

EFFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLA DE MORINGA (*Moringa oleifera* Lam.)

STORAGE EFFECTS ON THE PHYSIOLOGICAL QUALITY OF MORINGA SEEDS (*Moringa oleifera* Lam.)

Arnol Ruíz-Pérez¹, Hermes Araméndiz-Tatis^{2*}, Carlos Cardona-Ayala³

¹ Ingeniero Agrónomo, Asistente Técnico Particular, email: arp987@hotmail.com; ² Ingeniero Agrónomo, PhD., Profesor Titular, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba, Montería – Colombia, *autor para correspondencia, email: haramendiz@hotmail.com; ³ Ingeniero Agrónomo, PhD., Profesor Titular, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba, Carrera 6 N°76-103, email: ccardonaayala@yahoo.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 20(1): 79-89, Enero-Junio, 2017

RESUMEN

La moringa (*Moringa oleifera* Lam.), recientemente introducida en el departamento de Córdoba - Colombia, es sembrada para forraje, alimento y medicina en humanos. Su semilla es almacenada en diferentes tipos de recipientes, bajo condiciones oscilatorias de temperatura y de humedad relativa, que influyen en la germinación, el vigor y la calidad de plántulas. El objetivo fue evaluar la calidad fisiológica de la semilla en diferentes tipos de envases, en ambientes controlados y al ambiente local, durante un año de almacenamiento. Se utilizó el diseño experimental completamente al azar, con cinco tratamientos: i) en nevera y envase de aluminio, a 7°C y 77,0% de humedad relativa (H.R.); ii) en nevera y envase de plástico, a 7°C y 77,0% H.R.; iii) en cuarto frío y envase de aluminio, a 6°C y 70% H.R.; iv) en cuarto frío y envase de plástico, a 6°C y 70% H.R. y v) sin refrigeración, en envase de vidrio, a temperatura media de 28°C y H.R. promedio de 74%. Se usaron semillas de árboles de la región. Mensualmente, se evaluó el porcentaje de germinación, el índice de velocidad de germinación, el contenido de humedad, la altura de plántula y el número de folíolos. La semilla de moringa, almacenada bajo condiciones ambientales del valle del Sinú, pierde su calidad fisiológica en 150 días, por los efectos de las altas temperaturas y fluctuaciones de humedad, que causan su deterioro. El almacenamiento bajo refrigeración, en envase de plástico o aluminio, permite conservar su potencial fisiológico, hasta por 360 días.

Palabras clave: Vigor, deterioro, germinación, humedad, altura de plántula.

SUMMARY

The moringa (*Moringa oleifera* Lam.) recently introduced into the department of Córdoba - Colombia, is planted for fodder, food and human medicine. Seeds are stored in different types of containers under oscillatory conditions of temperature and relative humidity, influencing germination, vigor and seedling quality. The objective was to evaluate the physiological seed quality in different types of packaging in both controlled environments and the local environment during a year of storage. The experimental design was completely randomized with five treatments. i) in a refrigerator and aluminum container 7°C and 77.0% relative humidity (RH), ii) in a refrigerator and plastic container 7°C and 77.0% RH, iii) in cold room and aluminum container 6°C and 70% RH, iv) cold room and plastic container 6°C and 70% RH, v) without refrigeration in glass container at average temperature of 28°C and HR average of 74%. Seeds of regional grown trees were used. Monthly physiological quality based on the percentage of germination, germination rate index, moisture content, seedling height and number of leaflets was evaluated. Moringa seeds stored under ambient conditions of the Sinú valley loses its physiological quality in 150 days, due to the effects of high temperature and humidity fluctuations that cause deterioration. The storage under refrigeration, in plastic or aluminum packaging, allows to preserve its physiological potential for up to 360 days.

Key words: Vigor, deterioration, germination, moisture, seedling height.

INTRODUCCIÓN

La moringa pertenece a la familia de Moringaceae, crece en la mayoría de los trópicos y es nativa de la India, Pakistán, Bangladesh y Afganistán (Ayerza, 2012). El árbol de la moringa (*Moringa oleifera* Lam.) es objeto de gran atención por parte de los productores, tanto que el número de proveedores que promueven la planta, es alto (Olson & Fahey, 2011). En Colombia, esta especie tiene un alto potencial de uso en diversos sectores: energético, tratamiento del agua y saneamiento básico, restauración de suelos degradados, alimentación humana y animal, aprovechamiento agroindustrial y farmacéutico, generador de empleo y alternativa sostenible, en equilibrio con el medio ambiente (Neves *et al.* 2007; Manzoor *et al.* 2007; Kafuku & Mbarawa, 2010; Sánchez-Machado *et al.* 2010; Rashid *et al.* 2011).

Las características nutricionales de moringa son excelentes, por lo que es usada como forraje, a gran escala, en varios países, con una alta productividad de materia verde, comparada con pastos y alfalfa (Martín *et al.* 2013). Estudios en Nicaragua, bajo producción intensiva, han determinado que es factible obtener hasta 650t de materia fresca/ha/año o 120t/ha-año de materia seca (Pérez, 2013).

Actualmente, el sector ganadero utiliza semilla sexual para establecer cercas vivas, pero la calidad fisiológica es afectada por la temperatura y la humedad relativa, que constituyen los factores externos que la afectan en almacenamiento, dado que es conservada en diferentes tipos de recipientes, en condiciones ambientales de alta humedad relativa (85% HR) y temperatura ambiental (>27°C), factores que influyen negativamente en el porcentaje de germinación, de vigor y de calidad de plántula producida (Araméndiz *et al.* 2007).

Las semillas son la parte principal de cualquier sistema de producción agrícola; están diseñadas para dar lugar a nuevas plantas, con una economía de medios y una resistencia a las condiciones adversas (Rosello & Soriano, 2008). Por ello, el uso de semillas de excelente calidad fisiológica, sanitaria, física y genética, son aspectos a tener en consideración en la obtención de plántulas de óptima calidad de moringa (Peireira *et al.* 2015).

