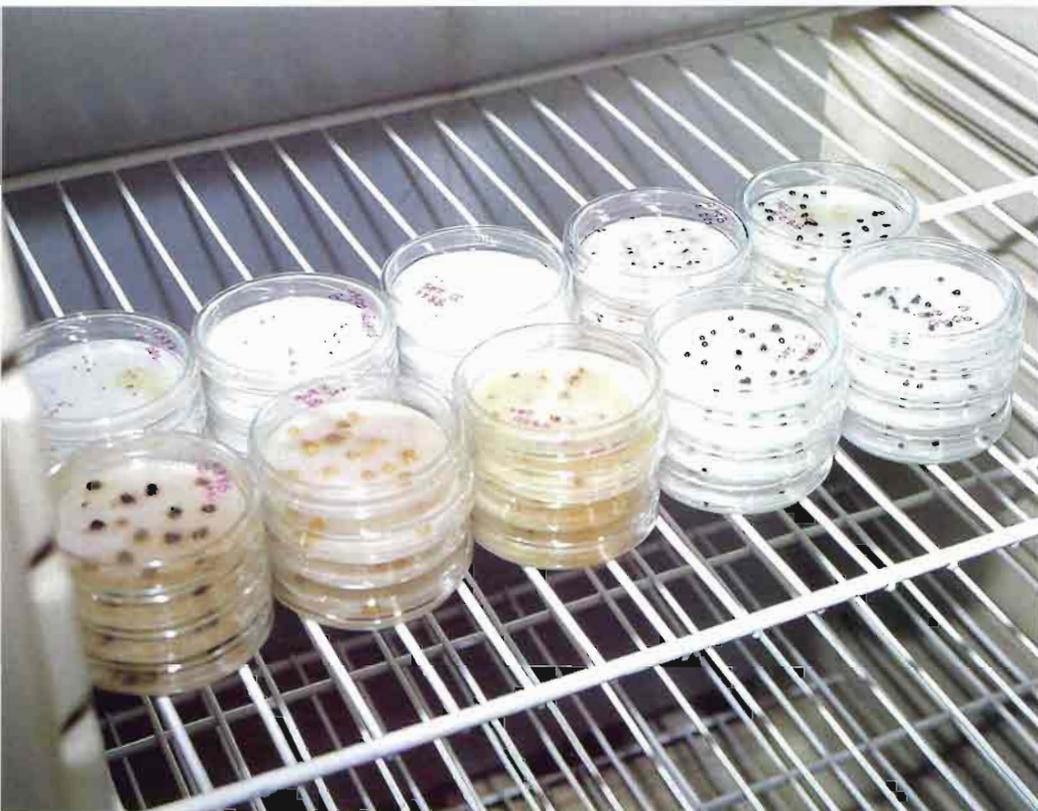


# VIABILIDAD, VIGOR, LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS



**Félix Pérez García**

*Dr. Ingeniero Agrónomo*

**José Manuel Pita Villamil**

*Dr. Ciencias Biológicas*

Dpto. Biología Vegetal

E.U.I. Técnica Agrícola

Universidad Politécnica de Madrid



MINISTERIO  
DE AGRICULTURA, PESCA  
Y ALIMENTACIÓN

SUBSECRETARÍA

SECRETARÍA GENERAL  
TÉCNICA

---

# **VIABILIDAD, VIGOR, LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS**

## **INTRODUCCIÓN**

La mayoría de las plantas, y en concreto las utilizadas por el hombre como plantas cultivadas, utilizan semillas para reproducirse. No obstante, en muchas ocasiones, las semillas tras su maduración y dispersión no son capaces de germinar, o bien porque son durmientes o bien porque las condiciones ambientales no les son favorables. En esta situación las semillas comienzan a deteriorarse lo que se manifiesta por la progresiva pérdida de su capacidad de germinar (viabilidad) y de dar lugar a plántulas sanas y vigorosas (vigor). El tiempo que tardan las semillas en perder su viabilidad (longevidad) es variable según las especies y dependiente de factores tanto externos (temperatura ambiental), como internos (contenido en humedad, genotipo, etc.) a las propias semillas.

