a la humedad con que éstas arribaron al laboratorio.

Para almacenar las semillas se utilizó tres tipos de empaque, a saber, bolsa de polietileno doble, bolsa de papel dentro de bolsa de polietileno y bolsa de polietileno con arena con un contenido de humedad del 16% p/v.

Antes de su almacenamiento, las semillas se trataron con Vitavax 300 en dosis de 2 g/kg de semilla. Posteriormente, se almacenaron en una cámara graduada a 5°C y un 50% de humedad relativa. Se escogió esta temperatura debido a que en la cosecha anterior, se realizó un experimento preliminar en el que se almacenó semilla durante tres meses a 5°C y 10°C. En dicho experimento, se encontró que en las semillas conservadas a 10°C, la germinación disminuyó hasta un 50%, mientras que las almacenadas a 5°C conservaron un 74% de germinación.

Las pruebas de germinación se realizaron en una cámara graduada a 30°C y un 100% de humedad relativa. Como sustrato para germinación se usó arena cribada a través de una malla con perforaciones de 1,5 mm de diámetro, que posteriormente se lavó con flujo de agua y agitación constante durante media hora, para eliminar residuos orgánicos y partículas muy finas. Se evaluó el porcentaje de plántulas normales 7 y 14 días después de iniciada la prueba, y cada 60 días durante 16 meses.

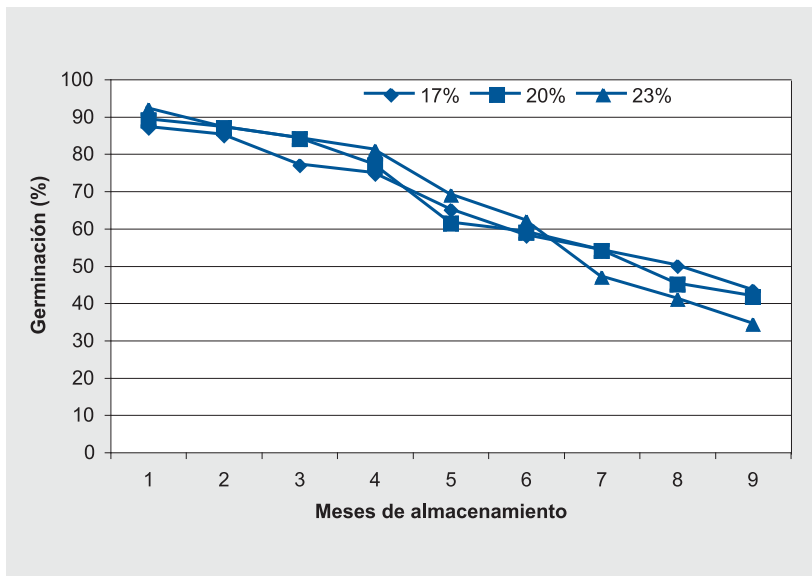


Figura 1. Curvas de germinación de la semilla de *C. volkameriana* almacenada a 17%, 20% y 23% de contenido de humedad por 16 meses.

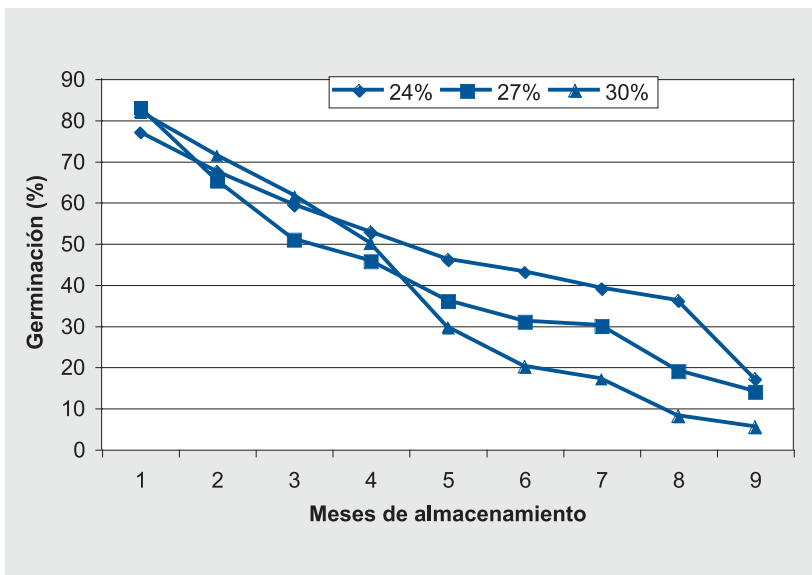


Figura 2. Curvas de germinación de la semilla de citrumelo var. Swingle almacenada a 24%, 27% y 30% de contenido de humedad por 16 meses.