Dada la importancia de la moringa en diversos sectores y la necesidad de dilucidar las mejores condiciones ambientales para el almacenamiento de su semilla, el presente trabajo planteó como objetivo evaluar el efecto de los envases de aluminio y de plástico, en dos ambientes controlados y en el ambiente local, durante un año de almacenamiento

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio, se realizó en el laboratorio de Genética y Fito-mejoramiento de la Universidad de Córdoba, localizado en Montería, ubicada a una altura de 13msnm. Sus coordenadas geográficas corresponden a los 8° 52' de latitud Norte y 76° 48' longitud Oeste, respecto al meridiano de Greenwich. La zona de vida a la cual corresponde la capital del departamento, Montería, se denomina bosque seco tropical (bs-T), con precipitación anual de 1.200mm, temperatura media del aire de 28°C, humedad relativa de 84% y brillo solar anual de 2108,2 horas (Palencia *et al.* 2006). En el laboratorio, la temperatura fue 25°C y la humedad relativa de 70%.

Se utilizó el diseño completamente al azar, con cinco tratamientos y tres repeticiones. Cada unidad experimental, estuvo conformada por 22 semillas, obtenidas de predios de productores pecuarios, distribuidas así: 15, para la evaluación de la calidad fisiológica y siete, para medir el contenido de humedad.

La estructura de tratamientos fue la siguiente:

T1 = almacenamiento en nevera, en envase de aluminio de 10cm de semiperímetro circular y 15cm de altura, con una capacidad aproximada de 350cm³ a 7,0°C y 77,0% de humedad relativa (HR).

T2 = almacenamiento en nevera, en envase de plástico cilíndrico, con tapa de rosca, de dos litros de capacidad a 7,0°C y 77,0% HR.

T3 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de aluminio de 10cm de semiperímetro circular y 15cm de altura, con una capacidad aproximada de 350cm³ a 6,0°C y 70,0% HR.

T4 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de plástico cilíndrico, con tapa de rosca, de dos litros de capacidad a 6,0°C y 70,0% HR.

T5= almacenamiento sin refrigeración, en envase de vidrio, a temperatura media de 28°C y HR promedio de 74%.

Las semillas fueron almacenadas durante un período de 360 días y se tomaron muestras de los recipientes de almacenamiento cada 30 días, para sembrarlas y observar la variación del contenido interno de humedad, de germinación, de vigor y de crecimiento de las plántulas; por tanto, se realizaron análisis de varianza, contrastes ortogonales y se ajustaron modelos de regresión, según las tendencias de las respuestas.

En cada tratamiento, se evaluó la calidad inicial de la misma, mediante las siguientes variables: germinación (%), índice de velocidad de germinación (IVG), altura de la plántula (cm), número de folíolos y contenido de humedad de la semilla (%).

Para cuantificar la germinación, se utilizó el método del Ministerio de Agricultura y Reforma Agraria de Brasil (Brasil, 1992), con algunas modificaciones ligeras sobre tres muestras (repeticiones), tomadas al azar. En cada unidad experimental, se depositaron 15 semillas en bandejas de aluminio sobre una capa de algodón, se humedecieron con agua destilada sin sobresaturación y se pusieron en cámara de germinación, a 28°C y 80% HR, período de luz: oscuridad de 8:16 horas. Las semillas germinadas fueron aquellas que presentaron radícula de, al menos, 2mm; el conteo de las plántulas normales, se llevó a cabo hasta los cinco días después de la germinación. Como plántulas normales, se calificaron aquellas con el potencial para continuar su desarrollo y dar origen a plantas sanas; plántulas anormales, aquellas que no mostraron su potencial para continuar su desarrollo y no dieron origen a plantas normales, aun creciendo bajo condiciones favorables, es decir, plántulas deformadas y deterioradas (Brasil, 1992).

Las observaciones sobre germinación, se hicieron durante 14 días, a las 10:00 a.m. En la determinación del índice de velocidad de germinación, se utilizó la fórmula utilizada por Maguire (1962) y el número de plántulas normales, hasta el sexto día, se usó para cuantificar el vigor (Barros *et al.* 2002).

$$IVG = \frac{P_1}{t_1} + \frac{P_2}{t_1+t_2} + \frac{P_3}{t_1+t_2+t_3} + \dots + \frac{P_k}{t_1+t_2+t_3+\dots+t_k}$$

Dónde: $P_1, P_2, P_3, \dots, P_k$ = número de plántulas normales en el primer, segundo, tercer y último conteo de la evaluación, y, $t_1, t_2, t_3, \dots, t_k$ es el tiempo requerido para cada fecha de evaluación del vigor.

El contenido de humedad, se determinó por el método gravimétrico, mediante de desecación en estufa, a 105°C por 17 horas (Besnier, 1989). Se tomó una muestra de siete semillas, guardadas en los recipientes de cada tratamiento. Luego del tiempo determinado previamente, se tomó, de nuevo, el peso y mediante la siguiente fórmula, se calculó el porcentaje de humedad:

$$H(\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100$$

Donde, H (%): porcentaje de humedad de las semillas; W_i = peso inicial; W_f = peso final.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del almacenamiento: Los cuadrados medios del análisis de variancia para cada una de las fechas consideradas, se encuentran consignados en las tablas 1 y 2. La dispersión de los datos alrededor de las medias, estimada con los coeficientes de variación, se hallan dentro un rango común, para este tipo de experimento, en todas las variables y es similar a la reportada por Bezerra *et al.* (2004a).