Dada la importancia de todos estos aspectos en el ámbito de la fisiología y tecnología de semillas, se han desarrollado diferentes protocolos para evaluar la viabilidad y vigor de las semillas, así como para lograr condiciones de almacenamiento que aseguren una mayor longevidad.

## **VIABILIDAD**

La viabilidad de un lote de semillas, no durmientes, hace referencia a su capacidad de germinar y de originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables.



Fig. 1.- Los ensayos de germinación se pueden realizar disponiendo las semillas en placas Petri, sobre papel de filtro humedecido con agua destilada.



Fig. 2.- Cámara de incubación con control de iluminación y temperatura, utilizada para ensayos de germinación.

---

---

Para evaluar y cuantificar la viabilidad se pueden realizar diferentes tipos de test, entre los que destacan: ensayos de germinación, test del tetrazolio y radiografía con rayos X.

### **a) Ensayos de germinación**

Si una semilla es viable, y no presenta dormición, germinará cuando se la ponga en las condiciones adecuadas de humedad, luz y temperatura. Por ello se acepta que la capacidad germinativa de un lote de semillas es un reflejo directo de su viabilidad.

Para la realización de este tipo de ensayos, las semillas se disponen sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, en placas Petri (Figura 1) o en bandejas; incubándose, a continuación, en cámaras de germinación con control de temperatura e iluminación (Figura 2). La emergencia de la radícula es el criterio que se suele utilizar para determinar si una semilla ha germinado, expresándose los resultados obtenidos como porcentaje de semillas germinadas (porcentaje de viabilidad).

### **b) Ensayo topográfico al tetrazolio**

Este ensayo es especialmente indicado para conocer la viabilidad de semillas que presentan dormición, o con una velocidad de germinación muy baja. El ensayo al tetrazolio presenta las ventajas de que puede realizarse rápidamente y no requiere un equipamiento muy sofisticado. La metodología de este ensayo ha sido puesta a punto para numerosas especies de plantas cultivadas por la ISTA (International Seed Testing Association) (Ver Bibliografía).

El ensayo se basa en que una vez que los diferentes tejidos de la semilla se han hidratado, en el embrión se activan rutas metabólicas, en las que muchas de las reacciones químicas empleadas son reacciones de oxidación. En estas reacciones se liberan electrones capaces de reducir a ciertas sustancias químicas. Este hecho puede ser utilizado para estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por tanto de su viabilidad.

Entre las sustancias más frecuentemente usadas para detectar la actividad metabólica de las semillas, se encuentran las **sales de**



Fig. 3.- Evaluación de la viabilidad de dos lotes de granos de maíz mediante un ensayo al tetrazolio.

**tetrazolio.** Las soluciones de estas sales (cloruro o bromuro de 2,3,5-trifeniltetrazolio) son incoloras, pero cuando se reducen se transforman en trifenilformazán, una sustancia estable, no difusible y de un color rojo intenso.

Al colocar una semilla viable en contacto con una solución de tetrazolio, los electrones liberados, en los tejidos del embrión, reducirán a las sales de tetrazolio, con lo que éstos adquirirán un color rojo intenso; si la semilla no es viable, el embrión no cambiara de color (Figura 3).

