

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Determination of safe storage under controlled for rootstock seed of 'Tahiti' limes

Determinación de condiciones controladas de almacenamiento seguro para semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahiti'

Alejandro Jaramillo¹, Mauricio Martínez¹,
Carolina Cardozo¹, Jesús Burgos¹

ABSTRACT

One of the disadvantages in agricultural production is the adequate and timely supply of seeds. The absence of controlled storage methods of citrus seeds in nurseries is the main limiting factor for the production of planting material, because 40% of this material is lost through poor physiological quality of the seeds. The objective of this study was to determine the best conditions for storing seeds of CPB Citrumelo 4475 [*Citrus paradise* Macfad. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], Sunki × English [*Citrus sunki* Hort. ex Tan × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] and 'Volkameriana' lemon (*C. volkameriana* Ten. and Pasq.), commonly used as rootstocks for 'Tahiti' limes (*C. latifolia* Tanaka). The seeds were packed in polyethylene bags and flasks with three levels of moisture on a fresh base: 10%-9%, 8%-7% and 6%-5%, under two storage conditions (10°C, 70% RH and 24°C, 80% RH) for 30, 90 and 180 days. The viability of the seeds was determined based on seed germination. Seeds from all evaluated plants reached a moisture level of 10%-9% after 3 days of drying at room temperature and levels of 8% to 7% and 6% to 5% after 2 hours and 14 hours when dried with silica gel. The highest germination values were between 0 and 30 days. The highest percentage of germination occurred with a moisture level of 10% and 9% for all tested citrus seeds. The experiment showed that the seeds from the three rootstocks had higher germination at an average temperature of 10°C with 70% RH. The type of packaging did not show significant differences.

Keywords: plant propagation, germination, moisture levels, seed drying

RESUMEN

Uno de los inconvenientes en la producción agrícola es el suministro adecuado y oportuno de semillas. La ausencia de métodos de almacenamiento controlado de semillas de cítricos en los viveros se convierte en la principal limitante para la producción de material de siembra, pues cerca del 40% de este material se pierde por mala calidad fisiológica de las semillas. El objetivo del trabajo fue determinar las condiciones para almacenar semillas de Citrumelo CPB 4475 [*Citrus paradisi* Macfad. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], Sunki × English [*Citrus sunki* Hort. ex Tan. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] y limón 'Volkameriana' (*Citrus volkameriana* Ten. y Pasq.), comúnmente utilizados como portainjertos de lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka). Las semillas fueron empacadas en bolsas y frascos de polietileno con tres niveles de humedad en base fresco del 10% a 9%, 8% a 7% y 6% a 5%, bajo dos condiciones de almacenamiento (10°C, 70 % HR y 24°C, 80% HR), durante 30, 90 y 180 días. El efecto de la desecación, el tiempo y el empaque de almacenamiento se midió en porcentaje de germinación. Las semillas de los tres portainjertos alcanzaron un nivel de humedad entre el 10% y 9% después de 3 días de secado a temperatura ambiente y niveles del 8% a 7% y 6% a 5% después de 2 y 14 horas de secado en sílica gel. Los mayores valores de germinación estuvieron entre los 0 y 30 días. El mayor porcentaje de germinación se presentó con el nivel de humedad entre el 10% y 9%, para todas las semillas de los cítricos evaluados. El experimento mostró que para las semillas de los tres materiales estudiados hubo mayor germinación a una temperatura promedio de 10°C con un 70% de HR. El tipo de empaque no presentó diferencias significativas.

Palabras clave: propagación vegetal, germinación, niveles de humedad, secado de semillas

INTRODUCCIÓN

La producción de cítricos es uno de los renglones económicos más importantes de la fruticultura en Colombia. Se estima que hay 62.000 ha sembradas en el país entre naranjas, mandarinas, limas ácidas y otros

Fecha de recepción: 01-12-2012
Fecha de aceptación: 13-12-2012

¹ Centro de Investigación Palmira, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Palmira (Colombia). ajaramillolv@corpoica.org.co

(DANE, 2011). Solo lima ácida 'Tahiti' ocupa cerca del 10% del área total sembrada, lo que la convierte en un cítrico de gran importancia, además de estar priorizado dentro de la oferta exportadora del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR, 2006).

Uno de los principales inconvenientes en la producción agrícola, es el suministro adecuado y oportuno de semillas. Para el caso de los cítricos la gran limitante está en la producción del material de propagación que se da a nivel de semilleros, debido a que cerca del 40% del material que se siembra se pierde por mala calidad fisiológica en las semillas y por no contar con los sustratos adecuados para el desarrollo de las plántulas (Alberto Sanínt comunicación personal, 2011). Lo anterior hace suponer que el gran porcentaje de pérdidas en la obtención de los portainjertos se debe a la falta de condiciones controladas de almacenamiento en los viveros. Se estima que en Colombia hay cerca de 102 viveros productores de árboles de cítricos que propagan las plantas con portainjertos provenientes de semilla sexual (ICA, 2012).

Las semillas están categorizadas en tres grandes grupos de acuerdo con la respuesta fisiológica a la desecación, a bajas temperaturas, y al tiempo de almacenamiento. Se categorizan como ortodoxas cuando toleran la desecación hasta 5%; recalcitrantes cuando son altamente sensibles a la desecación entre 15 y 20%; e intermedias cuando son relativamente tolerantes a la desecación, manteniendo niveles intermedios en el contenido de humedad entre 10% y 12,5%, como es el caso de café y algunas especies de cítricos (Hong y Ellis, 1996; Carvalho *et al.*, 2002; Magnitskiy y Plaza, 2007). Villegas y Andrade (2005), reportaron que semillas de mandarino 'Cleopatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan) con 30 d de almacenamiento alcanzan contenidos de humedad del 5%, catalogando estas semillas como ortodoxas. Otros autores como Bewley y de Black, 1994, sugieren que los cítricos tienen semillas ortodoxas de vida corta o intermedias ya que soportan bajas temperaturas pero requieren humedades relativas altas. También se ha observado que las semillas de cítricos, en general, pierden rápidamente su poder germinativo cuando se mantienen en condiciones de ambiente no controladas una vez extraídas del fruto (Martins *et al.*, 2007).