## Resultados

La germinación de las semillas de *C. volkameriana* con diferentes contenidos de humedad decayó en forma lineal conforme aumentó el tiempo de almacenamiento. La germinación inicial promedio fue de un

89% y se redujo hasta aproximadamente un 40% al cabo de 16 meses. No se observó diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre las humedades evaluadas (Figura 1).

Por su parte, la semilla del patrón de citrumelo presentó, al inicio del almacenamiento, una germinación de un 81% y al final del experimento disminuyó en promedio hasta cerca de un 14%. En este caso se observó una tendencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) a favor de la conservación de la calidad fisiológica de las semillas, evaluada mediante la prueba de germinación, en las semillas almacenadas con menor contenido de humedad, en particular a partir de la mitad del período de almacenamiento (Figura 2).

Cabe mencionar que se realizó un análisis de regresión de las curvas de germinación de ambos patrones, el cual permitió demostrar estadísticamente ( $P > 0,05$ ) que el deterioro fue mayor en citrumelo que en *C. volkameriana*.

Con el fin de determinar posibles diferencias debidas en forma independiente al contenido de humedad de almacenamiento de la semilla o al tipo de empaque utilizado, se comparó los resultados obtenidos ocho meses (medio período) y dieciséis meses después de iniciada la prueba (final del período), mediante un análisis de varianza. En el Cuadro 1 se observa que en *C. volkameriana* no se detectó diferencias significativas en cada período debido al contenido de humedad de almacenamiento.

Por el contrario, en citrumelo hubo diferencias significativas entre los contenidos de humedad tanto a los ocho como a los dieciséis meses. En ambos casos, los resultados más bajos se presentaron con la humedad de un 30%, resultados intermedios con la de un 27% y los mayores valores de germinación, con un 24% de humedad (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto del contenido de humedad sobre la conservación de semilla de dos patrones para injerto en cítricos, almacenada a 5°C durante ocho y dieciséis meses, después de iniciada la prueba.

<i>C. volkameriana</i>				Citrumelo cv. Swingle		
		8 meses	16 meses		8 meses	16 meses
Humedad	17%	65,3 a	43,3 a	24%	46,0 c	17,0 c
	20 %	61,3 a	41,7 a	27%	36,0 b	14,0 b
	23 %	69,0 a	34,3 a	30%	29,7 a	5,3 a
Empaque						
	Polietileno	55,7 a	12,3 a	Polietileno	31,3 a	17,0 a
	Arena	75,3 b	58,0 b	Arena	29,3 a	14,7 a
	Papel y polietileno	64,3 a	49,0 b	Papel	51,0 b	12,7 a

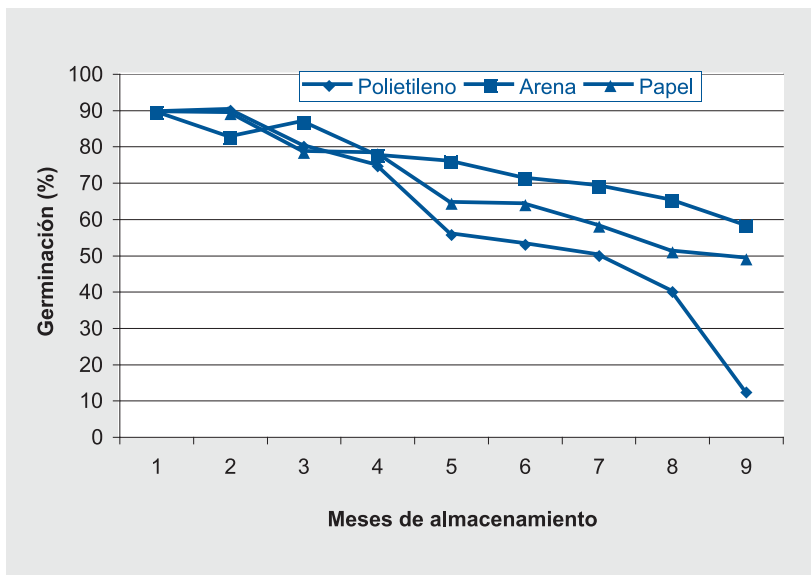


Figura 3. Curvas de germinación de semilla de *C. volkameriana* almacenada en empaques de polietileno, arena y papel, por 16 meses.

