

ESCARIFICACIÓN QUÍMICA Y TÉRMICA DE SEMILLAS SUBTERRÁNEAS DE *Centrosema rotundifolium*

Damelys Sanabria V.¹, Ramón Silva-Acuña¹, Miguel A. Oliveros¹ y Renny Barrios¹

RESUMEN

Para romper la latencia de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium* se evaluó la escarificación química con ácido sulfúrico a 98 % y la térmica con agua a 37 y 100 °C. Los tiempos de inmersión fueron: 0, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 min con H₂SO₄; 0, 9, 18, 36, 72, 144 y 288 seg en agua a 100 °C y 0, 5, 10, 20, 40, 80 y 160 seg en agua a 37 °C. Se utilizó el diseño experimental completamente aleatorizado, con tres repeticiones y 100 semillas por unidad experimental. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo con 32 min de inmersión en H₂SO₄. El ajuste por la primera derivada determinó que la germinación máxima ocurriría a los 25 min. El agua a 100 °C afectó la germinación al causar la muerte de las semillas, mientras que el agua a 37 °C no influyó en el porcentaje de semillas germinadas, ni en el de semillas duras y muertas. Las ecuaciones de regresión ajustadas en los ensayos con H₂SO₄ y agua a 100 °C demuestran que las variaciones de los tiempos de exposición explican los porcentajes obtenidos para semillas germinadas, duras y muertas de *Centrosema rotundifolium*.

Palabras clave adicionales: Leguminosas forrajeras, latencia, germinación

ABSTRACT

Chemical and thermal scarification in subterranean seeds of *Centrosema rotundifolium*

In order to break the dormancy of subterranean seeds of *Centrosema rotundifolium*, chemical scarification with concentrated sulphuric acid and thermal scarification with (boiling or warm) water were evaluated. The immersion times were: 0, 2, 4, 8, 16, 32 and 64 min (for H₂SO₄); 0, 9, 18, 36, 72, 144 and 288 sec (for water at 100 °C) and 0, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 sec (for water at 37 °C). It was used a completely randomized design with tres replications and 100 seed per experimental plot. The highest percent of germination was obtained with 32 minutes of immersion in H₂SO₄. The fit for the first derivative showed that the maximum germination percent would occur at 25 min. The water at 100 °C affected the germination, causing dead of the seeds. On the other hand, the water at 37 °C did not influence the porcentaje of germinated, hard or dead seeds. The equations for the fitted regressions in the experiments with H₂SO₄ and boiling water show that the variations of the exposition times explain the percentages obtained for germinated, hard and dead seeds of *Centrosema rotundifolium*

Additional key words: Pasture legumes, dormancy, germination

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas para el establecimiento de leguminosas forrajeras es la latencia de la semilla. En condiciones naturales, esa latencia, tiene como propósito asegurar la supervivencia de las especies bajo condiciones desfavorables para el desarrollo de las plántulas (Skerman et al., 1991; Ronaldo y Ferguson, 1992). Esta restricción causa irregularidad en la germinación provocando retardo en el establecimiento y utilización de pasturas, además de favorecer la incidencia de malezas. Las causas más comunes de latencia son la presencia de altos

niveles de inhibidores del crecimiento que bloquean las sustancias estimulantes y la presencia de una cutícula impermeable al agua y al oxígeno (Febles, 1975; Melthorpe y Muorby, 1974; Singer y Pitman, 1988).

Varias técnicas de escarificación han demostrado su efectividad para disminuir la dureza de las semillas y acelerar el proceso de germinación (Burbano, 1990; Fariñas et al., 1997). Las técnicas de escarificación química, física y térmica son de especial valor para acelerar el proceso de germinación; sin embargo, diversas especies de leguminosas responden en forma diferente a dichas técnicas, dependiendo además de su origen, época de cosecha y tiempo de

Recibido: Enero 12, 2001

Aceptado: Junio 29, 2001

¹ Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Monagas. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).