Para la conservación de semillas y establecimiento de semilleros, es necesario conocer factores como clima, época de cosecha y periodos de siembra de los cultivos (Siqueira *et al.*, 2002). En este sentido, la capacidad de conservación en el almacenamiento de semillas dependerá de la calidad inicial, el contenido de humedad, el periodo de almacenamiento, la composición química de las semillas y el tipo de empaque. Nieves *et al.* (1995) reportan que las semillas de mandarino 'Cleopatra' están constituidas

por 34,7% de agua y 65,3% de materia seca (MS), donde el 25,87% es grasa bruta y los carbohidratos que contiene son fructosa, sacarosa y almidón (5,66, 14,08 y 8,00 mg g⁻¹ de MS respectivamente). El sistema comúnmente utilizado por los viveristas para el almacenamiento de semillas de cítricos corresponde a bolsas plásticas (Alberto Sanínt, comunicación personal, 2011). El principio básico de las bolsas plásticas, es similar a un almacenamiento hermético, donde se crea una atmósfera automodificada ya que se disminuye la concentración de oxígeno y aumenta la concentración de anhídrido carbónico.

Por todo lo anterior para disponer de un suministro continuo de semillas se debe implementar métodos de almacenamiento eficientes y económicos que respondan a la demanda de semillas con calidad, principalmente en semillas intermedias y recalcitrantes, en lo cual, se tiene poco desarrollo tecnológico (Martínez *et al.*, 2010).

Aunque existen técnicas de secado de semillas, es importante determinar los niveles de humedad adecuados para el almacenamiento con el fin de mantener la calidad fisiológica y evitar la proliferación de microorganismos patógenos, principalmente de hongos. No se han reportado estudios relacionados con la conservación en condiciones controladas de semillas de portainjertos para lima ácida 'Tahiti' u otros cítricos en vivero o bajo condiciones no tecnificadas, por lo tanto es importante obtener información experimental que permita recomendar tiempos de almacenamiento y contenidos de humedad adecuados para el desarrollo de portainjertos vigorosos.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta fisiológica de las semillas de portainjertos para lima ácida Tahiti: Citrumelo CPB 4475 [*Citrus paradisi* Macfad. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], Sunki × English [*C. sunki* Hort. ex Tan. × *P. trifoliata* (L.) Raf.] y limón 'Volkameriana' (*C. volkameriana* Ten. y Pasq.), a diferentes contenidos de humedad, tipos de empaque, tiempo y condiciones de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación Palmira (Corpoica). Se utilizaron semillas de tres portainjertos de lima ácida 'Tahiti' que se obtuvieron del lote de patrones de cítricos de este centro de investigación: Citrumelo CPB 4475, Sunki × English y limón 'Volkameriana'.

Se colectaron frutos maduros provenientes de árboles sanos y vigorosos. En el laboratorio, las semillas extraídas fueron lavadas hasta eliminar residuos de pulpa y mucílago y posteriormente fueron secadas a la sombra durante 3 d a

temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$). Se determinó el número de semillas por fruto, el índice de semillas, el porcentaje de humedad inicial (tomado después de 3 d de secado a temperatura ambiente) y el porcentaje de germinación para cada uno de los portainjertos.

Determinación del contenido de humedad y tolerancia a la desecación

El contenido de humedad inicial en base húmeda se determinó a partir del método gravimétrico (Hong y Ellis, 1966), con dos repeticiones de 5 g en un horno a temperatura constante de 130°C durante 1 h.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{100 (\text{Peso inicial} - \text{Peso final})}{\text{Peso inicial}} \quad (1)$$

Se establecieron tres niveles de humedad (10 - 9%, 8 - 7% y 6 - 5 %), para lo cual se utilizó el método de desecación no destructivo con sílica gel en relación 5:1 (g sílica gel: g semilla). El contenido de humedad entre 10% y 9% se obtuvo con el secado a la sombra durante 3 d a temperatura ambiente (24°C). Los pesos de las semillas fueron registrados cada hora y se utilizó la ecuación de Hong y Ellis (1996) para la determinación del contenido de humedad:

$$P_i (100 - \text{CH}_i (\%)) = P_f (100 - \text{CH}_f (\%)) \quad (2)$$

Donde:

CH_i = Contenido de humedad inicial (%)

CH_f = Contenido de humedad final (%)

P_i = Peso inicial (g)

P_f = Peso final (g)

Con esta información se construyó una curva de secado para las semillas de cada portainjerto.

Pruebas de germinación

Cuando las semillas alcanzaron los porcentajes de humedad predefinidos, se sembraron cinco repeticiones con 20 semillas cada una en cajas de Petri con papel filtro de 9 mm como sustrato en condiciones controladas de laboratorio (temperatura día de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ y noche de 18°C y 80% de humedad relativa). Las lecturas de germinación se registraron a partir de la siembra en conteos diarios hasta los 60 d.

El valor de la germinación se expresó en términos de porcentaje. Se tomó como criterio de germinación la emisión de radícula de las cubiertas seminales, ISTA (2005).

