

## NOTA TÉCNICA

# GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LAS LEGUMINOSAS ARBUSTIVAS FORRAJERAS *Cratylia argentea* Y *Cassia moschata* SOMETIDAS A INMERSIÓN EN ÁCIDO SULFÚRICO

Damelys Sanabria<sup>1</sup>, Ramón Silva-Acuña<sup>1</sup>, Miguel Oliveros<sup>1</sup> y Ursulino Manrique<sup>1</sup>

### RESUMEN

Las leguminosas forrajeras, de manera general, representan alto valor protéico para la alimentación animal en condiciones de sabanas; sin embargo, tienen limitaciones para su establecimiento debido a la latencia de las semillas. En función de ello, se evaluó la germinación de semillas de *Cratylia argentea* y *Cassia moschata*, luego de recibir una escarificación química con ácido sulfúrico concentrado en inmersión durante 4, 8, 16 y 32 minutos y un tratamiento testigo (sin inmersión). Las semillas se colocaron en cámaras de germinación durante ocho días. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres repeticiones y 100 semillas por unidad experimental. Las variables cuantificadas fueron porcentaje de semillas germinadas, duras y muertas, y longitud de raíz de las plántulas. Las semillas de *Cratylia argentea* presentaron un bajo porcentaje de dureza (4 %), baja viabilidad (48 %) y la inmersión en ácido no favoreció la germinación en relación al testigo al causar la muerte de un alto porcentaje de semillas. Para las semillas de *Cassia moschata*, la inmersión de 16 minutos fue suficiente para disminuir la dureza en un 80 %, con un aumento de 64 % en el porcentaje de germinación, 16 % de semillas muertas y mayor desarrollo de las raíces en relación al testigo. Las variaciones de los tiempos de exposición y las diferencias entre especies explican los resultados.

**Palabras clave adicionales:** Escarificación, latencia, cañafístola

### ABSTRACT

#### Germination of arbustive forage leguminous seed of *Cratylia argentea* and *Cassia moschata* under different times of immersion in concentrated sulfuric acid

The forage leguminous, in a general way, represents a high protein value for the animal feeding under conditions of savannas; however, they have establishment limitations due to dormancy of the seeds. In that sense, the germination of *Cratylia argentea* and *Cassia moschata* was evaluated after receiving chemical scarification with concentrated sulfuric acid, by immersion for 4, 8, 16, and 32 min, and a control treatment (no immersion). The seeds were placed in germination chambers for eight days. A completely randomized experimental design was used, with three repetitions and 100 seeds by experimental unit. The quantified variables were: percentage of germination of hard and dead seeds and root length of young plants. The seeds of *Cratylia argentea* had low percentage of hardness (4 %), low viability (48 %) and the acid immersion did not help the germination in relation to the control, causing the death of high percentage of the seeds. For the seeds of *Cassia moschata*, the immersion during 16 min reduced the hardness in a 80 %, reaching 64 % of germination, 16 % of dead seeds and higher development of roots than the control. The variations of the immersion times and the differences between species explain the results.

**Additional key words:** Scarification, dormancy, cañafístola

### INTRODUCCIÓN

Entre los árboles y arbustos forrajeros, las leguminosas *Cassia moschata* (cañafístola) y *Cratylia argentea* (cultivar Veraniega) tienen un alto potencial para uso en alimentación animal.

*Cassia moschata* es predominante en las selvas de galerías, encontradas en las riberas de ríos de los llanos. Aunque de gran importancia, poca información bibliográfica se registra sobre su uso y comportamiento agronómico. Su mayor importancia radica en que sus frutos suplen la

---

Recibido: Agosto 26, 2003

Aceptado: Septiembre 10, 2004

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Monagas. Apdo. 184. Maturín, estado Monagas, Venezuela.

escasez de gramíneas durante la estación de sequía, representando una fuente de alimento importante para la fauna silvestre. Por otra parte, *Cratylia argentea* se desarrolla como un arbusto que alcanza entre 1,5 y 3 m de altura cuando crece en formaciones vegetales abiertas, pero puede convertirse en una liana de tipo voluble cuando está asociada con plantas más altas (Sobrinho y Nunes, 1995). El fruto es una legumbre dehiscente que contiene de 4 a 8 semillas de forma circular (Argel et al., 2001). En el estado Anzoátegui-Venezuela, el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ha venido desarrollando líneas de investigación con esta leguminosa en la altiplanicie de las mesas de los llanos orientales de Venezuela, constatando su alto potencial para uso como forraje de corte (Rodríguez, 2000).