Cuando se evaluó el efecto del tipo de empaque sobre la germinación, en *C. volkameriana* se presentaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en las curvas de germinación a partir de los seis meses de almacenamiento. En general, el deterioro fue menor con el empaque de bolsa con arena, seguido por la combinación de

bolsa de papel y de polietileno, mientras que con doble bolsa de polietileno se redujo en mayor proporción (Figura 3).

La evaluación realizada a los ocho y dieciséis meses en *C. volkameriana* (Cuadro 1), mostró que en ambos casos la germinación más baja se obtuvo con el empaque de bolsa de polietileno, aunque en la primera evaluación no hubo diferencias respecto al empaque en bolsa de papel ( $P > 0,05$ ). A los dieciséis meses, los porcentajes de germinación más altos se obtuvieron con el almacenamiento en arena, que no mostró diferencias significativas respecto al empaque en bolsa de papel.

En el caso de citrumelo cv. Swingle, se logró mantener hasta los 12 meses, una germinación mayor (37%) al conservar las semillas en bolsa de papel (Figura 4). Sin embargo, después de dieciséis meses, no se encontró diferencias significativas entre los tres empaques. Después de 8 meses de almacenamiento (medio período), la germinación de las semillas empacadas en bolsa de papel fue un 20% mayor ( $P > 0,05$ ) que en los otros dos tipos de empaque, entre los cuales no se encontró diferencias (Cuadro 1).

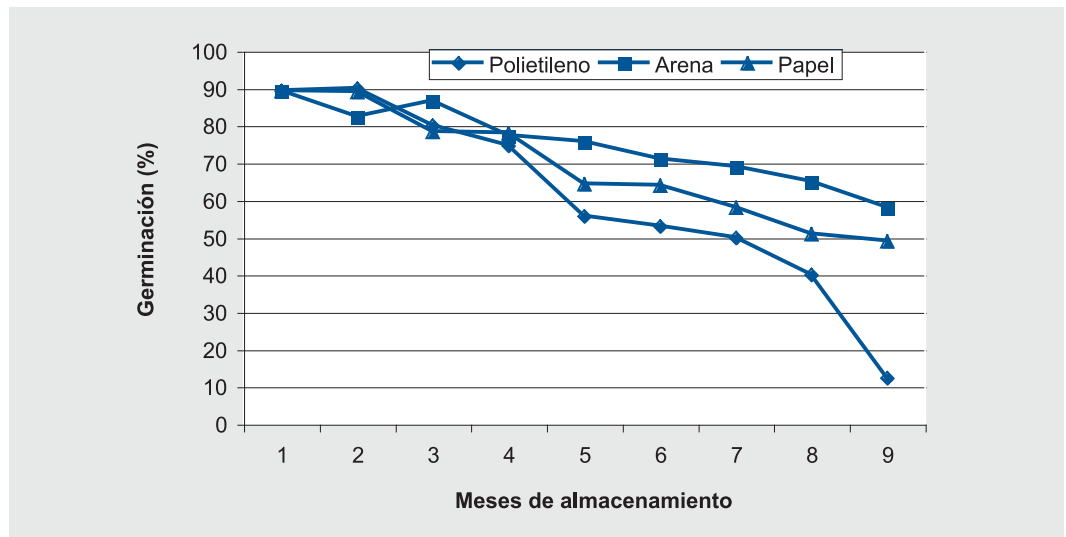


Figura 4. Curvas de germinación de semilla de citrumelo var. Swingle almacenada en empaques de polietileno, arena y papel, por 16 meses.

Se comparó la velocidad de deterioro en ambos materiales, independientemente de los tratamientos de humedad y del tipo de empaque utilizado (Figura 5). En este caso, se observó un deterioro significativamente mayor ( $P > 0,05$ ) en citrumelo cv. Swingle que en *C. volkameriana*, material que logró conservar su viabilidad por mayor

tiempo. Además, es importante mencionar que desde el inicio, *C. volkameriana* presentó un porcentaje de germinación un 10% mayor (90%) que citrumelo (80%).

Un aspecto evidente en este experimento, fue la diferencia en cuanto a la velocidad de germinación entre ambos materiales, la cual se mantuvo desde el inicio y hasta la finalización del trabajo. Se observó un aumento considerable en el número y porcentaje de plántulas entre el primer y segundo recuento en citrumelo cv. Swingle, mientras que el aumento fue consistentemente menor en *C. volkameriana* (Cuadro 2). Los resultados presentaron una tendencia similar cuando se consideró la humedad o el tipo de empaque.

