

ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS

Cándido Gálvez Ramírez

I. INTRODUCCIÓN

La principal razón del almacenamiento de las semillas es su distribución en el tiempo y en el espacio (Besnier Romero, 1989), lo que bajo el punto de vista de su empleo para el reproductor, debe permitir su longevidad, es decir, la conservación de su viabilidad y vigor adecuados en los lugares más apropiados para su nascencia y establecimiento, durante un tiempo razonable.

No obstante, el interés por la conservación de las semillas puede obedecer a razones muy diversas, dependiendo del usuario final de este germoplasma. Por una parte todos los agricultores deben conservar sus semillas durante un periodo corto de tiempo hasta la siguiente campaña de cultivo, mientras que en los bancos de germoplasma, los conservadores de recursos fitogenéticos se plantean su almacenamiento durante periodos de tiempo largos (algunos teóricamente perpetuos). Entre ambas situaciones extremas se encuentra la conservación de semillas de uso forestal o de restauración para su empleo por parte de gestores (públicos o privados) de recursos fitogenéticos para el desarrollo de proyectos de aplicación más o menos inmediata. En este caso, las semillas deben conservarse en condiciones adecuadas a medio plazo sin pérdida sensible de su capacidad germinativa, pero las cantidades que se necesitan conservar no permiten utilizar la metodología empleada normalmente en los bancos de germoplasma. En este grupo de especies, se encuentra semillas de fácil conservación y manejo, a la vez que otras sobre las que los conocimientos actuales aún no permiten su conservación rutinaria, a costes razonables, para su empleo comercial por parte de los productores y multiplicadores.

Las nuevas necesidades de la sociedad moderna, tanto española, europea, como de otros países desarrollados o en vías de serlo, demandan cada vez más la utilización de unos recursos fitogenéticos diversos, como uno de los soportes fundamentales de lo que hoy se ha venido a llamar el

“desarrollo sostenible”. Este uso de especies con aplicaciones tan diversas como la forestal, restauradoras de ambientes degradados, lucha contra la erosión, nuevas fuentes alimenticias o relacionadas con la producción de alimentos tradicionales, y un largo etcétera, representa nuevos retos técnicos de manejo de estos preciados recursos, sin los cuales la diversificación de los agroecosistemas no sería posible. A este respecto, es fundamental establecer unas condiciones adecuadas de manipulación y conservación de las semillas de taxones de interés prioritario, que garanticen su longevidad hasta el momento de su empleo, por parte de los usuarios finales (viveristas, restauradores y agricultores,...).

Por tanto, parece imprescindible conocer cuales son las base del almacenamiento y conservación de las semillas, tanto de comportamiento ortodoxo como recalcitrante, la influencia de las diferentes vicisitudes durante la manipulación desde su madurez hasta el almacén, las condiciones de almacenamiento, los envases empleados para ello, así como todo lo referente para la evitar los problemas que finalmente pudieran causar la perdida de viabilidad durante su conservación en el almacén.

2. EL DETERIORO DE LAS SEMILLAS

Durante el almacenamiento de las semillas, estas sufren un proceso de deterioro tal que disminuye su longevidad. Esta puede definirse como “el tiempo que pueden mantenerse las semillas viables bajo unas determinadas condiciones ambientales”. En ella influyen decisivamente tanto el estado inicial de las semillas, las condiciones iniciales del lote, así como el genotipo, tanto a nivel de especie, de subespecie como incluso de variedad.

Las causas de la muerte de las semillas almacenadas no es el agotamiento de las reservas nutritivas, que se conservan en su mayor parte incluso después de la pérdida de su capacidad germinativa. Por el contrario, el deterioro de las semillas, también llamado envejecimiento, se produce por los daños que sufren las membranas tanto celulares como de organulos intracelulares (mitrocondrias, plastidios,...), entre otras causas. Afectan a la actividad enzimática, a la síntesis o metabolismo de proteínas, glúcidos o lípidos, a la respiración celular, incremento de componentes volátiles tóxicos para las semillas y incluso afectan al material cromosómico y a la síntesis de ADN. Pérez García (2002) aporta 31 acontecimientos metabólicos relacionados con 8 procesos fisiológicos asociados con el deterioro de las semillas (ver tabla nº 1).

El deterioro de los tejidos de las semillas no se produce de manera uniforme, sino que por lo general se inicia en áreas meristemáticas, especialmente en el meristemo radicular. Las condiciones ambientales de conservación para prolongar la longevidad de las semillas, dependen de cada especie y

fundamentalmente se distinguen dos grupos de especies según su comportamiento al almacenamiento (**semillas ortodoxas y recalcitrantes**) sobre los que se entrará en detalle a continuación.