La principal forma de propagación de las leguminosas es por semilla sexual; sin embargo, muchas semillas viables son incapaces de germinar inmediatamente después de madurar, aunque se les coloque en condiciones favorables, característica ésta denominada latencia o germinación diferida, y una de las causas es la impermeabilidad del tegumento (Corral et al., 1990). Aparentemente la latencia es un mecanismo de supervivencia ante la presencia de determinadas condiciones climáticas: temperaturas muy bajas, alternancias de épocas secas y húmedas y climas desérticos (Cruz y Takaki, 1983).

La latencia de semillas de leguminosas puede ser eliminada por escarificación química, mecánica o térmica, la cual permite acelerar el proceso de germinación (Halliday y Nakao, 1984). No obstante, se han observado diferencias entre la especie y cultivares en los métodos y tiempo de escarificación (Fariñas et al., 1997; Sanabria et al., 1997; Sanabria et al., 2001).

Las investigaciones sobre distintos métodos de escarificación de semillas de 76 especies arbóreas demostraron que el tratamiento con agua caliente no fue muy efectivo para romper la corteza dura después de 6 ó 12 meses de almacenamiento; además de esto, se agrega la restricción de que las semillas tratadas con agua caliente deben ser sembradas inmediatamente (Toral y Machado, 2002). En tal sentido, González y Navarro (2001) utilizaron ácido sulfúrico para escarificar semillas de *Albizia lebbek*. Por otra parte, la escarificación

mecánica ha sido efectiva para romper la latencia de las semillas; sin embargo, generalmente no es práctico de utilizar para grandes cantidades de semillas.

Debido al potencial forrajero de las leguminosas arbustivas *Cratylia argentea* y *Cassia moschata* para la ganadería del estado Monagas, Venezuela, el objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto del ácido sulfúrico concentrado en la germinación de semillas de estas especies arbustivas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se instaló en el Laboratorio de semillas del Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado-Monagas, adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Se utilizaron semillas de las leguminosas arbustivas *Cratylia argentea*, procedentes del banco de semillas del Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Anzoátegui, y de *Cassia moschata* (cañafístola) colectada en un bosque de galería al noreste del estado Monagas, libre de materia inerte, semillas deformes, perforadas o tamaños extremos, y de malezas. Las semillas fueron lavadas previamente en agua y se eliminaron las que flotaron. Fueron cosechadas de frutos maduros y poseían al momento de realizar el experimento 11 meses de colectadas.

Se evaluaron cinco tratamientos distribuidos a razón de 1500 semillas por especie con unidades experimentales de 100 semillas y tres repeticiones. Los tratamientos consistieron en la escarificación química de las semillas en ácido sulfúrico concentrado durante 4, 8, 16 ó 32 minutos de exposición, y un tratamiento sin escarificación (testigo). Las semillas fueron colocadas en un recipiente agregándoles el ácido hasta que quedaron completamente cubiertas; inmediatamente fueron movidas con un agitador cada 2 min para los dos primeros tiempos de inmersión y cada 5 min para los restantes. Después del tiempo de exposición las semillas se lavaron durante 5 min con agua destilada y fueron colocadas entre hojas humedecidas de papel absorbente sobre bandejas metálicas. Las bandejas fueron colocadas en cámaras de germinación durante ocho días. Se hicieron contajes de semillas germinadas a los 4, 6, 8, días, considerándose sólo aquellas semillas que originaron plántulas normales, es decir las que

poseían todas sus estructuras esenciales desarrolladas. Se hicieron contajes de semillas muertas y duras, calificándose como semillas duras las que no germinaron en condiciones favorables, ni siquiera con tratamiento adecuado para romper su latencia y se caracterizaron por permanecer firmes aparentemente viables, y como semillas muertas, las que al final de un período de prueba no estaban duras ni produjeron plántulas (ISTA, 1976; Skerman et al., 1991). Las semillas muertas presentaron incidencia de hongos o necrosis del tejido. Se midió la longitud de la radícula de las plántulas normales, a los ocho días tomándose al azar 20 plántulas por repetición.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado para cada especie y los resultados fueron analizados mediante la prueba de F y comparación de medias por la prueba de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Cratylia argentea*

