

La viabilidad de semillas y su estimación en condiciones de laboratorio

Por: José M^a Durán Altisent* y Jesús del Hierro Zarzuelo*

INTRODUCCION

Con una frecuencia mayor de lo que sería de desear, los términos *germinación*, *vigor* y *viabilidad*, presentes en un mismo lote de semillas (MARTINEZ-VASSALLO y DURAN, 1991), suelen confundirse y pueden llegar a ser empleados erróneamente. En este artículo, después de definir brevemente cada uno de ellos, se plantea la problemática que presenta la medida de la viabilidad de las semillas comerciales y se analizan algunas de las técnicas más comúnmente utilizadas para analizar en condiciones de laboratorio la viabilidad de un lote de semillas. Por último se presenta uno de los modelos más conocido (ELLIS Y ROBERTS, 1981) para predecir la viabilidad que cabe esperar de un lote de semillas cuando se conserva en condiciones controladas de humedad y temperatura, analizando los resultados que se obtienen cuando se aplica a semillas bien conocidas por su larga o corta longevidad, como son las de cebada y cebolla respectivamente.

GERMINACION

Los ensayos de germinación realizados en condiciones estrictamente controladas de humedad, temperatura, aireación y en algunos casos iluminación, constituyen los métodos mejor conocidos y más comúnmente empleados para estimar la viabilidad de un lote de semillas.

(*) Departamento de Producción Vegetal: Fito-tecnia. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

De acuerdo con las recomendaciones facilitadas por distintos organismos internacionales como la ISTA (*International Seed Testing Association*) o la AOSA (*Association of Official Seed Analysts*), se entiende que una semilla ha germinado cuando, en condiciones de laboratorio, es capaz de generar una plántula normal hasta alcanzar un estado tal, en el que el aspecto de sus estructuras esenciales permita señalar si va a ser capaz o no de transformarse en una planta normal, bajo condiciones favorables en el ambiente en el que se desarrolle (INSPV, 1985).

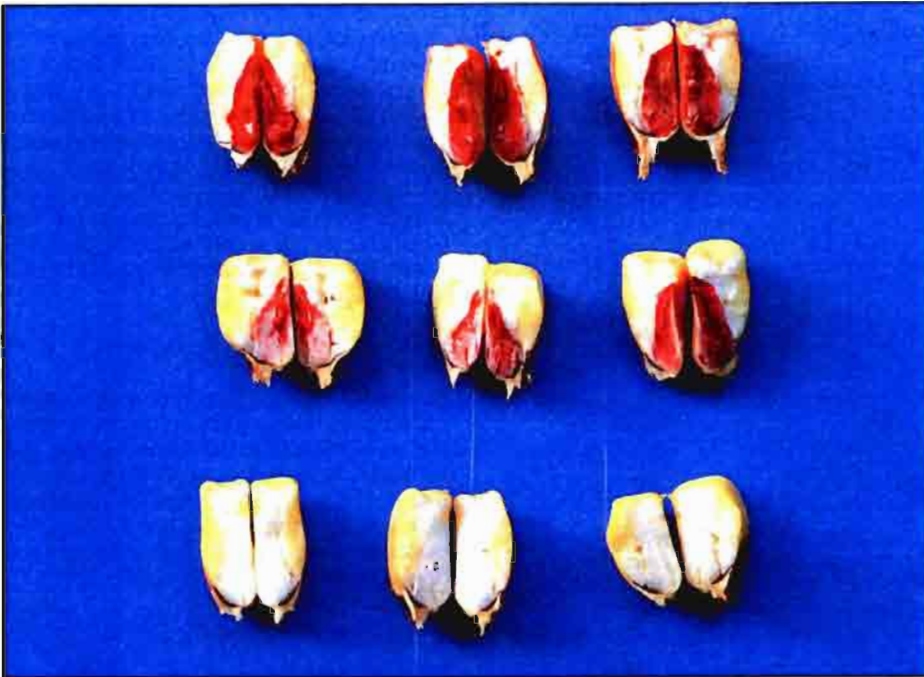
Para que un test de germinación pueda utilizarse como un índice para comparar muestras o lotes entre sí, las semillas empleadas en el test deben ser representativas del lote elegido y el ensayo de germinación debe haberse realizado en condiciones favorables estrictamente controladas (INSPV, 1985). Los resultados de un ensayo de germinación se expresan como porcentaje de semillas puras que, bajo determinadas condiciones de laboratorio, se han transformado en plántulas normales (INSPV, 1980).