Efecto del tipo de empaque, condiciones y tiempo de almacenamiento sobre la germinación de semillas

Para evaluar el tipo de empaque en el almacenamiento de las semillas se utilizaron dos empaques, bolsas de polietileno de baja densidad herméticas de 27×28 cm, y frascos de polietileno de alta densidad de 500 cm^3 con tapa, en dos condiciones de ambientes: ambiente 1 (refrigerado a $10 \pm 2^\circ\text{C}$ con 70% HR) y ambiente 2 (sin refrigerar a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ con 80% HR). Se desconocen las condiciones de permeabilidad de vapor de agua en los empaques. Todas las semillas fueron tratadas con un fungicida protectante (carboxín + thiram), en dosis de 1 g de producto por cada 100 g de semilla para evitar daños por hongos durante el almacenamiento. Posteriormente, las semillas fueron almacenadas durante 30, 90 y 180 d. Después de cada periodo de almacenamiento, se realizaron pruebas de germinación en cajas de Petri con papel filtro.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar en un arreglo factorial con cinco repeticiones para cada uno de los tratamientos. Los factores estudiados fueron, contenido de humedad (3), tipo de empaque (2), ambiente de almacenamiento (2) y época de almacenamiento (3). Para el análisis de varianza se utilizó el paquete estadístico SAS® (Statistical Analysis Systems), versión 9.0 de 2002, la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del contenido de humedad y tolerancia a la desecación

Los contenidos de humedad y porcentajes de germinación que se alcanzaron a los 3 d de secado a la sombra para cada uno de los portainjertos se presentan en la Tabla 1. Estos valores de contenido de humedad se consideran apropiados para la conservación a corto y mediano plazo (Benkonva y Zakova, 2009). El Citrumelo CPB 4475 presentó el mayor tamaño y número de semillas por fruto, seguido del híbrido Sunki $\times$ English y el limón 'Volkameriana' en

Tabla 1. Contenido de humedad de tres portainjertos de cítricos secados a temperatura ambiente por 3 d

Portainjerto	Semillas por fruto	Índice de semillas (g/100 semillas)	Contenido de humedad (%)	Germinación (%)
'Volkameriana'	15	$31,2 \pm 3,8$	9,37	97,3
CPB 4475	25	$25,9 \pm 4,8$	9,94	47,8
Sunki $\times$ English	23	$23,2 \pm 3,1$	8,83	75,2

su respectivo orden. El número de semillas por kilogramo fue mayor en el limón 'Volkameriana'. En cuanto a la germinación se observó que para 'Volkameriana' y Sunki x English fue mayor con relación a CPB 4475. Posiblemente este porcentaje de germinación está asociado al secado ó a la imbibición en el proceso de absorción de agua.

En las curvas parciales de secado de cada uno de los portainjertos de lima ácida 'Tahiti' (Figura 1), se observó que entre 120, 180 y 240 min de desecación en sílica gel (5:1), las semillas del híbrido Sunki x English, Citrumelo CPB

4475 y limón 'Volkameriana', respectivamente, alcanzaron un nivel de humedad entre 7% a 8%. El nivel de humedad entre 5% a 6% se obtuvo después de 840 min para todos los portainjertos. La tasa de secado para cada una de las especies fue similar, perdiendo los mayores niveles de humedad en los primeros 70 min en contacto con la sílica gel. La condición de equilibrio con el entorno se presentó después de los 840 min en sílica gel, que es de 5% HR a 25°C. Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Hong y Ellis (1996), quienes plantean que el secado de las semillas cumple el principio de higroscopicidad, donde el contenido de humedad de las semillas se equilibra con su entorno.

Efecto del tipo de empaque, condiciones y tiempo de almacenamiento sobre la germinación de semillas

En la Tabla 2, se observan diferencias significativas entre los niveles de humedad en que se almacenaron las semillas de Citrumelo CPB 4475, mientras que en limón 'Volkameriana' y el híbrido Sunki x English los valores de germinación de acuerdo al contenido de humedad no variaron significativamente. La germinación de las semillas almacenadas con 10% de humedad fue alta para todos los portainjertos. El efecto del contenido de humedad sobre las semillas del Citrumelo CPB 4475 concuerdan con lo registrado por Cochran *et al.* (1986), quienes señalan que las semillas pierden viabilidad y capacidad de germinación al secarse por debajo del 20% de humedad. Para Citrumelo CPB 4475, la pérdida de viabilidad representada en el bajo porcentaje de germinación, indica que los contenidos de humedad con el que se almacenaron las semillas no fueron los más apropiados, variando significativamente con respecto a la valoración inicial del lote de semillas. Este comportamiento se explica por la interacción con los otros factores como el tiempo de almacenamiento.

Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahiti' según el contenido de humedad (%)

Contenido de humedad (%)	Limón 'Volkameriana'	Híbrido Sunki x English	Citrumelo CPB 4475
10 - 9	77,375 a	36,813 a	17,875 a
8 - 7	71,563 a	35,188 a	12,187 b
6 - 5	70,438 a	32,500 a	3,000 c
Media	73,13	34,83	11,02

Medias en la misma columna seguidos de la misma letra, no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey (P ≤ 0,05)

Resultados similares se obtuvieron para el tipo de empaque (Tabla 3), donde no hubo diferencia significativa entre los empaques de almacenamiento evaluados, indicando que los empaques seleccionados no relacionaron diferencias en la capacidad de conservación de las semillas utilizadas y no fueron determinantes en la conservación de las semillas.