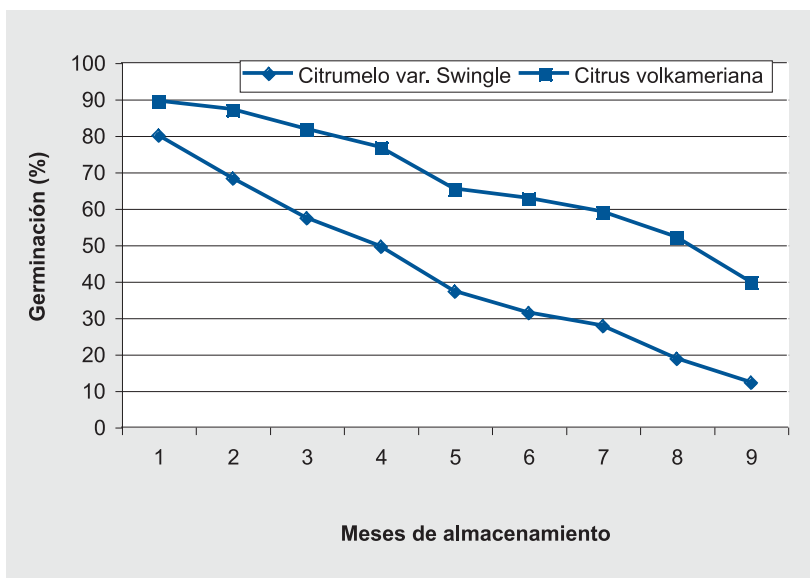


Figura 5. Curvas de germinación de las semillas de citrumelo var. Swingle y *C. volkameriana* almacenadas por 16 meses.

## Discusión

La diferencia en los contenidos de humedad con que se almacenaron las semillas afectó en forma diferencial ambos materiales, debido a que se trabajó con ámbitos de humedad diferentes, 17%, 20% y 23% en el caso de *C. volkameriana* y 24%, 27% y 30% en el caso de citrumelo cv. Swingle. En ambos casos, se observó un descenso

Cuadro 2. Efecto del contenido de humedad sobre la velocidad de germinación en semillas de dos patrones para injerto en cítricos, almacenadas a 5°C.

<i>C. volkameriana</i>				Citrumelo cv. Swingle			
Humedad (%)	Recuento 1	Recuento 2	Incremento %	Humedad (%)	Recuento 1	Recuento 2	Incremento %
17	56,1	9,8	17,5	24	28,8	19,8	68,8
20	57,2	6,1	10,7	27	27,0	14,6	54,1
23	56,3	8,3	14,8	30	25,3	11,5	45,5
Empaque				Empaque			
Polietileno	49,2	11,4	23,2	Polietileno	27,1	13,0	47,9
Papel	62,6	6,6	10,5	Papel	28,7	7,3	24,4
Arena	52,4	16,6	31,6	Arena	32,3	15,4	47,7

en la germinación conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, este descenso fue más pronunciado en citrumelo cv. Swingle, posiblemente como consecuencia de su mayor contenido de humedad.

Por otra parte, la semilla de ambas especies presentó diferencias de aproximadamente un 10% en su capacidad germinativa desde el inicio del almacenamiento (primera evaluación), lo cual puede atribuirse en parte al factor genético que puede favorecer en la semilla de citrumelo una mayor pérdida de viabilidad en el corto plazo, ya que se trata de un híbrido interespecífico, condición que puede ocasionar una mayor incompatibilidad genética. También, el menor porcentaje de germinación puede deberse a problemas en el manejo de las semillas de ambos materiales durante el proceso de extracción y presecado, ya que las evaluaciones se iniciaron unos pocos días después de la cosecha. Según la literatura (Connor et al., 1998; Herrera y Alizaga, 2001), las semillas recalcitrantes, entre las cuales se clasifican frecuentemente las de los cítricos, pierden rápidamente su viabilidad, aunque en el caso de cítricos esta clasificación ha sido cuestionada, por lo que algunos autores como Chin et al. (1984) las consideran semillas ortodoxas

de vida corta. Estas semillas permiten la conservación a baja temperatura, aunque no con bajos contenidos de humedad. En el presente estudio resultó evidente que al cabo de doce meses de almacenamiento, la germinación promedio estaba entre un 30% y un 60%, lo cual se considera bajo para una semilla ortodoxa.