Apdo. postal 184. Maturín, estado Monagas. Venezuela

almacenamiento (Cruz y Takaki, 1983; Corral et al., 1990; Sanabria et al., 1997).

Entre las leguminosas, *Centrosema rotundifolium* tiene alto potencial para uso como cobertura en plantaciones perennes (Barrios et al., 2000) así como también para la producción, sea para formar abono verde en suelos de sabana de baja fertilidad y en la alimentación animal (Lascano et al., 1990; Rodríguez et al., 2000). *C. rotundifolium* es capaz de reaccionar a situaciones de estrés causadas por cambios ambientales, con movilización de sus reservas a favor de la reproducción por semillas aéreas o subterráneas, proceso conocido como anficarpía, y/o formación de raíces tuberosas como mecanismo adicional de persistencia (Mueller y Schultze-Kraft, 2000). Sus características morfológicas, fisiológicas y de adaptación le confieren un moderado a alto potencial en los sistemas de producción agropecuaria en los llanos orientales de Venezuela (Fariñas et al., 2000).

En función de lo expuesto, el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar las semillas subterráneas de *C. rotundifolium* en cuanto a dureza o latencia, y su comportamiento cuando son tratadas con métodos de escarificación química y térmico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aspectos generales

Los experimentos se instalaron en el Laboratorio de Certificación de Semillas de CIAE-Monagas. Se seleccionaron semillas subterráneas de *C. rotundifolium* procedentes del Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Anzoátegui, en la localidad de El Tigre, libres de material inerte, semillas deformes, perforadas o tamaños extremos. Se evaluaron dos métodos de escarificación: química y térmica. En el primero se utilizó ácido sulfúrico y en el segundo se empleó agua a dos temperaturas. Las pruebas de germinación fueron realizadas en bandejas metálicas cubiertas de papel absorbente. Cada bandeja constituía una repetición. Se colocaron 100 semillas por repetición y se mantuvo en cámaras de germinación durante ocho días. Se cuantificaron las semillas germinadas a los 4, 6 y 8 días; se consideró sólo aquellas que originaron plántulas normales, las cuales se caracterizaron por poseer un sistema radical bien desarrollado incluyendo una raíz primaria, un hipocotilo bien

desarrollado e intacto y una plúmula normal. Al octavo día se contaron las semillas duras y muertas, calificándose como semillas duras las que no germinaron en condiciones favorables, ni siquiera con tratamientos apropiados para romper su latencia y se caracterizaron por permanecer firmes y aparentemente viables, y como semillas muertas las que al final de un período de prueba no estaban duras ni produjeron plántulas (International Seed Testing Association, 1976; Skerman et al., 1991) las cuales generalmente presentaron incidencia de hongos o necrosis del tejido.

Métodos de escarificación

1. Escarificación química con H₂SO₄

Las semillas correspondientes a cada tratamiento fueron colocadas en vasos de precipitado de 50 ml, agregándoles ácido sulfúrico concentrado al 98 % hasta que quedaran completamente cubiertas. Los tiempos de exposición fueron 0, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 min. Las semillas se agitaron con bastón de vidrio cada 2 min para los dos primeros tiempos de inmersión y cada 5 min para los restantes. Luego se separaron del ácido y se lavaron durante cinco minutos con agua destilada. De cada tratamiento de inmersión, incluyendo el testigo, se seleccionaron aleatoriamente 300 semillas y se colocaron en las bandejas de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.