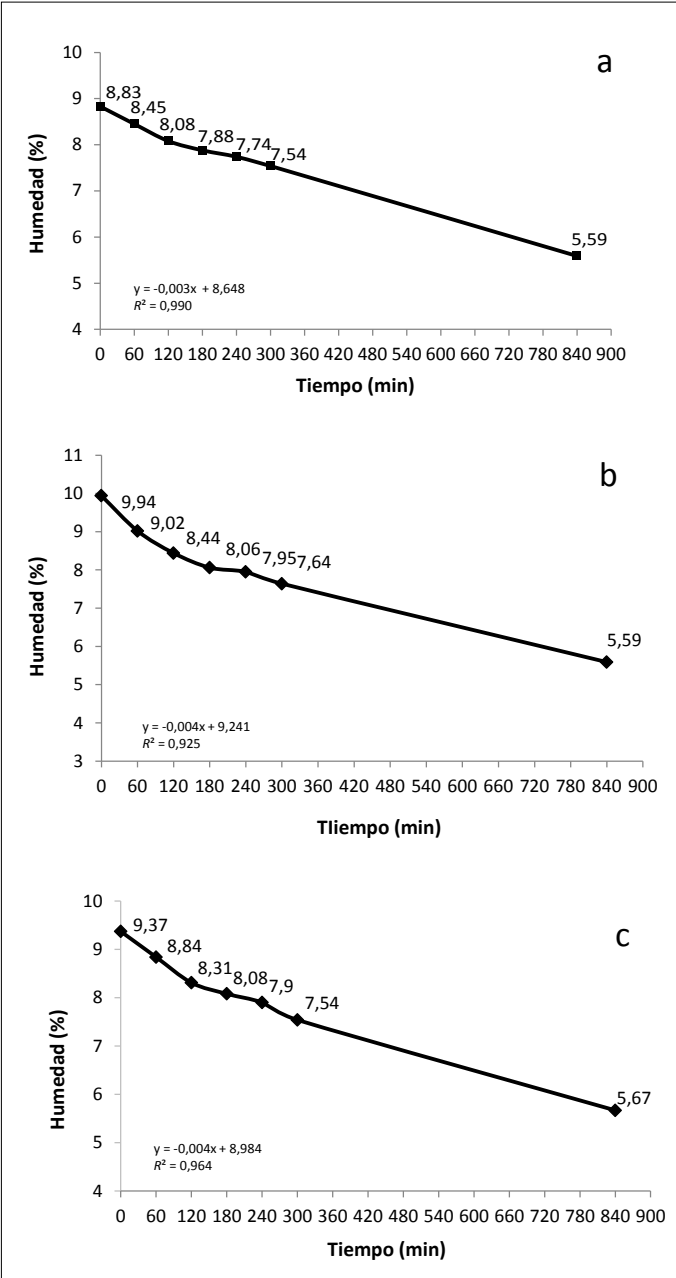


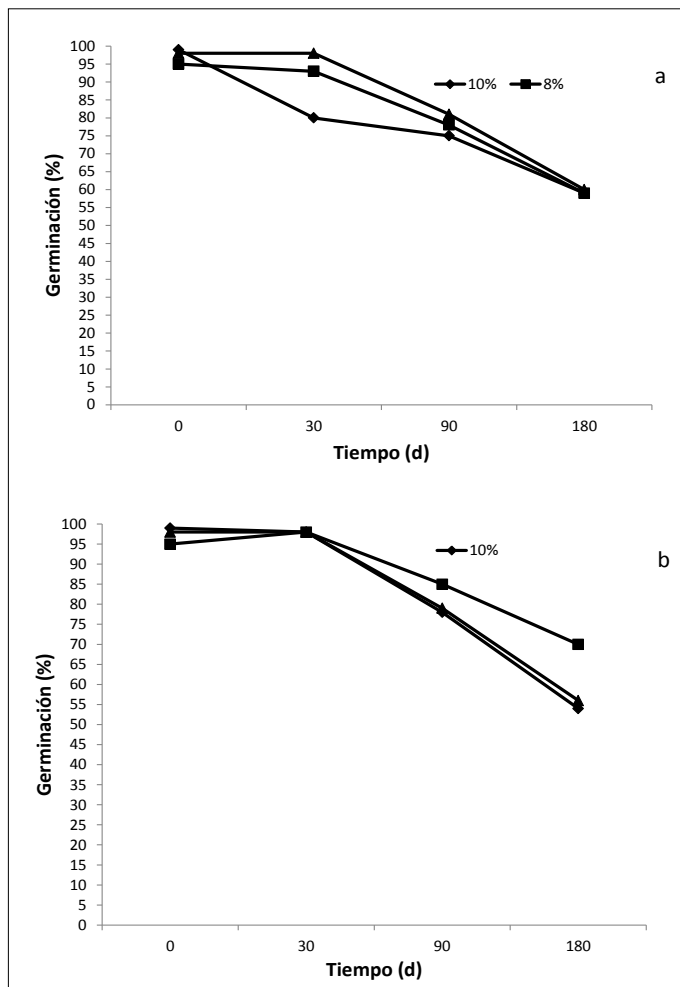
Figura 1. Curvas de secado de portainjertos de lima ácida 'Tahiti'. Híbrido Sunki x English (a), Citrumelo CPB 4475 (b) y limón 'Volkameriana' (c) (Relación sílica – semilla 5:1)

Tabla 3. Porcentaje de germinación de semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahiti' según el empaque de almacenamiento

Empaque de almacenamiento	Limón 'Volkameriana'	Híbrido Sunki × English	Citrumelo CPB 4475
Frasco	75,333 a	34,917 a	11,166 a
Bolsa	70,917 a	34,750 a	10,875 a
Media	73,13	34,83	11,02

Medias en la misma columna seguidos de la misma letra, no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