Por otra parte, la reparación de los daños producidos durante el almacenamiento seco de las semillas, se producen durante la imbibición, lo que produce retraso en la germinación y la pérdida de vigor o incluso, si los daños son muy importantes, las semillas se muestran incapaces de germinar o la plántula muere después de hacerlo. Los daños producidos en el ADN son la causa de las malformaciones en las plántulas de semillas envejecidas

Proceso fisiológico	Acontecimiento metabólico
Actividad metabólica	Disminución de amilasas
	Incremento de ARNasas
	Disminución de hidrolasas
	Disminución de fosfatasas
	Disminución de catalasas
	Disminución de peroxidasas
Proteínas	Disminución de proteínas totales
	Disminución en la síntesis de proteínas
	Incremento de aminoácidos
	Disminución de proteínas solubles
	Incremento de poliamina
Glúcidos	Disminución de almidón
	Disminución de monosacáridos
	Incremento de la disminución de almidón
	Disminución de oligosacáridos solubles
Lípidos	Disminución de ácidos grasos
	Disminución de lípidos totales
	Peroxidación de lípidos
Ácidos nucleicos	Disminución de ADN y ARN
	Daños cromosómicos
	Disminución en la síntesis de ADN y ARN
	Incremento de anafases mitóticas aberrantes
	Incremento de la degradación de ADN
Permeabilidad de las membranas	Incremento de la permeabilidad
	Incremento de la conductividad
Respiración celular	Disminución de la producción de ATP
	Disminución de la actividad respiratoria
Compuestos volátiles	Incremento de butanal, pentanal y hexanal
	Incremento de metanol y etanol
	Incremento de acetona y acetaldehído

Tabla 1. Algunos de los procesos fisiológicos y acontecimientos metabólicos asociados con el deterioro de las semillas (Pérez García, 2002).

3. TIPOS DE SEMILLAS EN RELACIÓN CON EL COMPORTAMIENTO A SU CONSERVACIÓN

No todas las semillas responden de igual manera al almacenamiento. Este hecho ha sido fundamental desde el comienzo de la domesticación de las plantas y ha tenido grandes repercusiones sociales e incluso políticas en el intercambio de material vegetal a lo largo de la historia de la humanidad. Piensese simplemente en toda la estrategia de transporte desarrollada desde el Nuevo Mundo hasta Europa y viceversa para el intercambio de material fitogenético (plantas y semillas). Mientras que la mayoría de las semillas de plantas cultivadas y silvestres mantienen mejor su viabilidad cuando se conservan con bajos contenidos de humedad y a bajas temperaturas, otras, especialmente aquellas procedentes de regiones tropicales, no sobreviven cuando desciende su contenido en humedad de un determinado valor. Robert (1973) define dos categorías de semillas respecto a su comportamiento al almacenamiento: ortodoxas y recalcitrantes.

ESPECIE		Tipo de comportamiento al almacenamiento	Temperatura óptima e almacenamiento (°C)
Nombre científico	Nombre común		
<i>Aesculus hippocastanum</i>	Castaño de indias	Recalcitrante	0-5
<i>Amigdalus communis</i>	Almendro	Recalcitrante	0-5
<i>Acer spp.</i>	Aceres	Probablemente intermedio	0-5
<i>Araucaria angustifolia</i>	Araucaria	Recalcitrante	¿
<i>Artrocarpus heterophyllus</i>	Arbol del pan	Recalcitrante	15
<i>Camellia sinensis</i>	Camelia	Probablemente intermedio	1
<i>Carica papaya</i>	Papaya	Intermedio	10
<i>Castanea spp.</i>	Castaño	Recalcitrante	0-5
<i>Citrus spp.</i>	Limonas, naranjos,...	Intermedio	5
<i>Cocos nucifera</i>	Palmera cocotera	Recalcitrante	¿
<i>Coffea arabica</i>	Café	Intermedio	10
<i>Dipterocarpus baudii</i>		Probablemente recalcitrante	14
<i>Fagus sylvatica</i>	Haya	Recalcitrante	-2
<i>Hevea basiliensis</i>	Arbol del caucho	Recalcitrante	7-10
<i>Jugans spp.</i>	Nogales	Recalcitrante	0-5
<i>Laurus nobilis</i>	Laurel	Recalcitrante	0-5
<i>Mangifera indica</i>	Mango	Recalcitrante	15
<i>Myristica fragans</i>	Nuez moscada	Recalcitrante	¿
<i>Persea americana</i>	Aguacate	Recalcitrante	¿
<i>Quercus spp.</i>	Encinas, robles,...	Recalcitrante	-3
<i>Sweitenia mahogany</i>	Arbol de la caoba	Recalcitrante	¿
<i>Theobroma cacao</i>	Cacaotero	Recalcitrante	15

Tabla 2. Algunas especies y géneros de plantas con semillas de comportamiento recalcitrante e intermedio al almacenamiento, nombres comunes y temperaturas óptimas de almacenamiento.