2. Escarificación térmica

Se evaluaron temperaturas de 37 °C (agua tibia) y 100 °C (agua hirviendo). Sobre una plancha de calentamiento se colocaron seis vasos de precipitado de 250 ml llenos de agua hasta 2/3 de su volumen. Cuando se alcanzó la temperatura establecida los vasos fueron retirados de la plancha uno por vez y se introdujeron las semillas correspondientes a cada tratamiento, agitando con bastón de vidrio durante el tiempo establecido. Posteriormente se separaron del agua y se colocaron en cápsulas de Petri hasta que estuvieran a temperatura ambiente. Se seleccionaron aleatoriamente 300 semillas por tratamiento y se distribuyeron en las bandejas siguiendo la metodología descrita anteriormente. Los tiempos de inmersión fueron de 0, 5, 10, 20, 40, 80 y 160 seg para el agua a 37 ± 2 °C y de 0, 9, 18, 36, 72, 144 y 288 seg para el agua hirviendo.

Diseño experimental

Se utilizó el diseño experimental completamente aleatorizado con seis tratamientos de inmersión y un testigo, tres repeticiones y 21 unidades experimentales por procedimiento. Los resultados fueron analizados estadísticamente por medio de regresión, determinándose la ecuación para las variables (porcentaje de semillas germinadas, duras y muertas). Se determinó el tiempo correspondiente al porcentaje máximo al igualar a cero la primera derivada de la ecuación de regresión (Alvarez, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Escarificación química con H₂SO₄

En el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos con los tratamientos de inmersión en ácido sulfúrico concentrado para la escarificación de semillas subterráneas de *C. rotundifolium*. Hubo aumento lineal de la germinación desde los 2 hasta los 32 min de inmersión en el ácido. La inmersión por 64 min presentó el menor porcentaje de semillas germinadas (27,0 %) mientras que en las semillas no inmersas en ácido la germinación fue de 64,3 %. El mayor porcentaje de germinación (98%) obtenido en el tratamiento con 32 min de inmersión, representó 34 % de aumento en relación al tratamiento sin escarificar (testigo). Este comportamiento sugiere la potencialidad de la práctica en la ruptura de la dureza del tegumento de las semillas de *C. rotundifolium* facilitando su germinación. Respuesta similar fue observada por Fariñas et al. (1997) al constatar porcentajes de germinación del orden de 97 y 94 % en semillas de *Centrosema macrocarpum* y *C. brasilianum*, respectivamente, tratadas con H₂SO₄ concentrado durante 10 min de inmersión. Estos resultados también se ratifican con los de Burbano (1990) al escarificar semillas de tres especies de *Centrosema* con H₂SO₄, cuando observó que estas aumentaban significativamente el porcentaje de germinación en relación a las no escarificadas. Por otro lado Fariñas et al. (1997) también señalan que al realizar la escarificación de semillas de *Centrosema* con ácido sulfúrico diluido la respuesta fue menor, verificando la necesidad de someterlas a mayor tiempo de exposición.

El porcentaje de semillas muertas fue similar para las semillas sin inmersión en ácido y las de

los tratamientos con inmersión en ácido hasta 32 minutos, con valores entre 1 y 2 % mientras que para 64 minutos el porcentaje de semillas muertas alcanzó el máximo valor con 72,3 %. Al observar de forma conjunta los valores de semillas germinadas, duras y muertas, se constató la disminución proporcional de las semillas duras cuando ocurrió el aumento de la germinación hasta 32 min de inmersión, en el cual alcanzaron valores de 0,3 %, y no se modificó la variable semillas muertas, que en función de los resultados no fue afectada por los tratamientos de inmersión. Caso contrario se observó en el tratamiento con 64 min de inmersión, donde se presentó disminución significativa de la germinación. Específicamente, para este último tiempo se observó que el ácido eliminó el tegumento de las semillas y probablemente causó daños de naturaleza fisiológica y como consecuencia, se elevó el porcentaje de semillas muertas y no hubo semillas duras. Skerman et al. (1991) afirman que las semillas tratadas con H₂SO₄ pueden sufrir daños por causa del calor extremo que se produce al lavar el ácido del tegumento, o bien el tegumento de la semilla cosechada puede no ser lo bastante duro para impedir que el ácido penetre y mate las semillas, aunque Rarivoson et al. (1987) reportaron que semillas de *Sesbania sp.* han requerido hasta dos horas de inmersión en H₂SO₄ concentrado para alcanzar su máxima germinación.