A veces, los embriones se colorean parcialmente, lo que indica la existencia de áreas de tejidos muertos, debido al deterioro de la semilla. En estos casos, la posición y el tamaño de las áreas necróticas, y no necesariamente la intensidad del color, es el índice que se utiliza para clasificar a las semillas como viables o no viables (Figura 4). Para cada especie, la viabilidad de las semillas se evalúa mediante la comparación de las áreas coloreadas del embrión con los patrones de

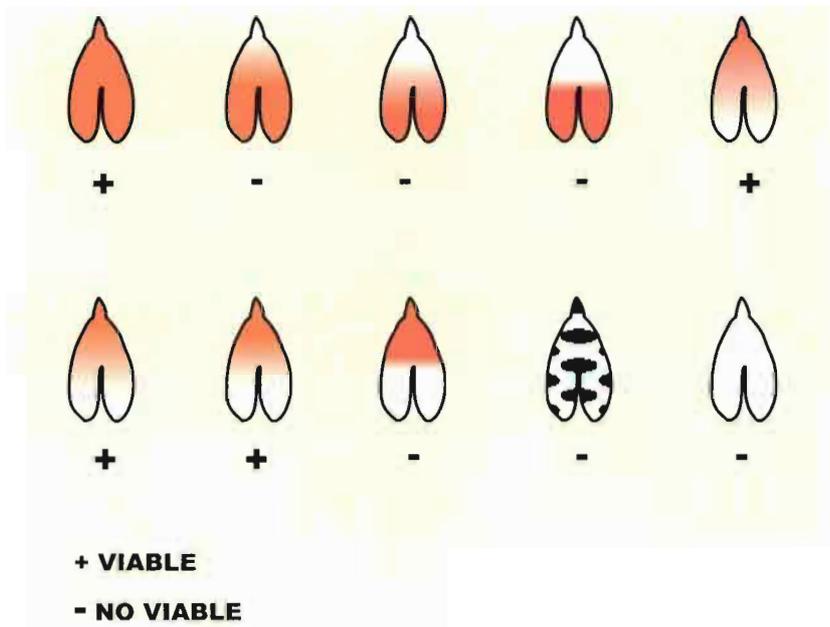


Fig. 4.- En un ensayo al tetrazolio, los diferentes patrones de tinción que pueden presentar los embriones, deben ser evaluados según las tablas establecidas, para diferentes especies, por los organismos de control de calidad de las semillas.

referencia establecidos por los organismos oficiales para el control de calidad de las semillas.

### c) Radiografía con rayos X

Es un ensayo rápido y no destructivo que se suele emplear para evaluar la viabilidad de semillas de especies forestales. Presenta el inconveniente de que es necesario un equipamiento costoso para su realización.

En las radiografías que se obtienen se pueden diferenciar entre semillas sin embriones (semillas vanas), de las que tienen un embrión bien formado; así como distinguir si en el embrión existen malformaciones o algún tipo de daños: mecánicos, por insectos, etc.



## VIGOR

El vigor de un lote de semillas se define como el conjunto de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de las semillas durante la germinación y posterior emergencia de las plántulas. Las semillas con buen comportamiento se consideran semillas de alto vigor.

El vigor de un lote de semillas es el resultado de la interacción de toda una serie de características de las semillas:

- Constitución genética.
- Condiciones ambientales y nutricionales a que ha estado sometida la planta madre durante el periodo de formación.
- Grado de madurez.
- Tamaño, peso y densidad.
- Integridad mecánica.
- Grado de deterioro y envejecimiento.
- Contaminación por organismos patógenos.

Dado que un lote de semillas de alto vigor producirá más plántulas normales y con tasas elevadas de crecimiento, los ensayos que se utilizan para evaluar el vigor de las semillas consideran el número y las características de las plántulas obtenidas, como son su apariencia, malformaciones y velocidad de crecimiento.

Entre los ensayos de vigor utilizados más frecuentemente se pueden describir los siguientes:

### **a) Ensayos de crecimiento y evaluación de plántulas**

En este tipo de ensayos se mide la longitud de diversas partes de la plántula al cabo de un determinado periodo de desarrollo. Por ello son especialmente apropiados en especies cuyas plántulas tienen un vástago<sup>1</sup> recto y estrecho, trigo (*Triticum* spp.), cebada (*Hordeum* spp.), maíz (*Zea mays*), o que presentan raíces simples, lechuga (*Lactuca sativa*).