Las semillas de especies con **comportamiento al almacenamiento ortodoxo** pueden mantenerse satisfactoriamente *ex situ* durante periodos largos bajo condiciones adecuadas como veremos más adelante, si bien la longevidad es una característica innata de cada especie e incluso de cada lote. Cuando se habla de conservación *ex situ*, se quiere indicar la conservación de la semillas fuera del fruto, una vez que este se ha desprendido de la planta madre. El mantenimiento de la viabilidad de las semillas de **comportamiento al almacenamiento recalcitrante** es más problemático. Estas son semillas que germinan inmediatamente después de ser dispersadas. Suele tratarse de especies de distribución tropical o subtropical, algunas de gran importancia económica como el aguacate (*Persea americana*), cacao (*Theobroma cacao*), mango (*Mangifera indica*), café (*Coffea* spp.), junto con otras especies de distribución en zonas templadas con semillas de tamaño grandes como *Quercus* spp., *Fagus* spp., *Castanea* spp. y *Acer* spp. Al desecarse por debajo del 12-30% pierden su viabilidad, por lo que, han de almacenarse bajo condiciones húmedas. Una tercera categoría, de **comportamiento al almacenamiento intermedio**, fue definida por Ellis & al. (1990) para aquellas semillas que es posible almacenar a medio plazo bajo condiciones de temperatura y humedad muy bien definidas. El conocimiento del comportamiento de las semillas durante el almacenamiento es de vital importancia no sólo para su el manejo de lotes de semillas con valor comercial, sino también para la conservación de los recursos fitogenéticos a escala global. Por tales motivos los organismos internacionales encargados de la gestión de recursos fitogenéticos como la FAO y la IPGRI destinan considerables esfuerzos y recursos económicos al desarrollo de métodos que permitan su conservación en condiciones que permita el mantenimiento de la viabilidad a niveles aceptables durante periodos prolongados de tiempo.

4. CONSERVACIÓN DE LAS SEMILLAS DE COMPORTAMIENTO ORTODOXO

Las semillas de comportamiento al almacenamiento ortodoxo (en adelante semillas ortodoxas) pueden ser secadas sin daño hasta niveles de humedad bajos y su longevidad se incrementa con el descenso del contenido en humedad y la temperatura de forma cuantificable según la siguiente ecuación de viabilidad:

$$K_e - C_w \log_{10} m - C_H t - C_Q t^2$$

$$v = K_i - p/10$$

donde

v : porcentaje de probabilidad de viabilidad después de p días en almacenamiento con un contenido en humedad del $m\%$ y $t^\circ C$,

K_i : es una constante específica para el lote de semillas en cuestión.

K_E , C_H , C_w y C_Q son constantes de viabilidad para la especie.

Esta ecuación indica la considerable extensión en la que la longevidad puede ser alterada dependiendo de las condiciones ambientales del almacenamiento.

Se debe entender por almacenamiento de una semilla el periodo que va desde que madura la semilla en la planta hasta que ésta es sembrada. Este comprende, por tanto, el tiempo que la semilla esta madura sobre la planta, el que va desde la planta hasta el almacén para su conservación durante un periodo más o menos largo y el que va desde el almacén hasta su siembra final.

Desde que la semilla comienza su almacenamiento está sujeta, como hemos visto antes, a un proceso de debilitamiento o deterioro que puede conducir a su muerte antes de la siembra, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y el tiempo de almacenamiento.

Diversas condiciones afectan adversamente a la longevidad de las semillas, así altas temperaturas, la luz del sol, los insectos y enfermedades fúngicas o bacterianas llegan a provocar la total pérdida de viabilidad de las mismas. El almacenamiento de los frutos, previo a la extracción de las semillas, es un periodo crítico para algunas especies, fundamentalmente en las de frutos carnosos tipo (ej. drupa y baya) se puede producir un "calentamiento" de los mismos y sus semillas cuando se almacenan a temperatura ambiente e incluso en cámaras frigoríficas, en sacos cerrados o recipientes que permitan poca aireación. A continuación de este calentamiento bacteriano, hongos saprófitos pueden acabar arruinando la calidad del lote de semillas. Los estróbilos de las coníferas, si bien no presentan este graves problema incluso cuando se almacenan a temperatura ambiente, suelen ser tratados poco adecuadamente cuando se someten a altas temperatura para la extracción de las semillas. Durante este proceso es inevitable una cierta pérdida de viabilidad y/o vigor sobre todo en especies de semilla pequeña como *Pinus halepensis* y *P. nigra*. Si por el contrario, la extracción de las semillas de estas u otras especies productoras de estróbilos se realiza en sequero solar, la manipulación (golpes, pisoteo,...) puede igualmente producir pequeñas heridas en las cubiertas seminales que influirán negativamente en la longevidad de las mismas, al tratarse de zonas libres para la entrada de patógenos durante antes, durante, después del almacenamiento y durante la propia germinación. En caso de tratarse de semillas con letargo, el desarrollo de pretratamientos necesarios para promover la germinación, especialmente cuando se trata de tratamiento químicos, pueden provocar la muerte de estas semillas levemente deterioradas.

La recolección y limpieza realizadas de manera poco adecuada, también pueden ser causa de un descenso o pérdida de viabilidad de las semillas. Incluso el transporte de las semillas desde su almacenamiento hasta el semillero puede ser crítico, sobre todo cuando se emplean recipientes poco adecuados (Harrington, 1972).

La eliminación de las estructuras aladas en semillas de *Acer* spp. y de *Pinus* spp. representa otro punto crítico durante las labores de limpieza. Si esta eliminación se realiza de manera manual con el concurso de agua, el secado debe realizarse tan pronto como sea posible para evitar la aparición de hongos o la hidratación de las semillas y desencadenar los procesos bioquímicos de la germinación. Si por el contrario, se realiza con desaladores mecánicos, se han de tomar especiales precauciones para ajustar las distancias entre los cepillos y las cribas a los niveles requeridos en para cada especie según el tamaño y morfología de sus semillas, de lo contrario, las semillas sufrirán, además del proceso de desalado otro de "escarificado mecánico" de manera gratuita. A este respecto, hemos de recordar que todos los pretratamientos que se deban desarrollar sobre las semillas han realizarse con la antelación justa y necesaria para la fecha de siembra programada, nunca con anterioridad, de lo contrario disminuiríamos sensiblemente la longevidad teórica de un lote de semillas.