En lo pertinente al porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación (IVG), durante los primeros 90 días de almacenamiento, no hubo diferencias en la calidad fisiológica de la semilla, lo cual, sugiere que, a corto plazo, la temperatura o la humedad relativa y el tipo de envase no influyeron en el deterioro de la calidad de las semillas, lo que concuerda con lo reportado por Araméndiz *et al.* (2007); no obstante, el contraste: tratamientos refrigerados (T1, T2, T3, T4) vs tratamiento no refrigerado (T5), resultó altamente significativo en ambas variables, con 21,67% de germinación y 1,00 plántulas/d menos que el promedio de los cuatro tratamientos refrigerados, como se puede apreciar en los contrastes C_1 y C_2 (Tablas 2 y 3). El deterioro progresivo de la calidad germinativa de la semilla de moringa en T5, se hizo más evidente a los 120 y 150 días, con disminuciones significativas de 35,50 y 52,78% de la germinación y 2,06 y 2,81 plántulas/d, de la velocidad de germinación, respectivamente y perdió su capacidad germinativa a los 180 días, por la liberación de lixiviados de ácidos grasos (Fotouo-M. *et al.* 2015).

Hay evidencia que ciertas condiciones afectan con mayor intensidad la integridad de las membranas celulares, ocasionando pérdidas de electrolitos (Fotouo-M. *et al.* 2015), que inciden en los parámetros fisiológicos relacionados con el vigor, como fue reportado por Bezerra *et al.* (2004a), en moringa. Es claro que las semillas de T5, al abrir el envase para extraerlas, quedan expuestas a un intercambio gaseoso con el medio ambiente local, de manera que, al cerrar nuevamente el envase, se genera un nuevo equilibrio entre la humedad del microambiente interno y la de las semillas que, por su higroscopicidad, puede conducir a un aumento de su contenido de su humedad y, al estar simultáneamente expuestas a una temperatura promedio de 28°C, se acelera su deterioro. En el caso de las semillas almacenadas en ambientes refrigerados, la apertura y el cierre de los envases es menos influyente, puesto que la humedad en el microambiente del envase es menor, en razón a que la HR, tanto en nevera como cuarto frío, es también menor.

Una vez excluido T5 por pérdida total de la viabilidad, entre los 180 y 360 días, el análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre tratamientos (Tablas 1 y 2); sin embargo, a los 180 días, el contraste C_3 : almacenamiento en nevera en envase de aluminio (T1) vs envase de plástico (T2),

resultó significativo y mostró a favor del envase de plástico 17,77% más de germinación y 0,61 plántulas/d más que en envase de aluminio. Con el aumento del tiempo de almacenamiento, no se detectaron diferencias entre los envases de

plástico y de aluminio. Esto sugiere que, el material de constitución de los envases proporciona suficiente aislamiento para garantizar el mantenimiento de la calidad fisiológica de la semilla durante un año de almacenamiento.

Tabla 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables porcentaje de germinación (G) y porcentaje de humedad de la semilla (H), durante 360 días de almacenamiento.

TIEMPO (d)	G (%)				IVG (Plántulas/ d)				H (%)			
	CMT	CME	\bar{X}	CV	CMT	CME	\bar{X}	CV	CMT	CME	\bar{X}	CV
30	136,29 ^{ns}	162,95	79,55	16,04	0,267 ^{ns}	0,308	3,75	14,8	2,13 *	0,43	10,71	6,12
60	228,93 ^{ns}	233,83	73,28	20,86	0,42 ^{ns}	0,329	3,39	16,9	5,42 *	1,01	10,86	9,24
90	292,17 ^{ns}	104,07	77,34	13,19	0,613 ^{ns}	0,279	3,47	15,21	3,56 **	0,2	10,56	4,27
120	792,55 *	225,81	72,84	20,62	2,56 **	0,29	3,37	16,13	2,85 **	0,09	10,63	2,89
150	1755,5 **	139,23	68,88	17,12	5,25 **	0,52	3,38	21,46	2,05 **	0,309	9,8	5,67
180	157,95 ^{ns}	51,84	86,67	8,31	0,226 ^{ns}	0,101	3,76	8,46	4,57*	0,74	10,99	7,82
210	202,43 ^{ns}	88,89	85,56	11,02	0,560 ^{ns}	0,16	3,86	10,48	3,97**	0,17	11,38	3,62
240	83,95 ^{ns}	62,98	76,67	10,35	2,65 ^{ns}	1,75	4,76	27,80	3,43*	0,57	11,21	6,72
270	82,75 ^{ns}	29,63	77,22	7,88	0,19	0,11	3,64	9,04	7,09**	0,15	11,47	3,36
300	217,18 ^{ns}	155,59	84,45	14,77	0,64	0,29	4,16	13,05	2,93**	0,23	11,30	4,21
330	102,44 ^{ns}	140,73	81,66	14,53	0,62 ^{ns}	0,28	3,85	13,85	1,10 ^{ns}	0,42	10,41	6,25
360	128,42 ^{ns}	66,66	77,78	10,50	0,25 ^{ns}	0,23	2,03	23,70	8,30 ^{ns}	3,96	11,34	17,54

CMT: cuadrado medio de tratamientos; CME: cuadrado medio del error experimental; CV: coeficiente de variación (%); \bar{X} : media de tratamiento; ns: no significativo; *: significativo al 5%; **: significativo al 1%.

Los contrastes C₂: almacenamiento en nevera (T1, T2) vs almacenamiento en cuarto frío (T3, T4) y C₄: almacenamiento en cuarto frío en envase de aluminio (T3) vs almacenamiento en cuarto frío en envase de plástico (T4), no resultaron significativos consistentemente en la germinación y en el vigor, en las 12 pruebas realizadas cada 30 días (Tablas 3 y 4). Es evidente que el almacenamiento en nevera como en cuarto frío, bien en envase de aluminio o de plástico, es favorable para la conservación de la calidad fisiológica de la semilla a largo plazo, debido a la reducción del metabolismo del embrión por efecto de las temperaturas bajas y por el equilibrio higroscópico entre la semilla y el ambiente de almacenamiento (Camargo & Carvalho, 2008).