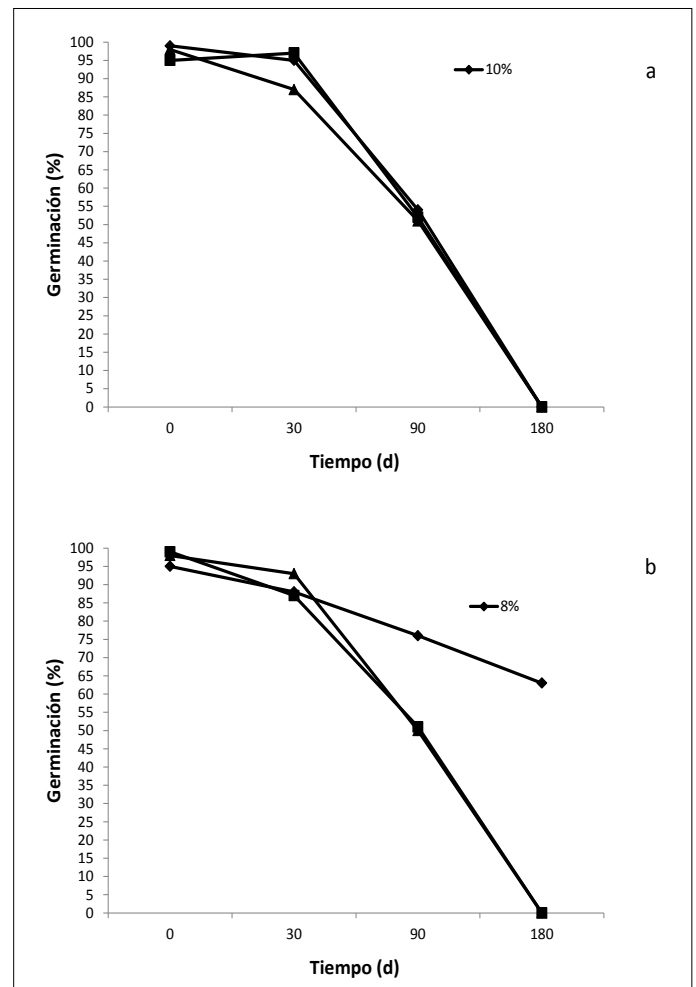
A los 30 d las semillas de limón 'Volkameriana' almacenadas en el ambiente 1 con un nivel de humedad entre 9% y 10% no presentaron diferencias estadísticas significativas tanto en bolsas como frascos de polietileno (Figura 2). El porcentaje de germinación se mantuvo por encima del 92%. Después de los 90 d se observó una disminución en el porcentaje de germinación para todos los contenidos de humedad en los dos empaques. Lo anterior indica que las semillas de 'Volkameriana' conservan su potencial germinativo bajo estas condiciones de almacenamiento, durante los primeros 30 d.

**Figura 2.** Porcentaje de germinación de semillas de limón 'Volkameriana' almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en ambiente 1 (refrigerado)

Las semillas almacenadas en el ambiente 2 (sin refrigerar), tuvieron una germinación similar entre los 0 y 30 d de almacenamiento. A los 90 d, las semillas presentaron una disminución del 50% de germinación con respecto a las semillas almacenadas a 30 d. A los 180 d, solo las semillas almacenadas en frasco de polietileno con 8% de humedad germinaron (Figura 3).

Las semillas del híbrido Sunki × English, almacenadas en el ambiente 1 presentaron bajo porcentaje de germinación después de 30 d. La germinación entre los 90 y 180 d no presentó diferencias significativas entre los contenidos de humedad, ni entre los empaques evaluados (Figura 4).

Las semillas almacenadas en el ambiente 2 (Figura 5), presentaron valores más bajos de germinación en todas las épocas de almacenamiento con respecto a las semillas almacenadas en el ambiente 1. Se observó una disminución considerable en la germinación a los 30 d para las semillas almacenadas en bolsa y en frasco.

**Figura 3.** Porcentaje de germinación de semillas de limón 'Volkameriana' almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en ambiente 2 (sin refrigerar)

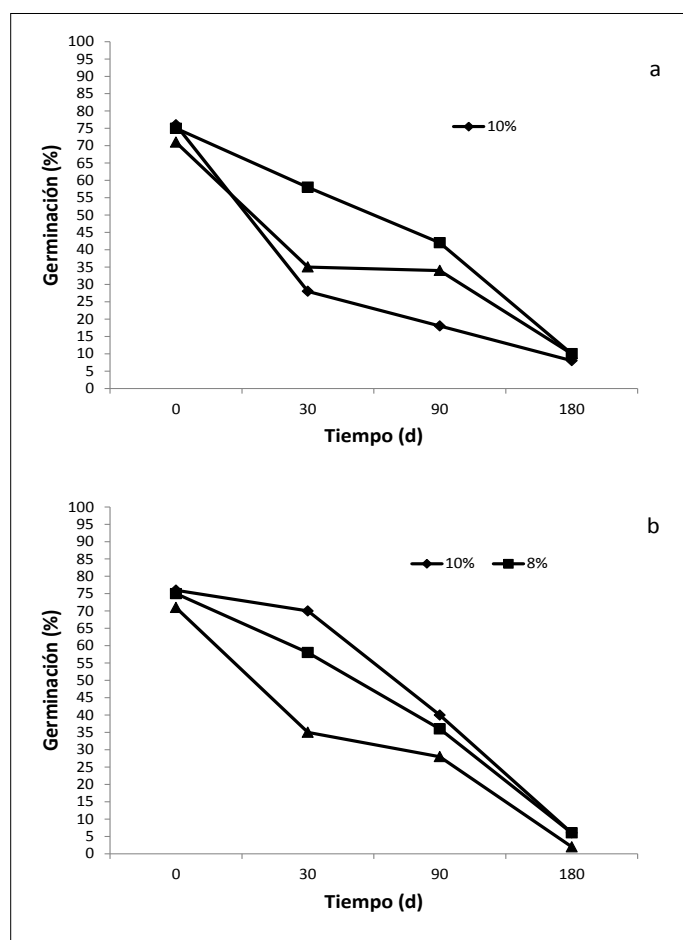


Figura 4. Porcentaje de germinación de semillas del híbrido Sunki x English almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en el ambiente 1 (refrigerado)