Fig. 5.- Las características de las plántulas (color, malformaciones, etc.) son indicadores utilizados para determinar el vigor de los lotes de semillas.

En el caso de que las mediciones sean complejas de realizar por las características de la plántula, la evaluación se centra en su aspecto. Así por ejemplo, en guisante (*Pisum sativum*), se consideran plántulas de alto vigor las que presentan un vástago bien desarrollado, de color verde oscuro y con una raíz principal fuerte o, en el caso de no existir, con numerosas raíces laterales.

#### **b) Ensayo de frío**

En este ensayo, se utiliza principalmente en maíz (*Zea mays*), y en el se evalúa el vigor, indirectamente, a través del efecto que tiene el tratamiento de los granos con bajas temperaturas, sobre el posterior crecimiento y desarrollo de las plántulas. Para ello se mantienen los granos de maíz durante 7 días en oscuridad, a 10 °C y un 95% de humedad relativa, incubándose, a continuación, con iluminación y a 25 °C. Las plántulas que se obtienen se evalúan cuando hayan desarrollado dos o tres hojas y la raíz mide unos 20 cm.



### **c) Ensayo de conductividad eléctrica**

Este ensayo se basa en que el deterioro de las semillas y su pérdida de vigor está asociado a alteraciones de las membranas celulares, que implican un incremento de la salida de compuestos solubles (lixiviados) desde las semillas.

Aunque para la realización de este ensayo existen diversos protocolos, se recomienda sumergir las semillas durante 24 horas en agua desionizada a 20-25 °C y a continuación, decantar el agua y medir su conductividad eléctrica. Una mayor conductividad indica una mayor presencia de iones (lixiviados), lo que se puede correlacionar con una menor emergencia de plántulas.

### **d) Ensayo de envejecimiento acelerado**

El envejecimiento acelerado de las semillas se logra sometiéndolas a condiciones en las que se produce un deterioro muy rápido: temperaturas elevadas (40-45 °C) durante periodos variables según la especie (48 a 72 horas) y alta humedad ambiental.

Tras el tratamiento, se evalúa la capacidad germinativa de las semillas, considerando más vigorosos aquellos lotes que son capaces de producir un mayor número de plántulas normales.

## **LONGEVIDAD**

La longevidad de un lote de semillas es el tiempo que pueden mantenerse viables en unas determinadas condiciones de temperatura y contenido de humedad.

De forma natural las semillas presentan una longevidad que varía entre especies; mientras que las semillas de chopo (*Populus* spp.) o de arce (*Acer* spp.) permanecen viables sólo durante unas pocas semanas, las de muchas especies de Leguminosas pueden conservar la capacidad de germinar durante 150 a 200 años. En algunos casos estas diferencias se manifiestan incluso entre diferentes subespecies, cultivares o líneas genéticas. Así, hay cultivares de arroz (*Oryza sativa*) o

ESPECIE	PERÍODO DE ALMACENAMIENTO (AÑOS)	GERMINACIÓN (%)
<i>Phaseolus vulgaris</i> (judía)	18	99
<i>Beta vulgaris</i> (remolacha)	22	75
<i>Daucus carota</i> (zanahoria)	20	63
<i>Zea mays</i> (maíz)	32	79
<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	30	77
<i>Solanum melongena</i> (berenjena)	20	86
<i>Cucumis melo</i> (melón)	30	96
<i>Allium cepa</i> (cebolla)	22	75
<i>Pisum sativum</i> (guisante)	31	78
<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)	43	76
<i>Citrus lanatus</i> (sandía)	30	92

Tabla 1.- Porcentajes de germinación de semillas de diferentes especies cultivadas después de diferentes periodos de almacenamiento. Fuente: Varias

mutantes de maíz cuyas semillas envejecen más deprisa que las de otros. No obstante, la longevidad media de la mayoría de las semillas se puede situar entre 5 y 25 años (Tabla I).

Diferentes causas han sido indicadas para justificar el progresivo deterioro de las semillas: disminución de reservas, alteraciones del material genético y acumulación de metabolitos tóxicos.