4.1. Las Reglas de Harrington

Como puede deducirse de la ecuación de la viabilidad, los dos factores más importante sobre los que podemos actuar para prolongar la longevidad de las semillas son la temperatura y la humedad durante el almacenamiento. A este respecto, Harrington (1972) da dos reglas en las que deja clara la importancia de la temperatura y la humedad de las semillas en la velocidad del deterioro de las semillas:

- a) Por cada 1% de reducción en la humedad, las semillas doblan su vida.
- b) Por cada 5° C de reducción en la temperatura, la semilla doble su vida.

4.2. El contenido en humedad de las semillas

Como es sabido, cuando las semillas presentan un alto contenido en humedad (alrededor del 30 %), si no muestran letargo, éstas germinan rápidamente. En el rango comprendido entre el 18 y el 30 % se puede producir un "calentamiento" debido a la actividad de microorganismos en presencia de oxígeno, provocando una muerte rápida de las semillas. En el rango del 10 % para las semillas de especies oleaginosas y del 13 % en semillas no

oleaginosas hasta el 18% los hongos de almacenamiento crecen y destruyen los embriones (Kozlowski, 1972).

Por tanto, las semillas deben secarse tan rápido como sea posible por debajo del 10-13 % de humedad y conservarse a estos niveles durante todo su almacenamiento. Sin embargo, si las semillas se secan por debajo del 4-5% de humedad, se produce un deterioro mayor que si esta se reduce sólo al 5-6%. Esto es debido al llamado daño por "autooxidación lipídica" (Koostra Y Harrington, 1969). Durante la misma, los lípidos insaturados en las células de las semillas, pueden degradarse, produciendo radicales libres de doble cadena. Estos radicales pueden reaccionar con otros lípidos, destruyendo la estructura de las membranas celulares, con proteínas, inactivando enzimas, y con ADN, provocando mutaciones y anormalidades cromosómicas, en este último caso

En las células con muy bajos contenido en humedad las enzimas que producen tocoferol se inactivan con los radicales libres generados, por lo que este no se producen durante el almacenamiento de las semillas. Además, se cree que alrededor del 5 % de humedad la capa de agua que rodea las macromoléculas en las semillas se rompe y facilita su destrucción por los mismos radicales libres. Por tanto, parece que la humedad del 5-6 % es la ideal para prolongar la vida de las semillas durante el almacenamiento.

4.3. La temperatura de almacenamiento

En aplicación de las reglas de Harrington, cuando las semillas se someten a temperaturas por debajo de 0° C, si la humedad de las semillas esta por debajo del 14%, no se formaran cristales de hielo, por lo que es posible almacenar bajo cero sin deterioro. Sin embargo, a temperaturas bajo cero se alcanzan valores de humedad relativa (HR) altos y después de un periodo de almacenamiento las semillas ganan humedad y forman cristales de hielo, incluso si los cristales de hielo no se producen durante el almacenamiento, este se puede producir durante el descarche, con los mismos efectos deletéreos para las semillas.

Si las semillas son primero desecadas y después colocadas en contenedores estancos, entonces si es posible almacenarlas a temperaturas bajo cero sin deterioro, pero incluso cuando las semillas se almacenan a 0-5° C en contenedores cerrados pueden ganar humedad por compensación de su humedad con la del ambiente. En este sentido, sólo las latas con tapa sellada, los tarros de appetización con juntas de goma, los frascos de laboratorio para productos líquidos y las ampollas de vidrio selladas a la llama, se muestran suficientemente herméticas o impermeables como para contar con ellos en la conservación de semillas en colecciones a largo plazo según GOMEZ-CAMPO, (2002). Otros tipo de envases permiten la entrada de humedad en su interior en menos de 2-3 años, a pesar de lo cual se usan con frecuencia

en bancos de semillas a largo plazo. Además, las bajas temperaturas reducen la actividad de hongos e insectos, aunque no de roedores.

4.4. El equilibrio con la HR del ambiente

El contenido de HR de la semilla se encuentra normalmente en equilibrio con la HR del ambiente donde se encuentra. Aunque en este sentido, las semillas con cubierta dura como las leguminosas son una excepción.

La mayoría de las semillas tienen su propio contenido en humedad en equilibrio con un valor de HR del ambiente donde se encuentra debido a que varía la cantidad de agua que absorben las moléculas de las semillas. Las proteínas más agua que el almidón y la celulosa, mientras que los lípidos no absorben agua.

Al igual que el suelo, las semillas se secan hasta un equilibrio con un valor dado de HR que no será el mismo que cuando las semillas secas ganan humedad hasta alcanzar el equilibrio con el mismo valor de HR. Este fenómeno, conocido como "histéresis", se cree que ocurre porque durante la rehidratación, las macromoléculas secas no se hidratan completamente hasta los mismos niveles de humedad que cuando estaban húmedas y no se disponen de tantos sitios viables para la absorción de moléculas de agua. El contenido en humedad de una semilla en equilibrio con una HR es ligeramente superior a temperaturas de almacenamiento más bajas. Esto se produce porque la energía de las moléculas de agua es menor a temperaturas más bajas y pocas escapan a la fuerza de atracción de las macromoléculas.