**Semillas germinadas:** El mayor porcentaje de germinación se alcanzó en todos los tratamientos a los ocho días de iniciada la prueba.

El mayor promedio se observó en el tratamiento testigo (48 %; Cuadro 1) aunque fue estadísticamente similar ( $P \leq 0,05$ ) a las semillas tratadas con  $H_2SO_4$  concentrado durante cuatro (36 %) y ocho minutos (34 %). Con 16 y 32 min de inmersión de las semillas en el ácido, no hubo germinación. Este comportamiento indica que la inmersión de semillas de *C. argentea* en ácido sulfúrico concentrado durante los tiempos evaluados no favoreció la germinación en relación al tratamiento testigo (sin inmersión), indicando la poca utilidad del tratamiento con ácido en esta especie.

**Semillas duras:** La inmersión en el ácido afectó la dureza de las semillas, encontrándose el mayor porcentaje en el tratamiento testigo (4 %; Cuadro 1) significativamente superior a los tratamientos de 16 y 32 min. ( $P \leq 0,05$ ). Hubo comportamiento estadístico similar para los tratamientos con 16 y 32 min. de inmersión, en los cuales no se observaron semillas duras debido a que murieron. Este comportamiento consolida lo señalado por CIAT (1999) que reporta baja latencia física (dureza) de semillas de *C. argentea*

en condiciones del trópico bajo en Costa Rica. Los tratamientos con cuatro y ocho minutos de inmersión en el  $H_2SO_4$  fueron similares estadísticamente al testigo sin inmersión. A diferencia de los anteriores resultados, Fariñas et al. (1997) y Sanabria et al. (2001) observaron que en tratamientos con menor tiempo de inmersión en el  $H_2SO_4$  ocurría disminución en el porcentaje de semillas duras en especies del género *Centrosema*, debido a que estimuló la germinación.

**Semillas muertas:** Al aumentar los tiempos de inmersión de semillas de *C. argentea* en ácido se afectó negativamente ( $P \leq 0,05$ ) su viabilidad. El menor porcentaje de semillas muertas ocurrió en el tratamiento testigo (48 %; Cuadro 1) y los mayores se observaron en los tratamientos con 16 y 32 min de inmersión, en los cuales murieron todas las semillas. Hubo diferencias significativas entre los tratamientos de mayor tiempo de inmersión (16 y 32 minutos) y los tratamientos con 4 minutos y sin inmersión.

Al observar en forma conjunta las tres variables anteriores se destaca la disminución proporcional de las semillas germinadas con los aumentos de las semillas muertas, y baja presencia de semillas duras. En los tratamientos con mayor tiempo de exposición en ácido se observó la completa eliminación del tegumento de las semillas, lo que posiblemente causó daños al embrión y como consecuencia se elevó el porcentaje de semillas muertas. Skerman et al. (1991) afirman que las semillas tratadas con  $H_2SO_4$  pueden sufrir daños del tegumento por causa del calor extremo que se produce al lavar con el ácido, o bien el tegumento de la semilla cosechada puede no ser lo bastante duro para impedir que el ácido penetre y dañe el embrión. En el tratamiento sin inmersión en ácido hubo baja presencia de semillas duras pero alta de semillas muertas. Al respecto, Argel et al. (2001) señalan que por su baja latencia física y fisiológica, las semillas de *C. argentea* pierden viabilidad de forma relativamente rápida si son almacenadas en las condiciones ambientales de alta temperatura y humedad, comunes en regiones del trópico bajo.