Tendencias de la germinación en el tiempo: El porcentaje de germinación inicial, antes del almacenamiento, fue de 86,7%, superior al reportado por Bezerra *et al.* (2004b) y

similares a los manifestados por Pereira *et al.* (2015). A partir de este porcentaje de germinación, las semillas conservadas bajo almacenamiento no refrigerado (T5), en sólo 180 días de almacenamiento, registró germinación nula y la tasa de disminución lineal de la germinación fue de 0,43%/d (Tabla 5), debido a las oscilaciones de temperatura y de humedad relativa, en el valle del Sinú, que incidieron en el deterioro de la semilla almacenada en envase de vidrio, resultados concordantes con los de Teófilo *et al.* (2003) y Oliveira *et al.* (2009), en moringa. En este orden de ideas, Fotouo-M. *et al.* (2015) sostiene que es mejor almacenar en las vainas bajo condiciones ambientales no controladas, con el fin de reducir los daños en las membranas celulares y salida de electrolitos, ya que pueden ser conservadas hasta con un 47% de germinación por dos años.

Tabla 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables altura plántula (AP) y número de folíolos por planta (NF), a través del tiempo de almacenamiento.

TIEMPO (d)	AP (cm)				NF			
	CMT	CME	\bar{X}	CV	CMT	CME	\bar{X}	CV
30	3,33 ^{ns}	3,75	16,27	11,91	10,19 *	2,28	18,76	8,05
60	0,79 ^{ns}	3,27	14,81	12,21	6,14 ^{ns}	5,44	17,99	12,96
90	11,92 *	2,1	16,83	8,61	6,42 *	1,81	18,56	7,2
120	10,08 *	2,45	16,5	9,49	17,12 *	3,51	20,28	9,24
150	97,87 **	2,66	16,41	9,95	98,37 **	2,16	17,02	8,63
180	1,990 ^{ns}	0,62	14,14	10,93	4,68 ^{ns}	1,75	14,66	9,03
210	6,61 ^{ns}	2,76	14,09	11,80	3,98 ^{ns}	23,66	16,27	11,75
240	2,65 ^{ns}	5,59	19,59	12,08	5,05*	0,74	23,18	3,71
270	1,98 ^{ns}	0,98	17,29	5,72	0,54 ^{ns}	1,59	16,08	7,83
300	2,34 ^{ns}	2,27	17,91	8,42	1,00 ^{ns}	1,76	20,95	6,33
330	4,86 ^{ns}	6,94	10,94	24,08	2,47 ^{ns}	1,85	12,46	10,91
360	1,09*	0,17	7,53	5,45	0,39 ^{ns}	0,40	10,39	6,08

CMT: cuadrado medio de tratamientos; CME: cuadrado medio del error experimental; CV: coeficiente de variación (%); \bar{X} : media de tratamiento; ns: no significativo; *: significativo al 5%; **: significativo al 1%.

Por otro lado, el índice de velocidad de germinación (IVG) registró 4,88 plántulas/d, al iniciar el almacenamiento, valor superior al reportado por Silva *et al.* (2012), de 1,5 y 2,4 y similar al de Pereira *et al.* (2015), en moringa. Análogo a lo ocurrido con el porcentaje de germinación, el IVG en T5 presentó valor nulo a los 180 días y en el intervalo de 0 a 150 días de almacenamiento, registró una pérdida lineal de 0,023 plántulas/d (Tabla 3).

El porcentaje de germinación no mostró tendencia de disminución o aumento en el tiempo en T1, T2 y T3, en 360 días de almacenamiento y solo T4 expuso una leve disminución lineal, pero significativa, a razón de 0,04%/d (Tabla 5). Relacionado con este resultado, el vigor de las semillas almacenadas, tanto en nevera como en cuarto frío y con ambos tipos de envases, registró una tendencia explicada por funciones polinómicas de tercer grado (Tabla 5); en éstas, se observan los efectos lineales cuadráticos y cúbicos en el intervalo de 0 a 360 días. Al respecto, el mantenimiento de la calidad fisiológica de esta semilla por 360 días, bajo las condiciones de almacenamiento favorables descritas, superan lo reportado por Bezerra *et al.* (2004a), quienes señalaron que las semillas de moringa pueden ser almacenadas hasta por seis meses bajo condiciones no controladas. En este ensayo,

bajo condiciones no controladas el deterioro fue evidente, con una disminución significativa de la calidad de la semilla.

El análisis de varianza para el contenido de humedad acusó diferencias significativas entre los métodos de almacenamiento, en los muestreos realizados cada 30 días; en las respectivas pruebas de germinación, hasta los 150 días y entre los cuatro tratamientos restantes, hasta los 270 días, una vez excluido T5, por pérdida total de la viabilidad a los 180 días (Tablas 1 y 2).

El porcentaje de humedad al iniciar el almacenamiento fue de 8,7%, el cual, aumentó en todos los tratamientos al transcurrir el tiempo, desde los 30 días, con mayor incremento en T5. Este incremento, posiblemente, se debe a la influencia de la humedad relativa dentro del envase y el ambiente de almacenamiento, que conduce a ajustes en los contenidos de humedad de las semillas, como lo indica Flores (1996), Carvalho & Nakagawa (1998) y Mendoça *et al.* (2003) e influye, de esta manera, en la calidad fisiológica de la semilla. En algunos ambientes, el deterioro de la semilla es mayor por la acción conjunta de temperatura y de humedad interna de la semilla (Popinigis, 1985), lo que es coherente con lo reportado por Bezerra *et al.* (2004a), en moringa.

Tabla 3. Valores de contrastes ortogonales de las variables porcentaje de germinación (G), índice de velocidad de germinación (IVG), porcentaje de humedad de la semilla (H), altura plántula (cm) y número de foliolos por planta a través del tiempo de almacenamiento (30 a 180 d).