Cuadro 1. Valores porcentuales promedios de semillas (subterráneas) germinadas, duras y muertas de *Centrosema rotundifolium* escarificadas con H₂SO₄

Tiempo de exposición (min)	Porcentaje de semillas de <i>Centrosema rotundifolium</i>		
	Germinadas	Duras	Muertas
0	64,3	32,3	1,3
2	76,0	22,0	1,0
4	79,9	18,3	1,7
8	92,7	4,7	2,0
16	95,7	2,3	1,0
32	98,0	0,3	1,0
64	27,0	0,0	72,3

Los análisis de regresión para las variables semillas germinadas, duras y muertas (Figura 1A, B y C) presentaron tendencias de ajustes cuadrático, raíz cuadrada y cuadrático,

respectivamente. Tales ajustes fueron significativos, demostrando que las variaciones observadas en los porcentajes de semillas germinadas, duras y muertas fueron debidas a los tiempos de exposición en el ácido sulfúrico.

Al analizar el modelo de regresión cuadrática para semillas germinadas (Figura 1A), e igualando a cero su primera derivada, se determinó que el punto de máxima germinación ocurriría a los 25,5 minutos de inmersión en el ácido; por lo tanto, existe un intervalo suficientemente amplio (entre 25,5 y 32 min) el cual garantizaría seguridad para un posible tratamiento comercial, más aún, si se considera que las semillas con 8 min de exposición en el ácido alcanzaron altos valores de germinación (92,7 %) con una diferencia de 5,3% con el tratamiento de 32 minutos de inmersión. Dicho comportamiento da mayor rango de seguridad para la escarificación de semillas de esta especie, siendo superior a lo señalado para *C. macrocarpum* y *C. brasilianum*, en las cuales aumentos en el tiempo de exposición al ácido sulfúrico superiores a 13,3 minutos causaron disminución significativa del porcentaje de germinación por muerte de las semillas (Fariñas et al., 1997).

Escarificación térmica con agua a 100° C

Para la variable semillas germinadas se constató que bajo condiciones naturales (testigo) se presentó el mayor valor de germinación (67%). Caso similar se observó para las semillas duras, aunque este comportamiento no sea ventajoso, y con el valor correspondiente mas bajo de semillas muertas (Cuadro 2). Estos resultados son totalmente opuestos a lo observado con el tratamiento de inmersión en ácido sulfúrico por 32 min. A partir del tratamiento con inmersión por 9 segundos se inició la disminución gradativa del porcentaje de semillas germinadas y hubo tendencia similar en relación al porcentaje de semillas duras el cual osciló entre 14,3 % y 16,9 %, y fue totalmente opuesto a lo ocurrido con el porcentaje de semillas muertas cuyos valores oscilaron entre 47,0 y 69,6 % para los tiempos de 9 y 18 seg de inmersión, respectivamente, y entre 80 y 81 % para los demás tratamientos.

De manera general se puede señalar que la inmersión de las semillas en agua hirviendo no ofreció ventaja en relación al tratamiento testigo, siendo contrario a lo observado en semillas de

algunas accesiones de *Leucaena leucocephala*, en la cual se ha interrumpido la latencia con agua a temperatura de ebullición durante 10 seg (Sanabria et al., 1997) y 30 seg (Skerman et al., 1991).

El análisis de regresión (Figura 2A, B y C) para las variables porcentajes de semillas germinadas, duras y muertas presentaron tendencia de ajuste del tipo raíz cuadrada, cuyos coeficientes de determinación fueron significativos. Esto permite señalar que la disminución del porcentaje de germinación y de semillas duras, así como también la repuesta en el porcentaje de semillas muertas, estuvo relacionado con los tiempos de inmersión en el agua hirviendo, los cuales perjudicaron la viabilidad de las semillas de *C. rotundifolium*.