4.5. Relación entre la humedad y la temperatura de almacenamiento

La HR en el aire es la medida del peso de humedad en un peso de aire en relación al total de humedad cuando está saturado. Como la cantidad de agua que es capaz de absorber el aire es mayor a temperatura más altas, si el peso absoluto de humedad se mantiene constante, la HR decrece al calentar el aire. De este modo, cuando la HR de un almacén de semillas se encuentra muy cerca del 100 % y se produce un leve enfriamiento, rápidamente se llega a saturación, y la humedad condensará en la superficie de las semillas. Si por el contrario se produce un aumento de la temperatura del almacén, la HR decrecerá y, debido a la necesidad de permanecer en equilibrio con el ambiente, la humedad de la semilla también decrecerá.

4.6. El secado de las semillas

Una vez las semillas se han recolectado, antes de proceder a su conservación es conveniente secarlas hasta niveles óptimos para su con-

servación durante un plazo más o menos largo. Si sólo se pretende conservarlas durante una estación, niveles de humedad en equilibrio con el 65 % de HR del ambiente son suficientes. Para el almacenamiento durante un plazo de 2-3 años deberán estar en equilibrio con una HR ambiente del 45%. Sin embargo, cuando se pretenda un almacenamiento a largo plazo, por ejemplo en colecciones activas en bancos de germoplasma conservadas en recipientes completamente sellados a la humedad, deben estar en equilibrio con el 25 % de HR o contener el 5-6 % de humedad.

Para secar las semillas la HR del aire debe ser menor que la HR con la que se encuentra en equilibrio la semilla de tal manera que se cree un gradiente de humedad desde la semilla hasta el aire. Si la humedad de aire es mayor que la de equilibrio, entonces el gradiente de humedad será hacia la semilla y esta ganará humedad.

4.6.1. Como bajar la humedad relativa

Además de mediante el calentamiento, las semillas pueden secarse únicamente generando un gradiente de humedad de la semilla hacia el exterior con aire frío. Este proceso es menos perjudicial para la longevidad de la semilla que su secado por aire caliente.

Normalmente, una vez que las semillas han madurado, estas presentan porcentajes de humedad cercanos o superiores al 20 % de manera natural. Si estas semillas recién recolectadas se colocan en un ambiente con un 75 % de HR, estas se desecarán considerablemente, pero no lo suficiente para su conservación adecuada a medio o largo plazo. Sin embargo, si durante el periodo previo al almacenamiento asciende ligeramente la temperatura, la HR descenderá sensiblemente y la semilla perderá humedad hasta niveles que harán seguro su almacenamiento incluso durante periodos prolongados. Por ejemplo, con una HR del 75 % ambiental, un ascenso de 20 a 30° C supone el descenso hasta niveles próximos al 40 % de HR. A partir de cierto nivel de calentamiento, este puede ser dañino para las semillas, especialmente si la humedad es alta. A este respecto, se considera que la temperatura de 35° C es la máxima para el secado de semillas de plantas herbáceas, mientras que por encima de 45° C se producen daños en casi cualquier tipo de semilla.

A efectos prácticos, existen tres maneras de proceder para el secado de las semillas:

- a) Aumentando la temperatura, lo cual aumenta el déficit de presión de vapor y produce un déficit de gradiente de humedad en el aire.
- b) Incrementando la corriente de aire, reemplazando gradualmente el aire húmedo que rodea a las semillas con aire seco.

- c) Permitiendo que todas caras de las semillas se expongan por igual a las corrientes de aire. Para ello hay que extender las semillas en capas delgadas y moverlas periódicamente.

La velocidad del secado de las semillas también puede influir en la viabilidad y longevidad de las semillas. Un secado demasiado rápido puede provocar daños que impidan la germinación o simplemente afecten a su longevidad. Si el gradiente de humedad desde la superficie de la semilla es mayor que el gradiente desde el interior a la superficie de la semilla se producirá un secado más rápido en la superficie que en el interior. Si este es muy intenso, pueden producirse fracturas en los tejidos superficiales de algunas semillas con cubiertas seminales blandas, con la consiguiente pérdida de la protección frente a patógenos.

Los métodos alternativos al calentamiento para reducir la HR durante el acondicionamiento de las semillas son la refrigeración y la desecación.

En el proceso de refrigeración, el aire húmedo entra en contacto con el serpentín (frío) que condensa parte de la humedad y la retira dejando una HR más baja en la cámara de secado. Este procedimiento es eficaz y económico a temperaturas superiores a 20° C y se consiguen fácilmente niveles del 45 % de HR. Sin embargo, a temperaturas inferiores este tipo de deshumidificación resulta antieconómico.

El procedimiento de la desecación puede realizarse de dos maneras. Por una parte, mediante el empleo de gel de sílice que al hidratarse vira de azul a rosa pálido y puede retirar cantidades discretas de humedad. Para renovarlo basta con calentarlo y volverá a estar deshidratado y de color azul. Por otra parte, también se ha empleado una solución saturada de cloruro de litio (CLi). Esta al atomizarse sobre el aire húmedo de la cámara de secado, captura la humedad del ambiente, aunque su carácter tóxico y corrosivo lo hacen poco recomendable.