CONTRASTE	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (d)					
	GERMINACIÓN (%)					
	30	60	90	120	150	180
C1	13,33 ns	11,06 ns	21,68**	35,50**	52,78**	-
C2	0,00 ns	-2,33 ns	0,00 ns	2,33 ns	3,34 ns	0,00 ns
C3	0,00 ns	-2,00 ns	0,05 ns	-6,67 ns	-11,11 ns	-17,77**
C4	-8,89 ns	-20 ns	0,00 ns	6,44 ns	-8,89 ns	0,00 ns
	IVG (plántulas/d)					
C1	0,56 ns	0,44 ns	1,00**	2,06**	2,81**	-
C2	0,02 ns	0,15 ns	-0,04 ns	-0,03 ns	0,50 ns	-0,08 ns
C3	-0,03 ns	2,91 ns	-0,18 ns	-0,13 ns	-0,88 ns	-0,61*
C4	-0,46 ns	0,00 ns	0,05 ns	0,05 ns	-0,38 ns	-0,25 ns
	H (%)					
C1	-0,88 ns	-1,49*	-1,72**	-1,08**	-0,66 ns	-
C2	-1,01 *	-2,05**	-1,39**	-1,68**	-0,90*	-1,62*
C3	0,24 ns	0,80 ns	0,57 ns	0,26 ns	-0,20 ns	-0,18 ns
C4	-1,52*	1,36 ns	-0,76 ns	-0,14 ns	-1,76**	-1,97*
	AP (cm)					
C1	1,86 ns	-0,23 ns	4,10**	4,03**	12,47**	-
C2	-1,07 ns	0,22 ns	1,50 ns	0,64 ns	1,05 ns	-0,52 ns
C3	0,26 ns	1,39 ns	-0,03 ns	0,39 ns	1,80 ns	-0,93 ns
C4	0,98 ns	0,02 ns	-0,66 ns	-0,01 ns	2,63 ns	-1,61*
	NF					
C1	2,32*	-0,67 ns	3,14**	-1,08**	12,61**	-
C2	-2,83**	1,09 ns	0,47 ns	-1,68**	1,00 ns	0,41 ns
C3	0,57 ns	2,43 ns	0,76 ns	0,26 ns	2,38 ns	-2,76*
C4	1,48 ns	-2,72 ns	-0,57	-0,14 ns	0,66 ns	-1,19 ns

C1: T1,T2,T3,T4 vs T5; C2: T1,T2 vs T3,T4; C3: T1 vs T2; C3: T3 vs T4. T1 = almacenamiento en nevera, en envase de aluminio a 7,0°C y 77,0% de humedad relativa (HR); T2 = almacenamiento en nevera, en envase de plástico a 7,0°C y 77,0% HR; T3 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de aluminio a 6,0°C y 70,0% HR; T4 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de plástico a 6,0°C y 70,0% HR; T5= almacenamiento abierto sin refrigeración, en envase de vidrio a temperatura media de 28°C y HR promedio de 74%.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los cinco tratamientos, hasta los 150 días y entre los cuatro tratamientos restantes, hasta los 300 días, después de excluir a T5, por pérdida total de la viabilidad; sin embargo, estas diferencias no se presentaron a los 330 y 360 días (Tablas 1 y 2). Las menores pérdidas de humedad, se registraron en T1 y T2, es decir, bajo almacenamiento en nevera, en envases de aluminio y plástico, respectivamente, cuyo contraste (C3) no resultó significativo (Tablas 3 y 4), por lo que, bajo este tipo de almace-

namiento, la clase de envase no influyó direccionalmente en la dinámica del contenido de humedad de las semillas.

Por otro lado, el contraste C2 estimó, con mayor frecuencia, que las semillas almacenadas en cuarto frío aumentaron significativamente su contenido de humedad en relación con el de almacenamiento en nevera. Bajo las condiciones de cuarto frío (contraste C4), en 4 de las 12 pruebas (30, 150, 180 y 270 días), las semillas provenientes de envase de plás-

Tabla 4. Valores de contrastes ortogonales de las variables porcentaje de germinación (G), índice de velocidad de germinación (IVG), porcentaje de humedad de la semilla (H), altura plántula (cm) y número de folíolos por planta a través del tiempo de almacenamiento (210 a 360 d).

CONTRASTE	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (d)					
	GERMINACIÓN (%)					
	210	240	270	300	330	360
C1	-	-	-	-	-	-
C2	4,44 ns	4,44 ns	7,78*	13,33 ns	1,11 ns	-2,22 ns
C3	11,11 ns	-2,22 ns	-6,67 ns	-8,89 ns	8,89 ns	-2,23 ns
C4	15,55 ns	-11,11 ns	0,00 ns	-0,00 ns	11,11 ns	15,56*
	IVG (plántulas/d)					
C1	-	-	-	-	-	-
C2	-0,08 ns	0,18 ns	0,76 ns	0,18 ns	0,66 ns	0,24 ns
C3	-0,61 ns	0,69 ns	-1,89 ns	-0,54 ns	-0,64 ns	0,89 ns
C4	-0,25 ns	0,76 ns	0,75 ns	0,10 ns	0,12 ns	0,58 ns
	H(%)					
C1	-	-	-	-	-	-
C2	-1,62*	-1,97*	-1,67**	-2,44**	-1,67 **	-0,96 ns
C3	-0,18 ns	-0,32 ns	0,00 ns	0,10 ns	0,34 ns	0,08 ns
C4	-1,97*	-0,34 ns	-1,14 ns	-1,52**	-0,38 ns	-0,58 ns
	AP (cm)					
C1	1,62 ns	-	-	-	-	-
C2	1,63 ns	-0,52 ns	1,62 ns	-0,47 ns	-0,96 ns	0,38 ns
C3	2,31 ns	-0,93 ns	1,63 ns	-0,14 ns	-1,34 ns	1,04 ns
C4		-1,61*	2,31 ns	2,20 ns	0,58 ns	1,82 ns
	NF					
C1	-	-	-	-	-	-
C2	0,41 ns	1,36 ns	-0,21 ns	0,17 ns	0,57 ns	-0,26 ns
C3	-2,76*	-0,67 ns	2,52**	-0,33 ns	0,66 ns	1,62 ns
C4	-1,19 ns	1,96 ns	1,91*	0,96 ns	0,95 ns	-1,48 ns