Escarificación térmica a 37° C ± 2 °C

Para todos los tiempos de inmersión evaluados no se observó efecto sobre las variables cuantificadas (Cuadro 3). Tanto sobre las semillas germinadas, como sobre las duras y muertas, se mantuvo una tendencia similar en todos los tratamientos de inmersión, demostrándose poca influencia de este tipo de tratamiento en la ruptura de la latencia de las semillas de esta leguminosa. En estos tratamientos de inmersión, el porcentaje promedio fue de 63,2; 37,0 y 0,25 % para semillas germinadas, duras y muertas respectivamente, lo que no representa ninguna ventaja en la ruptura de la latencia en comparación a los resultados del testigo con 67 % de semillas germinadas, 33 % de semillas duras y ninguna semilla muerta.

Cuadro 2. Valores porcentuales promedios de semillas (subterráneas) germinadas, duras y muertas de *Centrosema rotundifolium* sometidas a escarificación térmica con agua a 100 °C.

Tiempos de exposición (seg)	Porcentaje de semillas de <i>Centrosema rotundifolium</i>		
	Germinadas	Duras	Muertas
0	67,0	31,3	1,0
9	23,0	28,6	47,6
18	12,6	16,9	69,6
36	4,0	15,3	80,3
72	2,6	16,6	80,0
144	3,6	16,3	80,0
288	4,3	14,3	81,0