4.7. Almacenamiento seco

Una vez que las semillas han alcanzado el nivel de humedad adecuado para el tipo de almacenamiento que se pretende (a corto, medio o largo plazo), estas han de almacenarse en unas condiciones y han de almacenarse en unas estancias con las adecuadas condiciones de HR y aislamiento.

Existen tres alternativas fundamentales para garantizar el almacenamiento en condiciones secas, aunque el principio en el que se apoyan es el mismo:

- a) Almacenamiento seco y estanco equipado con un sistema para mantener bajos los niveles de HR.

- b) Semillas conservadas en contenedores estancos.
- c) Semillas conservadas en contenedores con indicador de desecación.



Figura 1. Distintos tipos de envases para la conservación de lotes de semillas forestales.

Existen diferentes envases que se muestran adecuados para la conservación de las semillas, sin embargo hay que extremar el cuidado cuando se trata de almacenamiento a largo plazo, donde recientes trabajos (GOMEZ-CAMPO, 2002) ponen en evidencia las deficiencias de muchos de los envases que incluso hoy se emplean de forma generalizada en los bancos de germoplasma a medio y largo plazo en todo el mundo, como ya se ha comentado.

5. ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS RECALCITRANTES

Cuando las semillas recalcitrantes comienzan a secarse, la viabilidad desciende muy ligeramente primero, pero cuando la humedad desciende hasta un determinado contenido en humedad en la semilla, llamado “contenido crítico de humedad” (King & Robert, 1979), esta desciende también considerablemente. Si el secado continua, la viabilidad continua descendiendo hasta llegar a ser cero. En la figura se muestra la relación entre el contenido de humedad y la capacidad germinativa de un lote de semillas de *Acer pseudoplatanus*.

El valor del contenido crítico de humedad, varía sensiblemente entre diferentes especies con semillas recalcitrantes e incluso entre cultivares y lotes de semillas diferentes (King & Robert, 1979). También puede variar entre diferentes métodos de secado (Pritchard, 1991), sobre todo en cuanto a la velocidad de secado de las semillas, como veremos más adelante.

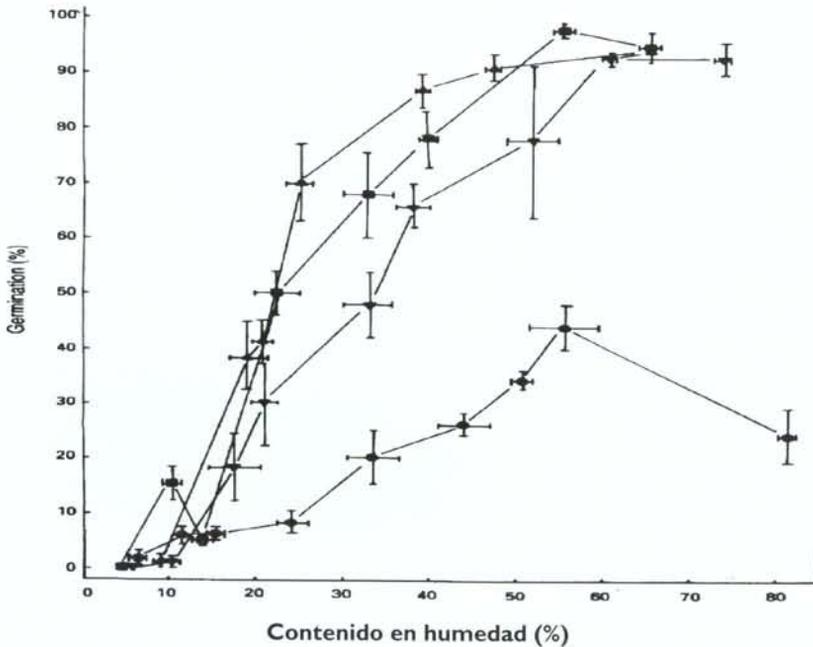


Figura 2. Relación entre la germinación (%) y el contenido en humedad de semillas de *Acer pseudoplatanus* recolectadas el 12 de Julio (●), 16 de Agosto (?), 20 de Septiembre (+), o 18 de Octubre de 1988 (?) secadas a los contenidos en humedad mostrados. De Hong y Ellis (1990).

5.1. Factores que afectan a la sensibilidad a la desecación.

La tolerancia a la desecación de las semillas recalcitrantes aumenta durante el desarrollo de las semillas en la planta madre, pero al contrario de lo que ocurre en las semillas ortodoxas, el contenido en humedad de las semillas no desciende a medida que aumenta la madurez de las mismas. Además la resistencia a la desecación es diferente por parte de las diferentes estructuras de las semillas. Por ejemplo, en *Hevea brasiliensis*, el árbol del caucho, las semillas no sobreviven más allá de un contenido de humedad inferior al 15 %, sin embargo, entre el 50 y el 80 % de los embriones excindidos sobreviven a una desecación hasta alcanzar sólo el 14 % de humedad cuando se cultivan *in vitro* (Normah & al., 1986). Este hecho ocu-

re en numerosas especies con semillas recalcitrantes, y es de gran importancia para la conservación de RF en áreas tropicales.