La disminución, a lo largo del tiempo, de las sustancias nutritivas de la semilla podría justificar su pérdida de viabilidad. Sin embargo, la mayoría de las semillas conservan la mayor parte de sus reservas cuando ya han perdido la capacidad de germinar. Así, en granos de cereales, la cantidad de almidón almacenado permanece constante durante el envejecimiento y sólo se detecta la desnaturalización de algunas proteínas y la hidrólisis parcial de lípidos. Otra causa más factible es la acumulación de alteraciones en el material genético, así en meristemos radiculares de semillas de haba (*Vicia faba*) y en ejes embrionarios de semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) y soja (*Glycine max*), sometidos a tratamientos de envejecimiento acelerado, se detecta un aumento significativo de la frecuencia media de células que presentan aberraciones cromosómicas.



No obstante, es la acumulación de metabolitos tóxicos para el embrión, la que parece ser la principal causa del deterioro de las semillas. De hecho en semillas envejecidas artificialmente, se detecta un aumento del contenido de ciertos compuestos como el ácido láctico y el ácido cítrico, originados como subproductos de la actividad metabólica de las semillas.

Por todo lo anterior, los protocolos para aumentar la longevidad de las semillas tienen como objetivo principal disminuir al máximo la actividad metabólica y con ello los procesos responsables del deterioro de la semilla. Ésto se puede lograr almacenándolas a bajas temperaturas y/o disminuyendo su contenido de agua, lo que se resume en las denominadas Reglas de Harrington:

- 1. La longevidad de una semilla se duplica por cada cinco grados centígrados que se disminuye su temperatura de conservación (un lote de semillas conservado a 5 °C, vivirá ocho veces más que otro lote equivalente conservado a 20 °C).*
- 2. Cada unidad porcentual que se rebaje en el contenido de humedad de una semilla, duplicará su longevidad (un lote de semillas con un contenido medio de humedad del 6% vivirá dieciséis veces más que otro con un contenido del 10%).*

Tanto la disminución de la temperatura de almacenamiento como la desecación de las semillas tienen sus límites: las temperaturas extremadamente bajas conllevan la formación de hielo intracelular y una disminución del contenido de humedad por debajo del 2-3% afecta al agua de constitución de las diferentes estructuras y orgánulos celulares, produciéndose, en cualquiera de los dos casos, un deterioro irreversible de los tejidos de la semilla.

## **CONSERVACIÓN DE SEMILLAS**

Desde el inicio de la Agricultura, el almacenamiento de semillas ha sido una práctica habitual de los agricultores, ya sea para su siembra o para su uso como alimento. No obstante, no es hasta mediados del

---

siglo XX cuando se comienzan a establecer instituciones dedicadas, de forma sistemática, a la conservación a largo plazo de semillas. En ellas las semillas desecadas se almacenan, en recipientes herméticos, en cámaras a bajas temperaturas. Sin embargo dado que no todas las semillas son capaces de resistir la desecación, se distinguen dos grandes grupos:

- **Semillas ortodoxas:** Son semillas que permanecen viables después de su desecación (admiten ser desecadas hasta un 5-10% de contenido de humedad). La mayor parte de las semillas de las especies cultivadas en las regiones templadas se incluyen dentro de este tipo.
- **Semillas recalcitrantes:** Son semillas que pierden rápidamente su viabilidad al ser desecadas (su contenido de humedad no puede ser menor de un 12-30%). Suelen ser semillas de plantas tropicales y subtropicales, algunas de gran importancia económica: aguacate (*Persea americana*), cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea* spp.), mango (*Mangifera indica*), árbol del caucho (*Hevea brasiliensis*), cocotero (*Cocos nucifera*); o bien semillas de especies arbóreas de zonas templadas, generalmente de gran tamaño, haya (*Fagus sylvatica*), arce (*Acer* spp.), castaño (*Castanea sativa*), encina, roble (*Quercus* spp.).