C1: T1,T2,T3,T4 vs T5; C2: T1,T2 vs T3,T4; C3: T1 vs T2; C3: T3 vs T4. T1 = almacenamiento en nevera, en envase de aluminio a 7,0°C y 77,0% de humedad relativa (HR); T2 = almacenamiento en nevera, en envase de plástico a 7,0°C y 77,0% HR; T3 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de aluminio a 6,0°C y 70,0% HR; T4 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de plástico a 6,0°C y 70,0% HR; T5= almacenamiento abierto sin refrigeración, en envase de vidrio a temperatura media de 28°C y HR promedio de 74%.

tico ganaron más humedad que las de envase de aluminio, mientras que en el resto de las pruebas no hubo diferencias significativas (Tablas 3 y 4). Más allá de la diferencia estructural en la composición molecular de ambos tipos de envase, lo que realmente influyó, en una mayor ganancia de humedad en el envase de plástico, se debe más bien a su rigidez. Cuando se abre para extraer semillas, ocurre un mayor intercambio gaseoso con la atmósfera de almacenamiento y, una vez se cierra, el microambiente, dentro del recipiente, puede

ganar algo de humedad, que después se equilibra con la de la semilla. En la bolsa de aluminio, por ser deformable, una vez se extrae la muestra de semillas, el envase se cierra y se deforma, desplazando la cámara de aire, simulando un empaquetado al vacío. Esto explicaría, en parte, las bondades del envase de aluminio utilizado en el ensayo frente al de plástico, aunque las mismas no se traducen en una mejor conservación durante 360 días y, probablemente, surtiría efecto en un periodo mayor de almacenamiento.

Tabla 5. Características de las ecuaciones de regresión que describen la relación funcional entre las variables germinación, índice de velocidad de germinación y el tiempo transcurrido según el método de almacenamiento de las semillas de moringa.

TRAT	P	VARIABLES				
		G (%)	IVG (plántulas/d)	H (%)	AP (cm)	NH (%)
T1	y_0	r=0	r=0	r=0	14,07	21,20
	a				0,06	-0,02
	b				-0,0002	NA
	c				NA	NA
	R^2				0,47	0,19
T2	y_0	r=0	4,74	8,82	13,70	17,80
	a		-0,03	0,01	0,05	0,03
	b		0,002	-0,00002	-0,0002	-0,0001
	c		-0,0000005	NA	NA	NA
	R^2		0,53	0,40	0,38	0,41
T3	y_0	r=0	4,61	10,16	14,00	20,50
	a		-0,03	0,004	0,05	-0,02
	b		0,002	NA	-0,002	NA
	c		-0,0000005	NA	NA	NA
	R^2		0,40	0,14	0,40	0,19
T4	y_0	86,5	4,86	10,4	14,00	20,9
	a	-0,04	-0,03	0,08	0,05	-0,02
	b	NA	0,002	NA	-0,002	NA
	c	NA	-0,0000005	NA	NA	NA
	R^2	0,16	0,62	0,32	0,45	0,31
T5	y_0	89,2	4,50	10,2	13,90	18,80
	a	-0,43	-0,02	0,002	0,07	0,04
	b	NA	NA	-0,00005	-0,0008	-0,007
	c	NA	NA	NA	NA	NA
	R^2	0,74	0,78	0,14	0,79	0,75

TRAT=tratamientos; P= parámetro del modelo ajustado; T1 = almacenamiento en nevera, en envase de aluminio a 7,0°C y 77,0% de humedad relativa (HR); T2 = almacenamiento en nevera, en envase de plástico a 7,0°C y 77,0% HR; T3 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de aluminio a 6,0°C y 70,0% HR; T4 = almacenamiento en cuarto frío, en envase de plástico a 6,0°C y 70,0% HR; T5= almacenamiento sin refrigeración, en envase de vidrio a temperatura media de 28°C y HR promedio de 74%. Los modelos de regresión ajustados fueron: lineal [$y_0 + ax$]; polinómico cuadrático [$y_0 + ax + bx^2$] y polinómico cúbico [$y_0 + ax + bx^2 + cx^3$]; r es el coeficiente de correlación. NA=no aplica, según el modelo ajustado.

La tendencia de pérdida de humedad (Tabla 5) fue curvilínea (cuadrática) en T2 y T5, con intercepto y efectos lineal y cuadrático mayores en T5, concordante con las menores magnitudes de germinación y de vigor, observadas bajo este método de almacenamiento, que permite fluctuaciones del contenido de humedad de las semillas y un metabolismo acelerado, debido al rango de altas temperaturas y humedades relativas también altas, propias de las condiciones locales de almacenamiento. En T3 y T4, la ganancia de humedad presentó solo efecto lineal con mayor tasa de ganancia de humedad en T4, lo que sugiere que el envase de plástico utilizado mostró menor hermeticidad y protegió menos de la humedad externa que el envase de aluminio. El almacenamiento en T1, no presentó tendencia de aumento o disminución de la humedad en el tiempo, es decir, humedad y

tiempo de almacenamiento no resultaron correlacionados, lo que indica que este tipo de almacenamiento no permite la ocurrencia de gradientes significativos del contenido de humedad, a través del tiempo.