La velocidad de desecación es otro factor a tener en cuenta. En *Quercus robur*, Finch-Savage (1992) muestra que la velocidad en que pierden humedad las semillas no afecta a la supervivencia de las semillas, si bien por lo general, se considera que un secado rápido es preferible a uno lento. El método de secado, íntimamente ligado con la velocidad del mismo, es de gran importancia cuando se pretende la conservación de ejes embrionarios, en proyectos de conservación de RF de especies recalcitrantes, no así en la conservación comercial de estas semillas.

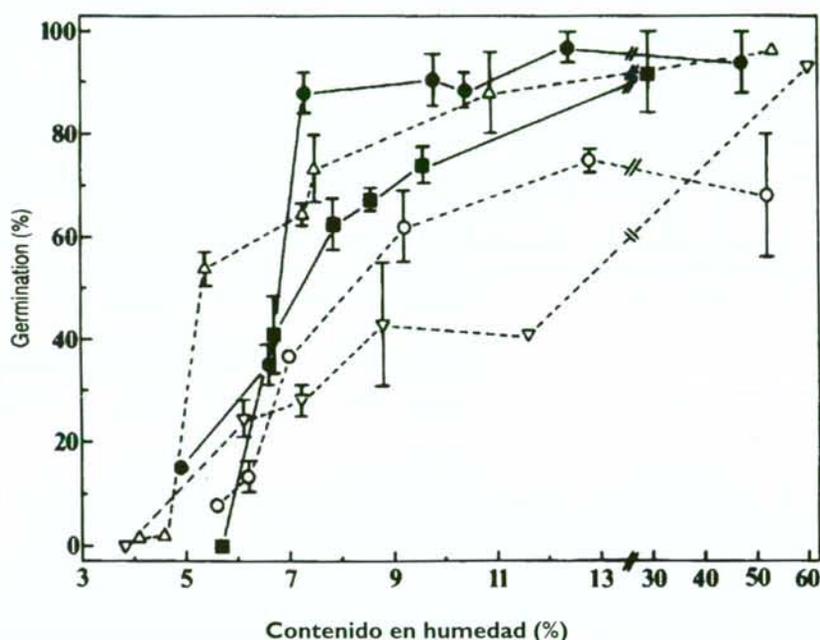


Figura 3. Sensibilidad a la desecación (germinación normal, %, frente al contenido en humedad, %) en semillas de café arábica (*Coffea arabica*) cv. SL28 de Kenia (+) y Sudáfrica (?) extraídos de frutos maduros, y semillas extraídas de frutos verdes (—), amarillos (¡) o rojos (i) de Sudáfrica. De Ellis & al. (1991).

5.2. Longevidad de semillas recalcitrantes en almacenamiento húmedo.

No existe un método definitivo para la conservación de semillas recalcitrantes, debido a que no pueden ser desecadas sin pérdidas de viabilidad como las semillas ortodoxas, ni pueden conservarse a temperaturas bajo cero, por la formación de cristales de hielo en su interior. Incluso

algunas semillas de especies tropicales, sufren daños a temperaturas de 10-15° C. Su longevidad, bajo condiciones comerciales, sin pérdidas importantes de la capacidad germinativa, no supera varios meses aunque hay constancia del mantenimiento viable de semillas de *Quercus* spp. durante más de 3 años a -3° C (Suszka, 1971-1974).

El almacenamiento de estas semillas ha de realizarse, por tanto a bajas temperaturas (nunca inferiores a -2° C) y alto contenido en humedad. A este método de conservación se le ha venido en llamar “estratificación fría”, por la disposición de las semillas entre capas alternativas de substrato (turba, vermiculita, arena de río lavada,...) húmedo.

En ensayos realizados por el CMF El Serranillo con *Q. ilex* y *Q. faginea* (Peñuelas & Ocaña, 1996) se pone de manifiesto la importancia del tamaño de las bellotas y la fecha de semillado, es decir, el tiempo de almacenamiento en estratificación fría-húmeda, en la supervivencia de las semillas. En la segunda se demuestra que la nascencia está profundamente influenciada por ambos parámetros. El tamaño de bellotas más pequeño (menor de 1 gr.) sólo presenta un resultado de supervivencia más aceptable (75%) si la siembra se realiza pronto, y desciende drásticamente hasta hacerse cero si esta se retrasa a sólo dos meses, con una pérdida de humedad respecto al peso original de sólo el 13.7%.

Por el contrario, los tamaños mayores de bellotas pierden menor cantidad porcentual de agua, lo que les permite mantener tasas de germinación elevadas después de tres meses de almacenamiento.

6. SISTEMAS DE MEDICIÓN DE LA HUMEDAD DE LAS SEMILLAS.

Para determinar el contenido en humedad de las semillas existen varios métodos, algunos dan poca información y ha de interpretarse por un analista experimentado, otros son métodos oficiales, mientras que otros se han desarrollado para cultivos agrícolas extensivos.

El método más rudimentario o “método del bocado” trata simplemente de romper la semillas para exponer su interior al observador experimentado. Los tejidos turgentes y más o menos brillantes indican un alto contenido en humedad, mientras que los tejidos más rugosos y menos lechosos suelen corresponder a contenidos menores de humedad.