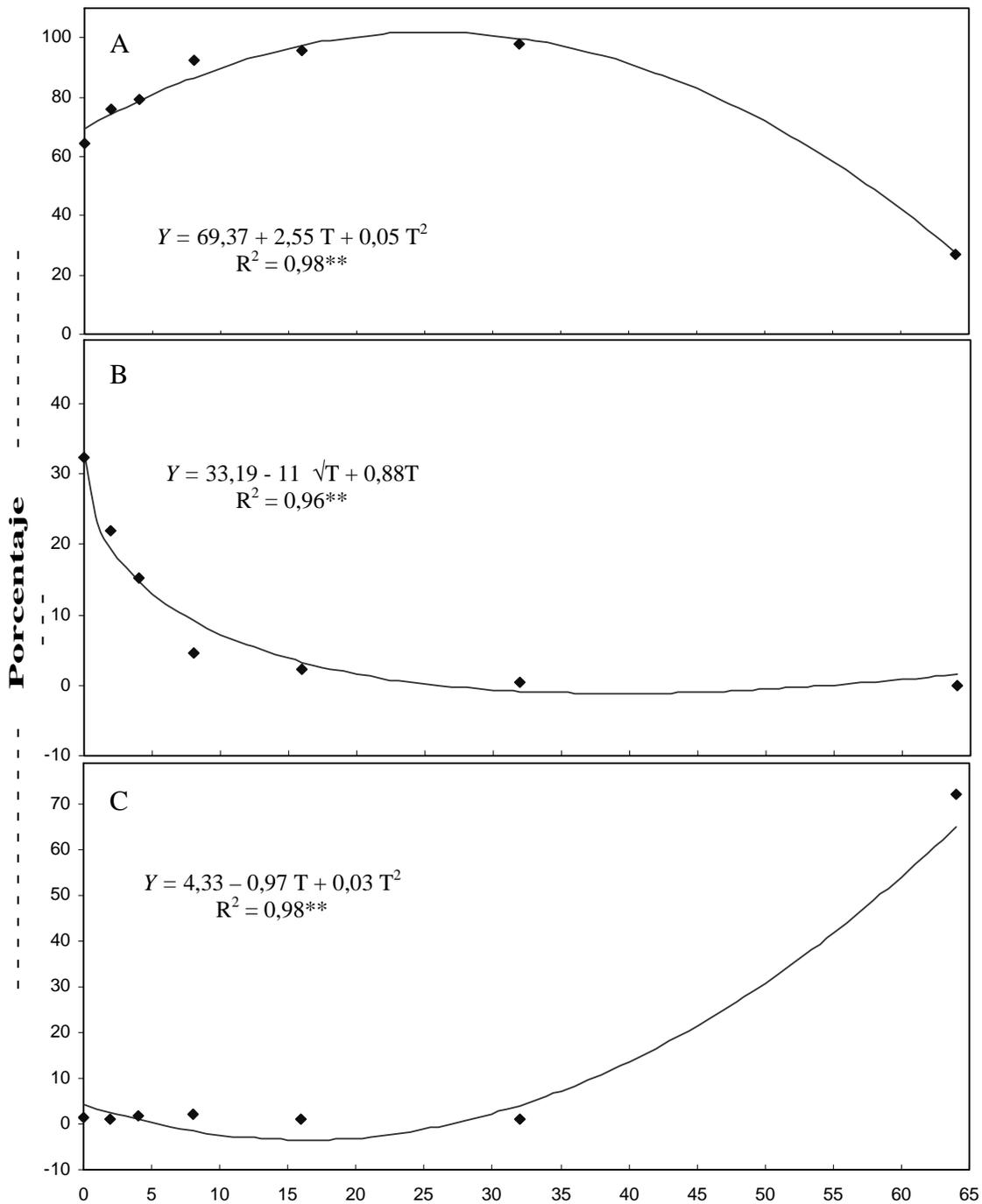


Figura 1. Ecuaciones de regresión del porcentaje de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium* sometidas a diferentes tiempos de inmersión en ácido sulfúrico A) Germinadas B) Duras C) Muertas