La altura de plántula no varió estadísticamente en las pruebas de germinación realizadas con semillas almacenadas por 30 y 60 días. A los 90, 120 y 150 días de almacenamiento, el contraste C₁ (refrigerados vs no refrigerado) resultó significativo, con diferencias en altura de 4,10cm, 4,03cm y 12,47cm, a favor de los tratamientos refrigerados. Desde 180 hasta 360 días, los C₂, C₃ y C₄, no presentaron significancia estadística, con excepción de C₃, a los 360 días y C₄, a los 180 días. Esta consistencia resalta que la altura de las plántulas no fue afectada significativamente por los

cuatro tratamientos refrigerados; las condiciones de almacenamiento a bajas temperaturas no influyeron de manera diferencial en esta variable. Se ha reportado mayor acumulación de materia seca en plántulas provenientes de semillas almacenadas a bajas temperaturas (Oliveira *et al.* 2009), debido a que, por una menor actividad metabólica, la semilla dispone de mayor cantidad de reservas y está en capacidad de producir plántulas vigorosas.

Al examinar la tendencia del crecimiento en altura de las plántulas en el tiempo, las provenientes de T5, es decir, de semillas almacenadas sin control de temperatura y humedad, en envase de vidrio, presentaron la menor altura, con incrementos y disminuciones significativos y progresivos ajustados a una parábola con efectos lineal y cuadrático en el intervalo de 0 a 150 días (Tabla 5). La disminución en altura de plántula es concomitante con la pérdida progresiva de germinación y vigor bajo este tratamiento, deterioro influenciado por la alta temperatura y la humedad del microambiente del envase de vidrio, dado que no estaba completamente lleno de semillas. La transferencia de humedad desde la atmósfera de almacenamiento, activa los procesos metabólicos y, junto con las oscilaciones de la temperatura, conducen a una disminución progresiva del vigor de las semillas, por la pérdida de la integridad de las membranas (Tsfay *et al.* 2016); esto confirma que el crecimiento de las plántulas es fuertemente influenciado por factores ambientales, además de los genéticos (Copeland, 1976; Silva *et al.* 2012).

En T1, T2, T3 y T4, el crecimiento en altura de plántula, a través del tiempo, resultó curvilíneo con efectos lineal y cuadrático significativos y muy similares al comparar los coeficientes de los tratamientos entre sí (Tabla 5), resultado que no permite concluir sobre la superioridad de un tipo de envase sobre otro ni entre los dos ambientes de bajas temperaturas de almacenamiento, nevera y cuarto frío, en relación con esta respuesta de la planta.

El análisis de varianza para el número de folíolos/plántula, en las pruebas realizadas cada mes hasta los 150 días de almacenamiento, registró diferencias significativas entre los cinco tratamientos, con excepción de los 60 días (Tabla 1). El contraste C₁, en esta variable resultó significativo, con diferencias de 2,32; 3,14; 1,08 y 12,61 folíolos/planta, respectivamente, a favor de los tratamientos refrigerados. Con esta variable, nuevamente, queda evidenciado el deterioro progresivo y en corto tiempo, de las semillas almacenadas sin refrigeración. Este resultado concuerda con el de Pereira *et al.* (2015), quienes señalaron que el número de folíolos está directamente relacionado con la altura de la plántula, un indicador directo del vigor fisiológico; sin embargo, la formación de hojas puede ser afectada por las condiciones ambientales a que son sometidas, tanto las semillas como las plántulas. Se conoce que la temperatura y la humedad

relativa ejercen influencia en la velocidad de absorción de agua y en las reacciones bioquímicas para producir fotoasimilados y, por ende, en el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Carvalho & Nakagawa, 1998; Pereira *et al.* 2015).

A partir de los 180 días, los contrastes que relacionan ortogonalmente el número de folíolos/planta en los cuatro tratamientos refrigerados no presentaron significancia estadística, con excepción de C₂, a los 30 y 120 días; C₃, a los 180 y 240 días y C₄, a los 270 días, lo cual, indica que el número de folíolos/planta al igual que la altura de plántula, no fueron consistentemente afectados significativamente por alguno de los tratamientos refrigerados.

Por otra parte, se observó que al transcurrir el tiempo el número de folíolos en cada prueba disminuyó linealmente en T1, T3 y T4, a una tasa de 0,02 folíolos/d, en un intervalo de 360 días; mientras que en T2, en 360 días y en T5, en 150 días, la respuesta fue curvilínea con efectos lineal y cuadrático (Tabla 5), pero con una tasa de disminución progresiva siete veces mayor en T5. Esta tendencia de disminución del número de folíolos/planta en el tiempo estaría relacionada con el agotamiento de las reservas de las semillas en el caso de T5 o se podría deber al efecto continuado de las bajas temperaturas y parcialmente a un breve deterioro en los tipos de almacenamiento restantes.

De la investigación, se concluye que las semillas de moringa almacenadas bajo condiciones de humedad relativa media (>74%) y temperatura media 28°C, en envase de vidrio, pierden su potencial fisiológico, en 150 días. Asimismo, su almacenamiento bajo condiciones de refrigeración en nevera o cuarto frío, en envase de plástico o aluminio, permite conservar su calidad fisiológica, hasta por 360 días.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Esta investigación fue financiada por la Universidad de Córdoba.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARAMÉNDIZ-TATIS, H.; CARDONA, C.; JARMA, A.; ROBLES, J.; MONTALVAN, R. 2007. Efecto del almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de berenjena (*Solanum melongena* L.). Agr. Col. 25(1):104-112.
2. AYERZA, R. 2012. Seed and oil yields of *Moringa oleifera* variety Periyakalum-1 introduced for oil production in four ecosystems of South America. Industrial Crops and Products. 36(1):70-73.