La International Seed Testing Association ofrece diversos métodos, (NORMAS ISTA) dependiendo del tipo y características de las semillas. En todos los casos se trata de métodos oficiales a los que se acogen los diferentes organismos nacionales e internacionales para el control de la calidad de las semillas. Normalmente se desecan las semillas en estufa a 105° C durante 24 horas, o a 130° C durante 1-2 horas para seguidamente calcular

su peso seco. Para las semillas con alto contenido graso ofrece un método en el que estas se destilan con tolueno.

Además de estos métodos, existen medidores eléctricos de la humedad calibrados para semillas agrícolas de gran producción, rápidos y de manejo sencillo aunque de resultados poco precisos.

Un método indirecto es la medida de la HR del almacén con un psicrómetro. Si las semillas han alcanzado el equilibrio con la HR de la cámara de conservación, esta debería ser la mejor medida para garantizar un almacenamiento que incluso el contenido en humedad de la propia semilla ya que este valor puede variar dependiendo de otros muchos factores como la presencia de hongos, insectos, o la edad de cada lote de semillas.

ACCIÓN	INFORMACIÓN	PRECAUCIONES
Recepción ↓ Verificación ↙ ↘ Extracción semilla	Toma de datos de entrada: kg, recolector, fecha	Presencia de insectos, hongos. Tratamientos químicos Semillas certificadas
Secado ↓ Contenido humedad	Método de limpieza/extracción	Adecuación a cada tipo
↓ Limpieza semilla ↓ Pureza	Localización en cámara de secado	Mantenimiento durante un mínimo de 15 días
↓ Envasado	Toma de muestra y análisis de contenido en humedad	Calibración del método
↓ Almacenamiento	Rendimiento semilla/fruto	Ausencia de daños
↓ Análisis de la viabilidad/germinación	Toma de muestra para análisis de pureza	Muestreo adecuado
↓ Incluir en lista de existencias	Elegir el envase según características del lote. Etiquetado	No rehidratar antes de envasar
↓ Suministro	Seleccionar ubicación	Control humedad/temperatura
	Toma de muestra para análisis de germinación (NORMAS ISTA) o viabilidad (TTZ) Estimar tiempo de conservación máximo y fecha de primer análisis.	Número de semillas y repeticiones indicadas según NORMAS ISTA. Estandarización de los métodos de viabilidad
	Incluir en base de datos	Control año cosecha

Tabla 3. Esquema de operaciones empleado en la incorporación de una recolección de semillas desde su recolección hasta el stock del almacén y su suministro comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- Besnier Romero, F. (1989). *Semillas. Biología y tecnología*. Mundi-prensa. Madrid.
- Ellis, R.H.; T.D. Hong; M.C., Martin; F. Pérez García & C. Gómez Campo. (1993) The long-term storage of seed of seventeen crucifers at very low moisture contents. *Plant Varieties and Seeds*, 6: 75-81.
- Ellis, R. H. , T. D. Hong & E.H. Roberts (1990). An intermediate category of seed storage behaviour? *J. Expe. Bot.* 41:1167-1174.
- Finch-Savage, W.E. (1992). Seed development in the recalcitrant species *Quercus robur*L.: germinability and desiccation tolerance. *Seed Sci. Res.* 2:17-22.
- Gómez Campo, C. (2002). Long term seed preservation: the risk of selecting inadequate containers is very high. *Monograph ETSIA, Univ. Politécnica de Madrid* 163:1-10.
- Harrington, J.F. (1972) Seed storage and longevity. Pp. 145-245 in Kozlowski, T.T. (Ed.) *Seed biology*, Volume 3. New York and London, Academic Press.
- Hong, T.D. and R.H. Ellis. (1990). A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116:589-596.
- King, M.W. and E.H. Robert (1979). The storage o recalcitrant seeds: achievements and possible approaches. *Internatinal Board for Plant Genetic Resources*, Rome.
- Koostra, P.T. and Harrington, J.F. (1969). Biochemical effects of age on membrane lipids of *Cucumis sativus* L. *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, 341:329-340.
- Kozlowski, T.T. (1972). *Seed Biology*. Volumen III. Academic Press. New York. London.
- Normah, M.M., H.F. Ching and Y.L. Hor (1986). Desiccation and cryopreservation of embrionic axes of *Hevea brasiliensis* Muell.- Arg. *Pertanika* 9:299-303.
- Peñuelas, J.L. y L. Ocaña (1996). *Cultivo de plantas forestales en contenedor. Principios y fundamentos*. Mundiprensa. Madrid.
- Pérez-García, F. (2002). Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas: 51-68. En *Conservación y caracterización de recursos fitogenéticos*. (Ed. González-Andrés, F. y J.M: Pita). INEA. Madrid.

- Pritchard, H.W. (1991). Water potential and embrionic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. *Ann. Bot.* 67:43-49.
- Robert, E. H. (1973). Predicting the storage life of seeds. *Seed Sci. and Techn.* 1:499-514.
- Suszka, B. (1971-1974). Studies on the long-term storage of acorns. Annual Reports, Polish Academy of Sciences, Institute of Dendrology, Kornik, Poland.