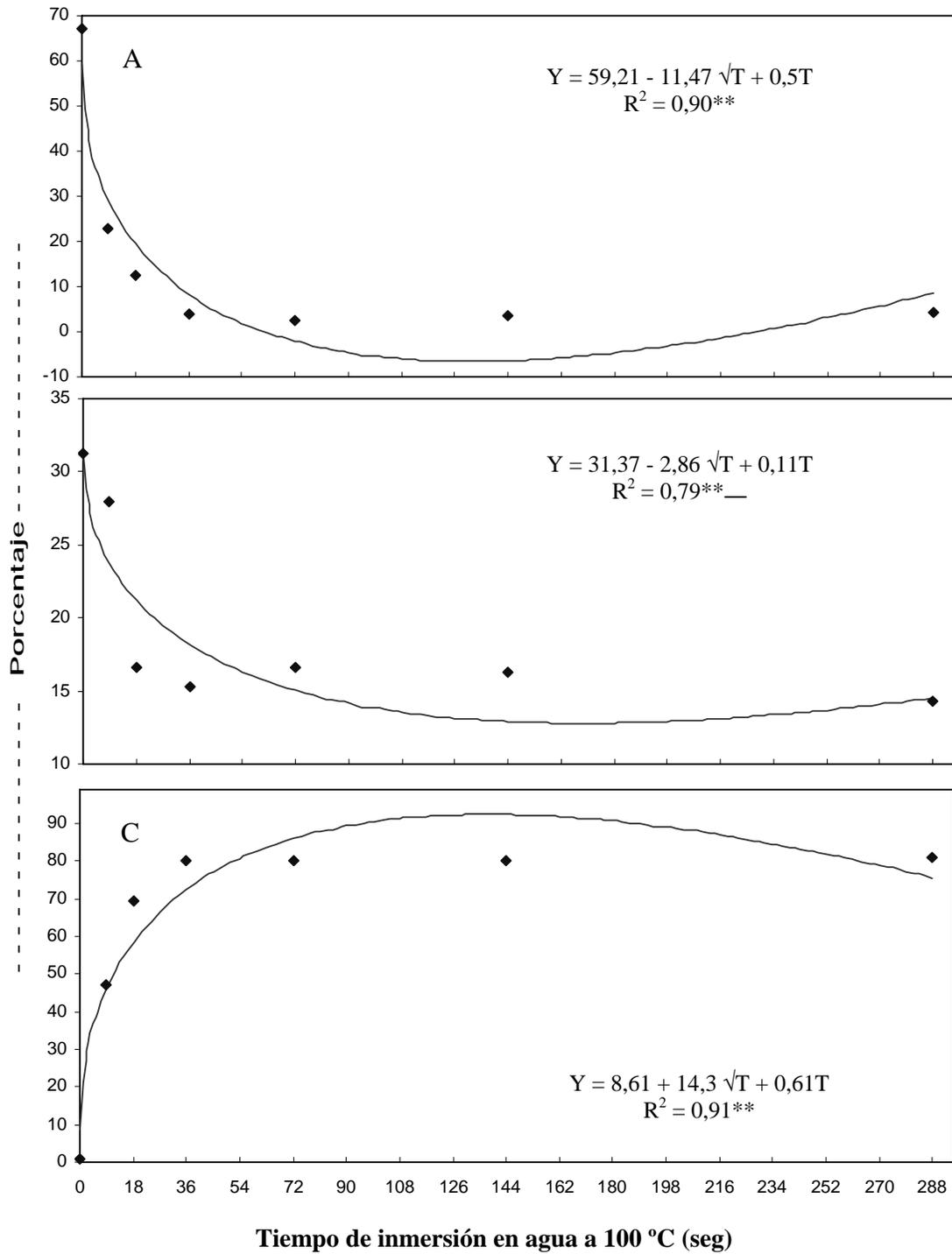


Figura 2. Ecuaciones de regresión del porcentaje de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium* sometidas a diferentes tiempos de inmersión (T) en agua a 100 °C. A) Germinadas B) Duras C) Muertas

Cuadro 3. Valores porcentuales promedios de semillas (subterráneas) germinadas, duras y muertas de *Centrosema rotundifolium* sometidas a escarificación térmica con agua a 37 °C.

Tiempo de exposición (seg)	Porcentaje de semillas de <i>Centrosema rotundifolium</i>		
	Germinadas	Duras	Muertas
0	67,0	33,0	0,0
5	62,3	36,6	0,6
10	61,7	38,3	0,0
20	62,3	36,6	0,3
40	64,3	35,2	0,6
80	63,3	36,6	0,0
160	63,3	36,6	0,0

Las variaciones en los valores de las características cuantificadas para los diferentes tratamientos fueron de naturaleza aleatoria, debido a que no se mantuvo ningún tipo de relación entre ellas. Este planteamiento se ratifica en el análisis de regresión (datos no mostrados) donde para las variables semillas germinadas y duras no se pudo ajustar ningún modelo matemático; también explicaría que las variaciones de las anteriores variables no están en función del tratamiento térmico con agua sino a características intrínsecas de la propia semilla. Estos resultados podrían indicar la presencia de un tegumento muy impermeable al agua que habría retrasado la imbibición y por consiguiente la germinación de las semillas (Skerman et al., 1991) las cuales requerirían mayor tiempo de inmersión en agua a 37 °C.

CONCLUSIONES

El método de escarificación químico con ácido sulfúrico concentrado favoreció la germinación de semillas de *Centrosema rotundifolium* cuando el tiempo de inmersión se prolongó hasta 32 min.

La escarificación con agua a 100 °C afectó la viabilidad de la semilla, mientras que el agua a 37 °C no ofreció ventajas en relación al testigo.