Por ello las principales colecciones de semillas son de especies con semillas ortodoxas (Tabla 2), que en teoría pueden alcanzar longevidades muy elevadas, debido al efecto combinado de las bajas temperaturas y de la desecación. Así por ejemplo, si un lote de semillas de cereal conservadas con un contenido de humedad de un 10%, a una temperatura media de 20 °C, puede mantenerse viable durante diez años; ese mismo lote previamente desecado hasta un 5% de humedad y conservado en una cámara a -5 °C, según las Reglas de Harrington, se mantendría viable durante más de diez mil años ( $2^5 \times 2^5 \times 10$  años).

Si bien las reglas de Harrington son sólo extrapolaciones de los resultados obtenidos en ensayos experimentales, principalmente de



GRUPO DE CULTIVO	GÉNERO	NÚMERO DE MUESTRAS	GRUPO DE CULTIVO	GÉNERO	NÚMERO DE MUESTRAS
<b>CEREALES</b>			<b>OLEAGINOSAS</b>		
Trigo	<i>Triticum</i>	784.500	Girasol	<i>Helianthus</i>	29.500
Cebada	<i>Hordeum</i>	485.000	<b>Total</b>		<b>29.500</b>
Arroz	<i>Oryza</i>	420.500	<b>AZUCARERAS</b>		
Maíz	<i>Zea</i>	277.000	Remolacha	<i>Beta</i>	24.000
Avena	<i>Avena</i>	222.500	Caña de azúcar	<i>Saccharum</i>	19.000
Sorgo	<i>Sorghum</i>	168.500	<b>Total</b>		<b>43.000</b>
Mijo	<i>Panicum</i>	90.500	<b>LEGUMINOSAS FORRAJERAS</b>		
Centeno	<i>Secale</i>	27.000	Trébol	<i>Trifolium</i>	61.500
<b>Total</b>		<b>2.475.500</b>	Medicago	<i>Medicago</i>	33.000
<b>LEGUMINOSAS</b>			Veza	<i>Vicia</i>	26.500
Judía	<i>Phaseolus</i>	268.500	Almorta	<i>Lathyrus</i>	13.500
Soja	<i>Glycine</i>	174.500	<b>Total</b>		<b>134.500</b>
Cacahuete	<i>Arachis</i>	81.000	<b>GRAMÍNEAS FORRAJERAS</b>		
Guisante	<i>Pisum</i>	72.000	Dactilo	<i>Dactylis</i>	27.000
Garbanzo	<i>Cicer</i>	67.500	Cañuela	<i>Festuca</i>	24.000
Haba	<i>Vicia</i>	29.500	Ballico	<i>Lolium</i>	24.000
Altramuz	<i>Lupinus</i>	28.500	Mijo	<i>Panicum</i>	21.000
Lenteja	<i>Lens</i>	26.500	Fleo	<i>Phleum</i>	9.000
<b>Total</b>		<b>748.000</b>	Poa	<i>Poa</i>	8.000
<b>HORTALIZAS</b>			Bromo	<i>Bromus</i>	4.500
Brassica	<i>Brassica</i>	109.000	<b>Total</b>		<b>117.500</b>
Tomate	<i>Lycopersicon</i>	78.000	<b>TEXTILES</b>		
Pimiento	<i>Capsicum</i>	53.500	Algodón	<i>Gossypium</i>	49.000
Cebolla/ajo	<i>Allium</i>	25.500	Lino	<i>Linum</i>	25.000
Cucurbita	<i>Cucurbita</i>	17.500	<b>Total</b>		<b>74.000</b>
Zanahoria	<i>Daucus</i>	6.000			
Rábano	<i>Raphanus</i>	5.500			
<b>Total</b>		<b>295.000</b>			

Tabla 2.- Número de muestras almacenadas, en instituciones internacionales, de los principales grupos de cultivos. Fuente: FAO ([www.fao.org](http://www.fao.org)).

envejecimiento acelerado, aunque se cumplieran sólo parcialmente, nos asegurarían la conservación de las semillas, de un modo relativamente económico, durante largos periodos de tiempo (Figura 6).