Asimismo, se detectó diferencias en la velocidad de germinación, según lo cual las semillas de citrumelo cv. Swingle germinaron más lentamente. Este comportamiento resultó evidente en el número de plántulas normales que se obtuvo en el primer recuento, lo cual posiblemente se debió a una falta de vigor o calidad fisiológica, condición que con frecuencia se manifiesta como una germinación más demorada (Bewley y Black, 1994). Otra posibilidad, como señala Radhamani et al. (1991), es que la cubierta seminal en algunos cítricos actúa como una barrera mecánica que retarda la germinación de la semilla.

En *C. volkameriana* no se detectó diferencias en la germinación entre las semillas almacenadas con diferentes contenidos de humedad, mientras que en citrumelo cv. Swingle se encontró diferencias entre contenidos de humedad

únicamente después de ocho meses de almacenamiento, aunque los valores fueron siempre menores que en *C. volkameriana*. Cabe agregar que en Swingle la mayor germinación se produjo con el menor contenido de humedad de almacenamiento (24%). En términos generales, esto corresponde al comportamiento de las semillas recalcitrantes (Bewley y Black, 1994). Con base en los resultados, es evidente que las humedades más altas en ambos materiales fueron menos adecuadas para la conservación de las semillas, aunque esta situación tan sólo se manifiesta después de un periodo considerable de almacenamiento, que en el caso de Swingle fue de ocho meses y en el de *C. volkameriana*, de entre cuatro y seis meses. Debido a esto, en periodos muy cortos de almacenamiento y en el ámbito probado en este experimento, la humedad de las semillas no fue determinante sobre el porcentaje de germinación.

Los tipos de empaque para el almacenamiento produjeron diferentes resultados en ambos patrones. En *C. volkameriana* no hubo diferencias significativas entre los diferentes medios hasta el octavo mes de almacenamiento, mientras que en Swingle hubo diferencias a partir del cuarto mes. El hecho de que en ambos casos los valores menores de germinación se obtuvieron cuando las semillas se colocaron en bolsas de polietileno dobles, indica un problema asociado con el alto contenido de humedad de las semillas y con la baja temperatura de almacenamiento (5°C), ya que en estas condiciones se condensó agua en el interior de las bolsas, lo cual favoreció el deterioro asociado con hongos y bacterias.

En el caso de *C. volkameriana*, la mayor germinación al final del periodo de almacenamiento se obtuvo con semillas colocadas en bolsas con arena húmeda y luego en semillas empacadas en bolsas de polietileno y de papel, posiblemente debido a que con estas modalidades de

empaque, el agua que se condensó en el interior de las bolsas, cuando se almacenó las semillas a 5°C, fue rápidamente absorbida por la arena o por el papel, lo cual limitó en alguna medida el desarrollo de hongos y bacterias. En el caso de citrumelo, posiblemente las humedades de almacenamiento fueron tan altas que no hubo efecto del empaque al final del almacenamiento, por lo que la merma en el porcentaje de germinación se debió a un deterioro de la calidad fisiológica o a una pérdida de vigor de las semillas.

## Bibliografía

- Bewley, J.D.; Black, M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. 2 ed. Plenum Press, New York. 445 p.
- Chin, H.F.; Hor, Y.L.; Mohdlassim, M.B. 1984. Identification of recalcitrant seeds. Seed Science and Technology, 12:429-436.
- Connor, K.D. Kossmann Ferraz, I.D.; Bonner, F.T.; Cozzo, J.A. 1998. Effects of desiccation on the recalcitrant seeds of *Carapa guianensis* Aubl. and *Carapa procera* DC. Seed Technology, 20(1):71-82.
- Ellis, R.H; Hong, T.D.; Roberts, E.H. 1990. An intermediate category of seed storage behaviour? Annals of Botany, 41: 1167-1174.
- Henderson, S.M.; Perry, R.L. 1974. Agricultural process engineering. AVI Publishing Company, 2 ed. 430 p.
- Herrera, J.; Alizaga, R. 2001. Efecto de la temperatura de almacenamiento y del contenido de humedad sobre la viabilidad de la semilla de ronrón (*Astronium graveolens* Jacq.) Tecnología en Marcha, 14(2):90-96.
- Mas-Camacho, O.; Valle-Valdez, N. Del; Camos-roque, A.; Acosta-Suárez, M.; Dita-Rodríguez, M.A. 1995. Conservation of citrus rootstock seeds. Centro Agrícola (Estación Experimental de Cítricos Félix Duque, España), 22(2):5-9.
- Radhmani, J.; Malik, S.k.; Chandel, K.P. S. 1991. Seedcoat characteristics in relation to the physiology of seed germination in *Citrus* and its allied genus. Seed Science and Technology, 19(3):611-621.