LITERATURA CITADA

- Alvarez, V. H. 1985. Avaliacao da fertilidades do solo (superficies de resposta-Modelos aproximativos para expressar la relacao factor-
- Barrios, R., D. Molina, J. Fariñas, F. Barreto y G. Matos. 2000. Avances en la evaluación de leguminosas promisorias como cobertura viva en palma aceitera. I Simposium Nacional: Experiencias con el género *Centrosema* en Venezuela. Universidad de Hohenheim. - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). El Tigre, estado Anzoátegui. Resumen p. 87.
- Burbano, E. A. 1990. Efecto de la escarificación química y el almacenamiento en la calidad de semillas de especies de *Centrosema*. Pasturas Tropicales 12(13):11-55.
- Corral, R., J. M. Pita y F. Pérez García. 1990. Some aspects of seed germination in four species of *Cistus* L. Seed Sci. Techn. 18 (2):321-325.
- Cruz, M. S. D. y M. Takaki. 1983. Dormancy and germination of seed of *Cloris urthonothon*. Seed Sci Techn. 11 (2):323-329.
- Fariñas, J., D. Sanabria V. y R. Silva-Acuña. 1997. Escarificación química de semillas de tres especies de *Centrosema* para sabanas bien drenadas. Zootecnia Tropical 15(2):221-237.
- Fariñas, J., S. Muller y M. Vásquez. 2000. Morfología de plántulas de *Centrosema rotundifolium* Mart. Ex Benth. I Simposium Nacional: Experiencias con el género *Centrosema* en Venezuela. Universidad de Hohenheim-Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. (INIA). El Tigre, estado Anzoátegui. Resumen p. 93.
- Febles, G. 1975. Factores que afectan la germinación. I. Factores ocurientes antes de la siembra. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas 9(1):77-79
- International Seed Testing Association. 1976. International rules for seed testing. Rules 1976. Seed Sci. Techn. (4):3-49.

respuesta). Imprenta Universitaria. Viosa, Brasil. 75 p.

10. Lascano, C. E., J. K. Teitezal y E. Pei Kong. 1990. Valor nutritivo de *Centrosema* y producción animal. In: R. Schultze-Kraft, S. Clements y R. J. (eds.) *Centrosema: Biología, Agronomía y Utilización*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. pp. 293-319.
11. Melthorpe, F. L. y J. Muorby. 1974. *Introduction to Crop Physiology*. Cambridge University Press. Cambridge.
12. Mueller S. y R. Schultze-Kraft. 2000. Influencia del manejo y del medio ambiente sobre la anficarpía en la leguminosa forrajera tropical *Centrosema rotundifolium*. I Simposium Nacional: Experiencias con el género *Centrosema* en Venezuela. Universidad de Hohenheim-Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). El Tigre, estado Anzoátegui. Resumen. p. 81.
13. Rarivoson, C., M. Scharamm y Ch. Samson. 1987. Scarifying seed of green manure legumes. *International Rice Research News Letter (Philippines)* 12 (3):47.
14. Rodríguez, I., R. Schultze-Kraft y S. González. 2000. Adaptabilidad de 6 accesiones de *Centrosema rotundifolium* a las condiciones de suelo ácido de la Mesa de Guanipa. I Simposium Nacional: Experiencias con el género *Centrosema* en Venezuela. Universidad de Hohenheim-Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). El Tigre, estado Anzoátegui. Resumen p. 99.
15. Ronaldo, P. De A. y J. E. Ferguson. 1992. La calidad de las semillas en el establecimiento de las pasturas. In: *Establecimiento y Renovación de Pasturas*. C. Lascano y J. Spain (eds). Sexta Reunión del Comité Asesor de la Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia. pp. 19-50.
16. Sanabria V. D., R. Silva-Acuña, C. Alfaro y M. Oliveros. 1997. Escarificación térmica de semillas de tres accesiones de *Leucaena leucocephala* *Zootecnia Tropical* 15(2): 67-80.
17. Singer, K. L. y W. D. Pitman. 1988. Germination requirements of a perennial *Alysicarpus vaginalis* accesión. *Agronomy J.* 80 (6):962-966.
18. Skerman, P. J., D. G. Cameron y F. Riveros. 1991. *Leguminosas Forrajeras Tropicales*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. F.A.O. Roma.