Por ello el IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) recomienda el siguiente protocolo para la conservación de semillas ortodoxas a largo plazo, más de 10 años (**colecciones base**):

- Dsecación de las semillas a 15 °C y 10-15% de humedad relativa, hasta alcanzar un contenido de humedad entre el 4-7%.



Fig. 6.- En el centro de Recursos Fitogenéticos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación se almacenan, en colecciones base y colecciones activas, miles de muestras de semillas pertenecientes a especies de interés agrícola.

- Introducción de las semillas en recipientes herméticos.
- Conservación de las semillas en cámaras a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Para la conservación a medio plazo, menos de 10 años (**colecciones activas**), se recomienda la conservación de las semillas con un contenido de humedad del 7-8% y a una temperatura de almacenamiento comprendida entre  $0^{\circ}\text{C}$  y  $10^{\circ}\text{C}$ . Estas son colecciones que suelen utilizarse con diversos fines, tales como investigación básica, caracterización o programas de mejora.

Con independencia de las condiciones de almacenamiento utilizadas, se debe controlar periódicamente la viabilidad de las muestras conservadas. Si la germinación de la muestra es inferior al 85% en colecciones base y a un 65% en colecciones activas, se recomienda su regeneración, ya sea mediante nuevas recolecciones o por multiplicación a partir de las semillas que aún son viables.



Fig. 7.- La criopreservación (almacenamiento en nitrógeno líquido) es una alternativa a los métodos tradicionales de conservación de semillas.

La dificultad de conservar semillas recalcitrantes, dada su sensibilidad a la desecación y, en numerosos casos, también a las bajas temperaturas, hace que se deba seguir otro tipo de protocolos, en los que se recomienda se tengan en cuenta los siguientes puntos:

- Periodos de conservación limitados (inferiores a un año).
- Conservación en condiciones de elevada humedad relativa.
- Utilización de sistemas de conservación alternativos, como la **criopreservación** de las semillas o de sus ejes embrionarios a temperaturas por debajo de  $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 7). Ya que a estas temperaturas se detiene por completo el metabolismo, con ello se asegura, en teoría, la viabilidad indefinida del material almacenado.

---

---

## BIBLIOGRAFÍA

Besnier Romero, F. 1989. *Semillas. Biología y Tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 637 pp.

Hong, T.D. y Ellis, R.H. 1996. *A Protocol to Determine Seed Storage Behaviour*. IPGRI Technical Bulletin No. 1. (J.M.M. Engels y J. Toll, eds.), International Plant Genetic Resources Institute, Roma, 62 pp.

Iriondo, J.M. y Pérez, C. 1999. Propagation from seeds and seed conservation. En: *Plant Conservation and Propagation* (B.G. Bowes, ed.), Manson Publishing, Londres, pp. 46-57.

ISTA. 1995. *Seed Vigour Testing*. International Seed Testing Association, Zúrich, 97 pp.

ISTA. 1996. *International Rules for Seed Testing. Rules 1996*. International Seed Testing Association, Zúrich, 335 pp.

MAPA. 1984. *Manual de Métodos de Ensayos de Vigor*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 56 pp.

MAPA. 1992. *Manual para la Evaluación de Plántulas en Análisis de Germinación*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 130 pp.

Pita Villamil, J.M. y Pérez García, F. 1998. Germinación de Semillas. Hojas Divulgadoras. Núm. 2090-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 20 pp.

Pérez García, F. y Pita Villamil, J.M. 1999. Dormición de Semillas. Hojas Divulgadoras. Núm. 2103-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 20 pp.

<sup>1</sup> Conjunto constituido por el eje caular o tallo y las hojas



CENTRO DE PUBLICACIONES

Paseo de la Infanta Isabel, 1 - 28014 Madrid