Para las semillas de Citrumelo CPB 4475, el contenido de humedad previo al almacenamiento, tuvo un efecto significativo sobre la germinación en los diferentes tiempos de almacenamiento. Los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron de semillas almacenadas con 10% de humedad a 0 d de almacenamiento para los tratamientos en bolsa y frasco (Figura 6).

Entre los 30 y 90 d de almacenamiento no hubo diferencia significativa entre tratamientos, presentándose porcentajes similares en semillas con 10% y 8% de humedad. Después de 180 d de almacenamiento, las semillas de Citrumelo CPB 4475 con 8% de humedad y almacenadas en frasco lograron una germinación de 3%. En los tratamientos almacenados a temperatura ambiente (ambiente 2), después de 30 d solo las semillas con contenido de humedad de 10% almacenadas en frasco lograron un porcentaje de germinación por encima de 10%, mientras que las semillas almacenadas en bolsa estuvieron entre 0% y 3% (Figura 7). A los 90 d, los mayores valores de germinación tanto en bolsa como en frasco fueron de 12%

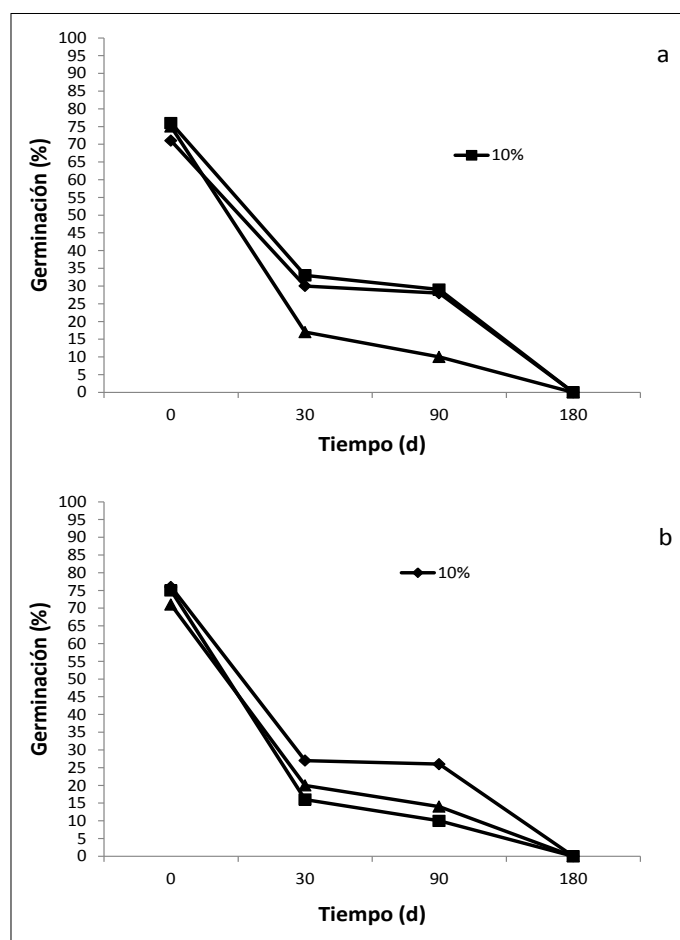


Figura 5. Porcentaje de germinación de semillas del híbrido Sunki x English almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en el ambiente 2 (sin refrigerar)

y 16% respectivamente con 10% de humedad. Las semillas almacenadas durante 180 d en su mayoría no germinaron.

Los tiempos de almacenamiento influyeron en la germinación de las semillas de los tres portainjertos (Tabla 4). Para limón 'Volkameriana' no hubo diferencia significativa entre los 0 y 30 d de almacenamiento, presentando valores de germinación similares, mientras que para el híbrido Sunki x English y el Citrumelo CPB 4475 el porcentaje de germinación disminuyó considerablemente entre los 0 (74% y 27% respectivamente) y 30 d (35% y 8% respectivamente). Entre los 30 y 90 d de almacenamiento, los valores de germinación del híbrido Sunki x English y Citrumelo CPB 4475 no difirieron significativamente. Entre los 90 y 180 d de almacenamiento, todos los portainjertos presentaron diferencias significativas, siendo el limón 'Volkameriana' el portainjerto con valores más altos de germinación (35%), lo que indica que pueden estar almacenados durante largos periodos de tiempo sin perder completamente su viabilidad, concordando con