El porcentaje de germinación pocas veces coincide con el porcentaje de plántulas que emergen del suelo con motivo de la siembra. Este hecho no debe sorprendernos ya que, si bien se trata en ambos casos del mismo lote de semillas, las condiciones de sustrato, humedad, temperatura e iluminación, pueden llegar a ser completamente distintas. De ahí que, el porcentaje de germinación nunca debe ser considerado como un valor absoluto; por el contrario, debe ser considerado como un índice relativo que permite comparar la calidad de dos o más lotes de semilla.

El hecho de que lotes distintos de semilla con un porcentaje de germinación similar den lugar a porcentajes de emergen-

cia de plántulas diferentes, cuando se siembran en condiciones de campo, nos lleva normalmente a expresar esta respuesta diferencial en términos de **vigor**. Desde hace varios años, los organismos internacionales que se ocupan del control y de la calidad de las semillas han tratado de establecer —sin éxito en la mayor parte de los casos— un concepto que permita distinguir las semillas que, además de germinar normalmente se desarrollan mejor en condiciones de campo, de aquellas que aun germinando bien, luego se desarrollan peor en condiciones de campo. A pesar de que el parámetro buscado ha recibido distintos nombres (energía germinativa, vitalidad, fuerza de la semilla, etc.), el éxito alcanzado por el momento, medido en términos de acuerdo internacional es más bien escaso. El Comité de Vigor de la ISTA (INSPV, 1984) define el vigor como: La suma de aquellas propiedades de la semilla que determinan el nivel de actividad y la capacidad de la semilla o de un lote, durante la germinación y emergencia de la plántula. Según esta definición, las semillas que presentan un buen comportamiento se denominan de "alto vigor" y las que no lo presentan de "bajo vigor".

Diversas causas, unas inherentes a la propia semilla o a la planta madre de la que proceden, y otras estrechamente relacionadas con el medio donde se sitúan las semillas o la técnica de cultivo, pueden influir de forma significativa sobre el vigor que presenta un lote de semillas. Algunas de las más importantes dentro de las primeras son las siguientes: a) Constitución genética y condiciones ambientales y nutricionales de la planta madre; b) estado de madurez, tamaño, peso y/o densidad de la semilla en el momento de la cosecha; c) integridad física de la semilla en el momento de la siembra; d) grado de deterioro



Granos de maíz teñidos con sales de tetrazolio (2,3,5-trifenil tetrazolio) para determinar su viabilidad. Las zonas del embrión coloreadas de rojo (color oscuro en la Figura) ponen de manifiesto la actividad metabólica del embrión y por tanto su viabilidad, frente a los embriones no coloreados.

y envejecimiento de la semilla y e) posibles ataques de patógenos, durante la fase de maduración de la semilla o durante el período de almacenamiento previo de la siembra.

Por lo general, un lote de semilla pura está compuesto por semillas de distinta naturaleza que, en un ensayo de germinación darán lugar a plántulas de distintos tipos: a) Plántulas normales o con ligeros defectos en sus estructuras básicas; b) plántulas con síntomas de infecciones secundarias y c) plántulas anormales. El porcentaje de germinación está compuesto únicamente por las semillas que dan lugar a los dos primeros tipos de plántulas (a y b). Las plántulas anormales (c) incluyen plántulas con lesiones, deformaciones y/o desequilibrios importantes, cuyas características han sido previamente descritas y plántulas enfermas.

SEMILLAS LATENTES

Las semillas latentes, también denominadas durmientes por algunos autores, son aquellas que una vez finalizado el período de germinación permanecen sin germinar, con lo cual no es posible apreciar a simple vista su capacidad potencial de desarrollo. Dentro de esta categoría se incluyen dos tipos de semillas: a) Latentes, propiamente dichas y b) duras. Las semillas "duras" son especialmente abundantes en

la Familia de las Leguminosas (alfalfa, trébol, veza, etc.) y se suelen reconocer fácilmente a simple vista o con una ligera presión practicada con los dedos o con unas pinzas.