3. BARROS, S.; DA SILVA, M.; RAMOS, S.; QUEIROZ, M. 2002. Qualidade de semente de maxixe armazenada em diferentes embalagens e ambientes. *Ciência e Agrotecn.* 2(3):539-544.
4. BESNIER, R.F. 1989. *Semillas: biología y tecnología.* Ediciones Mundi-Prensa. España. 637p.
5. BEZERRA, A.M.E.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J.B.; TEÓFILO, E. 2004a. Avaliação da qualidade das sementes de *Moringa oleifera* Lam. durante o armazenamento. *Ciência e Agrotecn.* 28 (6):1240-1246.
6. BEZERRA, A.M.E.; MOMENTE, V.G.; MEDEIROS FILHO, S. 2004b. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. *Horticult. Bras.* 22(2):295-299.
7. BRASIL, 1992. Ministerio da Agricultura e Reforma Agraria. Regras para análise de sementes. Brasília: CLAV/DNDV/SNAD/MA. 365p.
8. CAMARGO, R.E.; CARVALHO, M. 2008. Armazenamento a vácuo de semente de milho doce. *Rev. Bras. Sementes.* 30(1):131-139.
9. CARVALHO, N.E.; NAKAGAWA, J. 1998. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3ª ed. Fundação Cargill. Campinas (Brasil). 424p.
10. COPELAND, O. 1976. *Principles of Seed Science and Technology.* Minneapolis (Minn). Burgess Publishing. 369p.
11. FLORES, Z. 1996. Efecto del almacenamiento sobre la calidad de semillas de *Brachiaria dictyoneura*. *Zootec. Trop.* 14(2):113-131.
12. FOTOUO-M., H.; DU-TOIT, E.; ROBBERTSE, P. 2015. Germination and ultrastructural studies of seeds produced by a fast-growing, drought-resistant tree: implications for its domestication and seed storage. *AoB PLANTS.* 7(1):1-12.
13. KAFUKU, G.; MBARAWA, M. 2010. Alkaline catalyzed biodiesel production from *Moringa oleifera* oil with optimized production parameters. *Applied Energy.* 87(8):2561-2565.
14. MAGUIRE, D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergent and vigor. *Crop Sci.* 2(1):176-177.
15. MANZOOR, M.; ANWAR, F.; IQBAL, T.; BHNAGER, M.I. 2007. Physico-chemical characterization of *Moringa concanensis* seeds and seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84(5):413-419.
16. MARTÍN, C.; MARTÍN, G.; GARCÍA, A.; FERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, E.; PULS, J. 2013. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. *Pastos y Forrajes.* 36(2):137-149.
17. MENDOÇA, E.; RAMOS, N.; FESSEL, S. 2003. Methodology adequation for controlled deterioration test for broccoli (*Brassica oleracea* L. - var. itálica) seeds. *Rev. Bras. Sementes,* 25(1):18-24.
18. NEVES, N.; NUNES, T.; RIBEIRO, M.; OLIVEIRA, G.; SILVA, C. 2007. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Moringa oleifera* Lam. *Rev. Caatinga.* 20(2):63-67.
19. OLIVEIRA, L.M.; RIBEIRO, M.C.; MARACAJA, P.E.; CARVALHO, G. 2009. Qualidade fisiológica de sementes de moringa em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. *Rev. Caatinga.* 22(4):70-75.
20. OLSON, M.E.; FAHEY, J.W. 2011. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Rev. Mex. Biodiv.* 82(4):1071-1082.
21. PALENCIA, G.; MERCADO, T.; COMBATT, E. 2006. Estudio Agroclimático del Departamento de Córdoba. U. de Córdoba, Colombia. 126p.
22. PEREIRA, K.T.O.; SANTOS, B.R.; BENEDITO, C.; LOPES, E.E.; AQUINO, G. 2015. Germinação e vigor de sementes de *Moringa oleifera* Lam. em diferentes sustratos e temperaturas. *Rev. Caatinga.* 28(2):92-99.
23. PÉREZ, R. 2013. *Moringa oleifera*: una alternativa forrajera para ovinos. Fundación Produce. Sinaloa A.C. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Disponible desde internet en: http://www.aarfs.com.mx/images/informacion/tecnologia_agricola/moringa_oleifera_una_alternativa_forrajera_para_ovinos.pdf [con acceso el 20/01/2017].
24. POPINIGIS, F. 1985. *Fisiología da semente.* 2da. Ed., Brasília: AGIPLAN, 289p.
25. RASHID, U.; ANWAR, F.; ASHRAF, M.; SELEEM, M.; YUSUF, Z. 2011. Application of response surface methodology for optimizing transesterification of

- Moringa oleifera* oil: Biodiesel production. *Energy Conversion and Management*. 52(8-9):3034-3042.
26. ROSELLO, J.; SORIANO, J. 2008. Cómo obtener tus propias semillas. Manual para agricultores ecológicos. Colección Agricultura, Serie Agricultura Ecológica. Sevilla – España, 138p.
27. SÁNCHEZ-MACHADO, D.I.; NUÑEZ, G.J.A.; REYES, M.C.; RAMÍREZ, W.B.; LÓPEZ, C.J. 2010. Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. *Food Anal. Methods*. 3(3):175-180.
28. SILVA, P.C. DA C.; ANDRADE, L.; SOUZA, V.; FABRICANTE, J.E.; SILVA, M.C. 2012. Comportamento germinativo de sementes de *Moringa oleifera* L. em diferentes ambientes e tempos de armazenamento. *Agropec. Científ. Semiárido*. 8(1):1-6.
29. TEÓFILO, E.M.; FREITAS, J.B.S.; BEZERRA, A.M.; RAFAEL, M.S. de S. 2003. Efeito dos tipos de embalagem ambiente e tempo de armazenamento na qualidade fisiológica das sementes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) – Moringaceae. *Rev. Cient. Rural*. 8(1):115-122.
30. TESFAY, S.Z.; MODI, A.T.; MOHAMMED, F. 2016. The effect of temperature in moringa seed phytochemical compounds and carbohydrate mobilization. *S. Afr. J. Bot.* 102:190-196.

Recibido: Julio 13 de 2016

Aceptado: Febrero 9 de 2017

Cómo citar:

Ruíz-Pérez, A.; Araméndiz-Tatis, H.; Cardona-Ayala, C. 2017. Efecto del almacenamiento en la calidad fisiológica de semilla de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 20(1): 79-89.