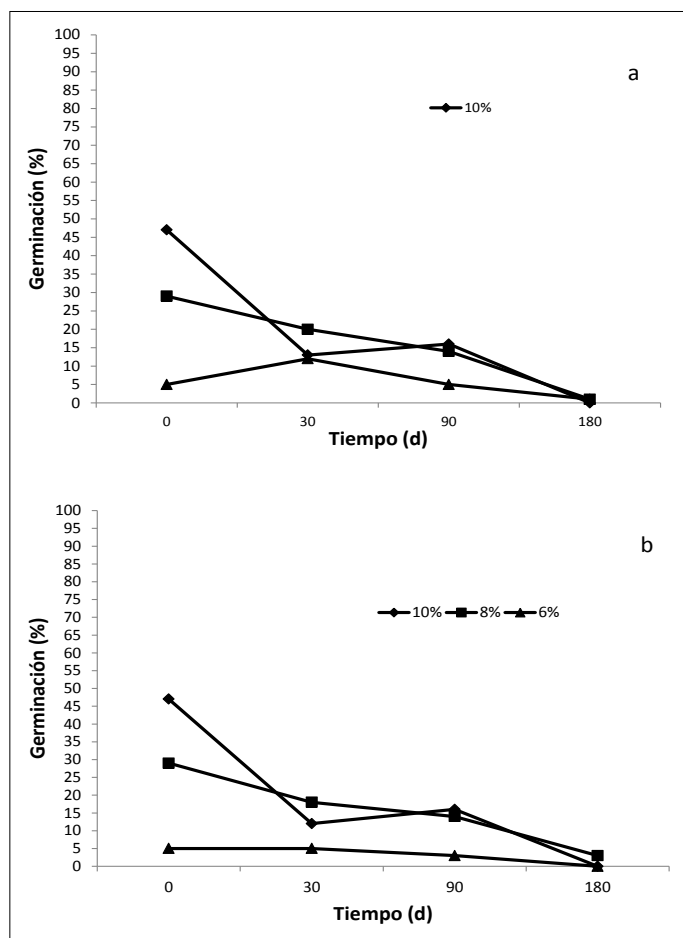


Figura 6. Porcentaje de germinación de semillas de Citrumelo CPB 4475 almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en el ambiente 1 (refrigerado)

Tabla 4. Porcentaje de germinación de semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahiti' según el tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (d)	Limón 'Volkameriana'	Híbrido Sunki × English	Citrumelo CPB 4475
0	97,333 a	74,000 a	27,000 a
30	92,667 a	35,583 b	8,000 b
90	67,417 b	26,250 b	8,667 b
180	35,083 c	3,500 c	0,417 c
Media	73,13	34,83	11,02

Medias en la misma columna seguidos de la misma letra, no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Siqueira *et al.* (2002) quienes encontraron que el poder germinativo de las semillas del limón 'Volkameriana' disminuía a 87% en 60 d y a 60% en 90 d. Por otro lado Herrera y Alizaga (2009), encontraron que semillas de 'Citrumelo' almacenadas durante 9 meses con contenidos de humedad del 24%, 27% y 30% presentaron una germinación de 81% al comienzo del experimento y de 14% al final del experimento, lo que indica que

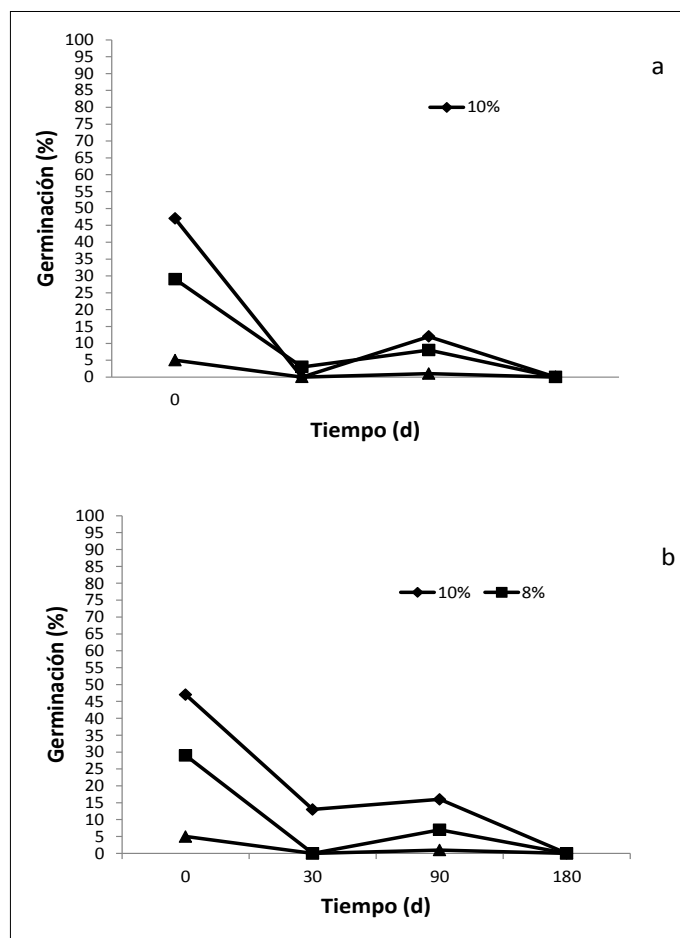


Figura 7. Porcentaje de germinación de semillas de Citrumelo CPB 4475 almacenadas en bolsa plástica (a) y frasco plástico (b) en ambiente 2 (sin refrigerar)

esta especie tiene poca longevidad entendida como la capacidad que tiene un lote de semillas para mantenerse viables a condiciones determinadas de humedad y temperatura.

Según Roberts (1972), la conservación de semillas durante el almacenamiento depende del grado de humedad y de los factores ambientales de almacenamiento como temperatura y oxígeno del aire. Así, para los tres portainjertos, el ambiente de almacenamiento influyó considerablemente en la viabilidad. Los porcentajes de germinación fueron más bajos en semillas almacenadas en el ambiente 2 (Tabla 5). Al respecto, Usberti y Felipe (1980) observaron que las semillas de *C. limonia* pueden almacenarse a 4°C por 32 meses sin perder viabilidad cuando contienen 6% de humedad; de igual forma King *et al.* (1981), señalaron que las semillas de *C. limon* y *C. aurantifolia* son ortodoxas, porque su viabilidad se conservó con la disminución en la temperatura de almacenamiento y contenido de humedad en la semilla.