Desde el punto de vista fisiológico la latencia de semillas puede deberse a varias causas: a) **Presencia de embriones rudimentarios**, como ocurre en el caso de algunas semillas de pequeño tamaño (orquideas); b) **presencia de embriones fisiológicamente inmaduros**, como es el caso de algunas semillas que poseyendo las reservas necesarias para iniciar su desarrollo, son incapaces de germinar porque carecen de la actividad enzimática indispensable para reanudar su metabolismo; c) **presencia de inhibidores**, como compuestos fenólicos o ácido abscísico que deben ser eliminados antes de que pueda iniciarse la germinación, como ocurre en los hayucos (*Fagus sylvatica*) o en la mostaza silvestre (*Sinapis arvensis*); d) **presencia de tegumentos impermeables**, ya sea al intercambio de agua o de los gases (OWW y COWW), como ocurre en varias especies dentro de las Leguminosas (alfalfa, esparceta, tréboles, veza, zulla, etc.) y e) **presencia de cubiertas mecánicamente resistentes**, como es el caso de los huesos de algunas especies frutales (almendro, avellano, melocotonero, etc.).

En la literatura publicada en el mundo de las semillas existe una amplia informa-

ción sobre las técnicas y métodos que se pueden utilizar para acabar con la latencia, dormición o reposo en que pueden encontrarse las semillas. La estratificación fría o fría/caliente, la escarificación mecánica con medios abrasivos como el papel de lija o la agitación con arena, o la escarificación química con ácido sulfúrico o nítrico concentrado, durante cortos períodos de tiempo (1-15 min), suele dar buenos resultados en semillas con tegumentos impermeables o cubiertas lignificadas. El almacenamiento en seco, las bajas temperaturas (0-5 C), un parcelamiento (80-100 C) corto, la luz roja ($\lambda = 660 \text{ nm}$), o los pre-tratamientos con nitrato potásico o reguladores de crecimiento como el ácido giberélico (GA3) pueden facilitar la germinación permitiendo de este modo la evaluación del lote.

ENSAYO TOPOGRAFICO DEL TETRAZOLIO

La incubación de las semillas que permanecen sin germinar en presencia de sales de tetrazolio o formazán permite, en algunos casos, adquirir una idea aproximada de la viabilidad de las semillas. (Fig. 1).

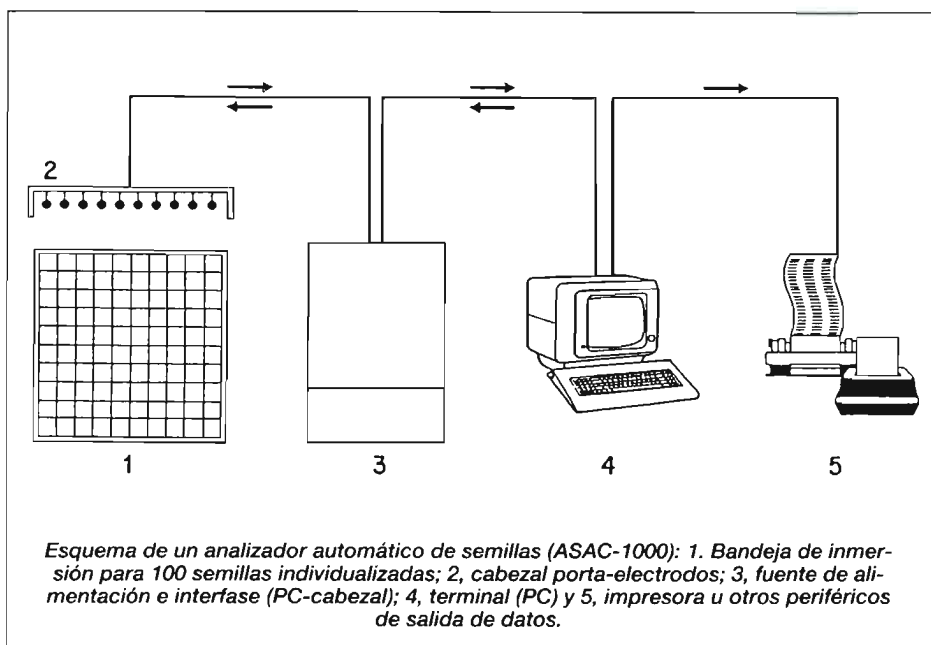
La metodología a seguir para realizar este ensayo ha sido ampliamente recogida por la ISTA para un gran número de especies de interés agrícola (INSPV, 1987). El procedimiento operativo es muy simple, consiste en introducir a las semillas en una solución de 2,3,5-cloruro de trifenil tetrazolio (1%). En algunos casos es necesario humedecer previamente las semillas para facilitar la penetración de las soluciones de tetrazolio. Transcurrido el tiempo recomendado por la ISTA para cada especie, las estructuras inicialmente incolores, en las que se haya desarrollado una cierta actividad redox (oxidación/reducción) aparecerán teñidas con un color rojo rosa característico. Comparando las zonas de color que se aprecian en la semilla con unos patrones de referencia es posible evaluar la viabilidad de la semilla.