Al totalizar el porcentaje de semillas germinadas, duras y muertas en el tratamiento con cuatro minutos de inmersión en  $H_2SO_4$ , se observa un déficit de tres semillas, las cuales dieron origen a plántulas anormales.

**Cuadro 1.** Comportamiento de semillas de *Cratylia argentea* con diferentes tiempos de inmersión en ácido sulfúrico concentrado

| Tiempo en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>(min) | Semillas   |       |         |
|---|------------|-------|---------|
|   | Germinadas | Duras | Muertas |
|   | (%)        |       |         |
| 0   | 48 a       | 4 a   | 48 b    |
| 4   | 36 a       | 1 ab  | 60 b    |
| 8   | 34 a       | 1 ab  | 65 ab   |
| 16  | 0 b        | 0 b   | 100 a   |
| 32  | 0 b        | 0 b   | 100 a   |
| C.V. (%)  | 30,3       | 28,4  | 11,18   |

Promedios con letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

### *Cassia moschata*

**Semillas germinadas:** El mayor porcentaje se alcanzo en todos los tratamientos a los ocho días de iniciada la prueba, aunque a los seis días ya había ocurrido casi la totalidad de la germinación.

Los diferentes tratamientos afectaron significativamente ( $P \leq 0,05$ ; Cuadro 2) el porcentaje de semillas germinadas de *C. moschata*. Cuando las semillas permanecieron entre cuatro y ocho minutos tratadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> presentaron los valores más bajos de germinación, iguales estadísticamente a la germinación obtenida con el tratamiento testigo, con un promedio global de solo 6, 7 %. Al aumentar el tiempo de inmersión de las semillas en el ácido durante 16 y 32 min se favoreció la germinación, elevándose hasta 68 y 74 %, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos. Esta respuesta es similar a lo encontrado por Fariñas et al. (1997) quienes obtuvieron aumentos en el porcentaje de germinación utilizando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en semillas de *Centrosema macrocarpum* y *C. brasilianum*, con valores de 80 y 76 %, respectivamente. Igualmente, González y Navarro (2001) obtuvieron 98 % de germinación en semillas de *Albicia lebbbeck*, recién cosechadas y hasta con 34 meses de almacenamiento, cuando fueron escarificadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, durante 40 min.

**Semillas duras:** El porcentaje de semillas duras del tratamiento testigo y los de inmersión durante cuatro y ocho minutos en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fue de 88, 70 y 78 %, respectivamente (Cuadro 2). Estos valores fueron similares entre si ( $P \leq 0,05$ ) y mucho mayores a los obtenidos con las semillas mantenidas durante 16 y 32 min en el ácido. Este comportamiento confirma la alta latencia de la

semilla de esta especie y la potencialidad de la práctica de la escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, al favorecer la germinación de forma significativa en relación a los tratamientos sin inmersión y con menores tiempos de inmersión.

**Cuadro 2.** Comportamiento de semillas de *Cassia moschata* con diferentes tiempos de inmersión en ácido sulfúrico concentrado

| Tiempo en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>(min.) | Semillas   |       |         |
|--|------------|-------|---------|
|  | Germinadas | Duras | Muertas |
|  | (%)        |       |         |
| 0  | 4 b        | 88 a  | 8 b     |
| 4  | 12 b       | 70 a  | 18 ab   |
| 8  | 4 b        | 78 a  | 18 ab   |
| 16   | 68 a       | 8 b   | 24 a    |
| 32   | 74 a       | 2 b   | 24 a    |
| C.V. (%)   | 14,59      | 13,70 | 8,34    |

Promedios con letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

**Semillas muertas:** Hubo diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los tratamientos para el porcentaje de semillas muertas de *Cassia moschata* (Cuadro 2). El menor porcentaje de semillas muertas ocurrió en el tratamiento testigo (8%). La inmersión durante 4 y 8 min incrementó el porcentaje de semillas muertas (18 %). El mayor porcentaje de semillas muertas ocurrió en los tratamientos 16 y 32 min (24 %). Este resultado demuestra que la escarificación de las semillas de *C. moschata* con ácido sulfúrico concentrado afectó la viabilidad de las semillas, en relación al tratamiento testigo. Sin embargo este efecto negativo fue mucho menor que el efecto favorable producido sobre el porcentaje de germinación. Sanabria et al. (2001) encontró que la mortalidad alcanzó sólo 2 % en semillas de *C. rotundifolium* tratadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hasta por 32 min.