Tabla 5. Ambiente de almacenamiento de semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahiti'

Ambiente de almacenamiento	Limón 'Volkameriana'	Híbrido Sunki × English	Citrumelo CPB 4475
Ambiente 1	63,625 a	29,333 a	9,291 a
Ambiente 2	82,625 b	40,333 b	12,750 b
Media	73,13	34.83	11.02

Medias en la misma columna seguidos de la misma letra, no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

CONCLUSIONES

Las semillas de los patrones cítricos secadas a temperatura ambiente presentaron contenidos de humedad entre 10% y 9%, mientras que las secadas con sílica gel mostraron valores entre 8% y 7% a las 2 h de evaluación y de 6% a 5% a las 14 h.

Aunque las semillas de Citrumelo CPB 4475 presentaron un patrón de secado semejante a las de limón 'Volkameriana' y Sunki × English, éstas redujeron significativamente la germinación, por lo tanto se puede deducir que esta especie cítrica presenta semillas intermedias por la baja tolerancia a la desecación y tiempo de almacenamiento, ya que se obtuvieron niveles de 0% con una humedad de 5,74% y 180 d de conservación en ambos tipos de empaque.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Benkonva M, Zakóva M. 2009. Seed germinability of selected species after five and ten years storage at different temperatures. Agriculture (Pol'nohospodárstvo) 55(2):119-124.

Bewley JD, Black M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. 2a ed. New York, NY: Plenum Press.

Carvalho JA, Pinho E, Oliveira JA, Guimaraes RM, Bonome LT. 2002. Seed quality of Cravo lemon (*Citrus limonia* Osbeck) during storage. Rev Bras Sementes 24(1):286-298.

Cochran LC, Cooper WC, Blodgett EC. 1986. Semillas para patrones de árboles frutales y de nueces. En: Stefferud A, editor. Semillas. Washington DC: United States Department of Agriculture (USDA). pp. 428-440.

DANE, Departamento Administrativo Nacional de Estadística. 2011. Encuesta nacional agropecuaria. En: <http://www.dane.gov.co>; consulta: noviembre, 2012.

Herrera JQ, Alizaga R. 2009. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la germinación de la semilla de dos patrones de cítricos. Tecnología en Marcha 22(3):17-24.

Hong TD, Ellis RH. 1996. Protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en almacenamiento. Boletín Técnico No. 1. Roma: International Plant Genetic Resources Institute IPGRI.

ICA, Instituto Colombiano Agropecuario. 2012. Listado de viveros para la producción de frutales en Colombia. En: <http://www.ica.gov.co>; consulta: noviembre, 2012.

ISTA, International Seed Testing Association. 2005. International rules for seed testing association. Bassersdorf, Suiza.

Semillas de limón 'Volkameriana' y Sunki × English, con porcentajes de humedad por debajo del nivel entre 10% a 9% presentaron una disminución moderada en la germinación de semillas, estos valores de germinación se mantuvieron después de 30 d de almacenamiento bajo las dos condiciones y tipo de empaque. Para limón Volkameriana estos valores se mantuvieron hasta los 90 d con una leve disminución.

Los factores que mayor influencia tuvieron sobre la calidad fisiológica de semillas de limón 'Volkameriana' y Sunki × English fueron el ambiente y tiempo de almacenamiento mientras que para Citrumelo CPB 4475 fue el secado. Las semillas de limón 'Volkameriana' fueron las que más toleraron cada una de las condiciones experimentales. Dentro de las condiciones ambientales la que presentó mejor respuesta fue la de ambiente refrigerado a 10°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) y 70% de HR. No se presentaron diferencias entre bolsas y frascos de polietileno.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Dres. Alexander Rebolledo Roa y Carlos Iván Cardozo por los aportes realizados a este trabajo; al Dr. Takumasa Kondo por la traducción del resumen al inglés y revisión del texto.

King MW, Soetisna U, Roberts EH. 1981. The dry storage of Citrus seeds. Ann Bot 48:865-872.

Magnitskiy S, Plaza G. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. Agron Colomb 25(1):96-103.

Martínez M, Cardozo CI, Sánchez M. 2010. Respuesta fisiológica de semillas de tomate *Solanum lycopersicum* L. var. Unapal – maravilla y pimentón *Capsicum annuum* L. var. Unapal – Serrano en Crioconservación. Acta Agron 59(4):401-409.

Martins L, Da Silva WR, Do Lago AA. 2007. Preservation of 'Cleopatra' tangerine seeds: water content and storage temperature. Rev Bras Sementes 29(1):178-185.

MADR, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2006. Apuesta exportadora agropecuaria 2006-2020. Bogotá.

Nieves N, Blanco M, Borroto E, González J, Lorenzo JC, Borroto CG, González A, Guerra O, Quiñónez J. 1995. Caracterización bioquímica de la semilla botánica y el proceso de germinación en mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort ex Tan). Cultivos Tropicales 16:24-29.

Roberts EH. 1972. Viability of seeds. New York, NY: Syracuse University.

Siqueira DL, Vasconcellos JFF, Días DCFSS, Pereira WE. 2002. Seed germination of citrus rootstocks after cooling conditions storage. Rev Bras Frutic 24:317-322.

Usberti R, Felipe GM. 1980. Viabilidade de sementes de *Citrus limonia* Osb. com baixo teor de umidade, armazenadas em diferentes temperaturas. Pesq Agropec Bras 15:393-397.

Villegas A, Andrade M. 2005. Secado y almacenamiento de semillas de mandarina 'Cleopatra'. Pesq Agropec Bras 40(1):79-85.