ENSAYO DE LA CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

La intensidad de corriente eléctrica (ICE) que es capaz de conducir una solución acuosa en la que se han sumergido semillas durante un período de tiempo determinado, es una medida indirecta del grado de deterioro de sus membranas celulares y de la integridad de sus cubiertas.

Cuando una semilla se sumerge en agua destilada/desionizada libera iones que son capaces de conducirla corriente eléctrica (ICE) que es capaz de conducir una solución acuosa en la que se han sumergido semillas durante un período de tiempo determinado, es una medida indi-

SEMILLAS • CULTIVOS



ruido desde el momento inicial. A modo de ejemplo, las Fig. 3 y 4 ilustran como cabe esperar que evolucione la viabilidad de un lote de semillas de cebada (Fig. 3) y cebolla (Fig. 4), al ser conservados bajo diferentes condiciones de desecación (humedad de la semilla: 5 y 10%) y temperatura (desde -15 hasta 25 C). El modelo utilizado para este ejemplo ha sido propuesto por Ellis y Roberts (ELLIS and ROBERTS, 1981) para semillas no recalcitrantes y adoptada la siguiente expresión:

$$V = K_i - p / 10 \exp (K_e - C_w \log m - C_h t - C_q t^2)$$

donde: K_e , C_w , C_h y C_q representan cuatro constantes que dependen de cada especie; m , el contenido (%) en humedad de la semilla; t , la temperatura (C) de almacenamiento; p , el período (días) de conservación y K_i y V , la viabilidad inicial y final respectivamente, expresadas ambas en unidades Probit.

recta del grado de deterioro de sus membranas celulares y de la integridad de sus cubiertas.

El ensayo de la conductividad eléctrica (Fig. 2) constituye un método alternativo recomendado por la ISTA para estimar la viabilidad de algunas semillas. No obstante, por el momento se trata más bien de un método experimental, puesto a punto por algunos laboratorios para el control de calidad de algunas semillas como la soja, el girasol y el maíz. El principal inconveniente que presenta es determinar a partir de que ICE podemos considerar que una semilla es viable o no viable; esta ICE normalmente recibe el nombre de intensidad de corriente eléctrica de partición (ICEP). Las principales ventajas de este método son su rapidez (4-24 h), fácil realización y, has-

ta cierto punto, es posible recuperar el material con el que se ha trabajado.

ESTIMACION DE LA VIABILIDAD DE SEMILLAS

Actualmente existen diversos modelos que permiten estimar de forma teórica y por lo tanto predecir, la viabilidad residual que presentará un lote de semillas tras un determinado período de conservación bajo determinadas condiciones de humedad y temperatura. Para ello, además de las características específicas o varietales de las semillas, tan sólo es preciso conocer las condiciones de almacenamiento, supuestamente constantes durante todo el período considerado, y el tiempo transcu-

BIBLIOGRAFIA

- ELLIS, R and ROBERTS, E.H. (1982). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science & Technology*, 9, 373-409.
- INSPV (1980). Manual para Evaluación de Plántulas en Análisis de Germinación. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid, 130 p.
- INSPV (1984). Manual de Métodos de Ensayos de Vigor. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid, 56 p.
- INSPV (1985). Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid, 184+ 54 p.
- INSPV (1987). Manual de Ensayos al Tetrazolio. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid, 92.
- MARTINEZ-VASSALLO, L. y DURAN, J.M. (1991). Viabilidad, germinación y vigor: Tres conceptos distintos para un mismo lote de semillas. III Symposium Nacional de Semillas, Sevilla, 13 p.