### Longitud de la radícula

En el Cuadro 3 se observa que hubo efectos sobre el desarrollo de las raíces de las plántulas de *C. argentea* y *C. moschata*.

En *C. argentea* la longitud de las raíces fue similar en las plántulas provenientes de semillas tratadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante cuatro y ocho minutos, y al tratamiento testigo, con promedio global de 1,31 cm. No hubo desarrollo radicular en los tratamientos donde las semillas

permanecieron por más tiempo en el ácido, debido a que murieron. Los máximos valores de longitud de raíces para *C. moschata* se encontraron cuando las semillas tuvieron 16 y 32 min de inmersión, cuyo promedio global fue de 3,6 cm. La menor longitud se observó en el tratamiento testigo (0,5 cm). Las respuestas observadas en longitud de raíces para los diferentes tratamientos están relacionadas con la rapidez de germinación de las semillas.

**Cuadro 3.** Valores promedio de longitud de raíces (cm) para las especies estudiadas, bajo tratamientos de inmersión en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

| Tiempo en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (min) | Especie                  |                        |
|--|--------------------------|------------------------|
|  | <i>Cratylia argentea</i> | <i>Cassia moschata</i> |
| Testigo  | 1,18 a                   | 0,50 b                 |
| 4  | 1,43 a                   | 2,43 ab                |
| 8  | 1,33 a                   | 2,27 ab                |
| 16   | 0,00 b                   | 3,51 a                 |
| 32   | 0,00 b                   | 3,85 a                 |
| C.V. (%)                                       | 19,75                    | 28,65                  |

## CONCLUSIONES

Hubo diferencias en la respuesta a la escarificación con ácido sulfúrico concentrado, entre las semillas de las dos especies evaluadas. La escarificación favoreció la germinación y crecimiento de la radícula en *C. moschata* a los 16 y 32 minutos de inmersión.

El tratamiento de semillas de *C. argentea* con ácido sulfúrico no favoreció la germinación, ni el crecimiento de la radícula. A partir de 16 min. de inmersión todas las semillas murieron.

## LITERATURA CITADA

- Argel P., C. Hidalgo, J. González, M. Lobo, V. Acuña y C. Jiménez. 2001. Cv. Veraniega (*Cratylia argentea* (Desv. O. Kuntze) Una leguminosa arbustiva para la ganadería de América Latina Tropical. Boletín técnico. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). San José, C. R. 26 p.
- CIAT, 1999. Annual Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. 1999. 169 p.
- 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. 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.
- González Y. y M. Navarro. 2001. Efectos de tratamientos pregerminativos en la ruptura de la dormancia en las semillas de *Albicia lebbeck*. Pastos y Forrajes 24(3):225-228.
- Halliday J., P. Nakao. 1984. Technical note on the germination of leguminous tree seeds. Pesquisa Agropecuaria. 19:231
- International Seed Testing Association. Rurales. Seed Sci. Techn. (4):3-49
- Rodríguez I. 2000. Experiencias regionales en leguminosas forrajeras. Establecimiento, manejo y recuperación de pasturas en sabanas bien drenadas. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas. Publicación especial N° 38. 188 p.
- 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.
- Sanabria V. D., R. Silva-Acuña, M. Oliveros R. Barrios. 2001. Escarificación química y térmica de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium*. Bioagro 13(3): 117-124.
- Skerman P. J., D. G. Cameron y F. Riveros. 1991. Leguminosas Forrajeras Tropicales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Roma. 707 p.

13. Sobrinho J. y M. R. Nunes. 1995. Estudios desenvolvidos pela empresa Goiania de Memorias del Taller sobre *Cratylia*. Brasilia, Brasil. pp. 53-61
14. Toral O. y R. Machado. 2002. Introducción, evaluación y selección de recursos fitogenéticos arbóreos. Pastos y Forrajes 25(1):1-13