



SECCIÓN CIENCIAS AGRARIAS Y DE LA PESCA

Artículo original de investigación

Alternativa para mejorar la germinación y el establecimiento de leguminosas forrajeras con potencialidades agropecuarias

Yanier Acosta Fernández ^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7017-0556>
Dayamí Fontes Marrero ² <https://orcid.org/0000-0001-6573-4732>
Marcos E. Martínez-Montero ² <https://orcid.org/0000-0003-4095-5410>
Carlos Mazorra Calero ² <https://orcid.org/0000-0002-3431-9824>
José Carlos Lorenzo Feijoo ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3610-1789>
Lianny Pérez Gómez ¹ <https://orcid.org/0000-0002-0405-4441>
Abraham Escobar Gutierrez ³ <https://orcid.org/0000-0002-5111-9998>
Lina Qadir Hamed ³ <https://orcid.org/0000-0001-8236-6978>
Sershen ⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6297-7464>
Inaudis Cejas Calderón ² <https://orcid.org/0000-0003-3544-3680>
Nicolas Quintana Bernabé ² <https://orcid.org/0000-0001-8371-4786>
Claudia Linares Rivero ¹ <https://orcid.org/0000-0003-0850-8602>
Paula Fernandes ⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7668-8700>

¹ Centro de Bioplasmas. Ciego de Ávila, Cuba

² Universidad de Ciego de Ávila (UNICA). Ciego de Ávila, Cuba

³ Unidad Pluridisciplinaria de Praderas y Plantas Forrajeras (INRA). Lusignan, Francia

⁴ Universidad del Cabo Occidental. Bellville, Sudáfrica

⁵ Instituto Nacional de la Investigación Agronómica (INRA). Montpellier, Francia

*Autor para correspondencia: yacfdez@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Algunas de las especies que integran la familia de las leguminosas se utilizan como alimento animal, y adicionalmente, son una alternativa importante para mejorar la fertilidad de los suelos. Sin embargo, la variedad de leguminosas para su uso en la agricultura y la ganadería son limitados debido a la poca disponibilidad de semillas, a lo que se suma, los bajos porcentajes de germinación en las semillas. **Objetivo:** Determinar el efecto del nitrógeno líquido como tratamiento de escarificación en las semillas de *Teramnus labialis* (L. f.) Spreng. **Métodos:** Se evaluaron los efectos de este tratamiento de escarificación a nivel anatómico y fisiológico en las semillas durante la germinación y a nivel morfológico en plantas en condiciones de campo. **Resultados:** La ruptura de la dormancia se logra en el 89 % de las semillas como producto de la apertura de la fisura hilar y el agrietamiento de la testa. Además, se mejoró el vigor durante la germinación y el crecimiento inicial de las plantas. En condiciones de campo se alcanzó un 78 % de plantas emergidas y el establecimiento se logró en 4 meses. **Conclusiones:** La eficacia del nitrógeno líquido como agente escarificador en las semillas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, se demuestra a través del incremento de la germinación, la emergencia y el vigor de las plantas. Además, el uso de este tratamiento de escarificación puede ser extendido a otras especies de leguminosas forrajeras con potencialidades agropecuarias.

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Alternative to improve germination and establishment of forage legumes with agricultural potential

ABSTRACT

Introduction: Some of the species that make up the legume family are used as animal feed, and additionally, they are an important alternative to improve soil fertility. However, the variety of legumes for use in agriculture and livestock are limited due to the low availability of seeds, to which is added, the low germination percentages in the seeds. **Objective:** To determine the effect of liquid nitrogen as a scarification treatment on the seeds of *Teramnus labialis* (L. f.) Spreng. **Methods:** The effects of this scarification treatment were evaluated at the anatomical and physiological level in the seeds during germination and at the morphological level in plants under field conditions. **Results:** Dormancy breaking is achieved in 89% of the seeds as a result of the opening of the hilar fissure and the cracking of the seed coat. In addition, vigor during germination and early plant growth was improved. Under field conditions, it was reached 78% of emerged plants and establishment was achieved in four months. **Conclusions:** The effectiveness of liquid nitrogen as a scarifying agent in the seeds of *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, is demonstrated through the increase in germination, emergence and plant vigor. Furthermore, the use of this scarification treatment can be extended to other species of forage legumes with agricultural potential.

Keywords: Cover crop; dormancy; scarification; germination; legumes

INTRODUCCIÓN

La familia de las leguminosas (*Leguminosae*) económicamente representa la segunda más importante de las plantas cultivadas después de la *Poaceae* y la componen aproximadamente 770 géneros y cerca de 19 500 especies. ^(1,2) Las leguminosas son importantes en la nutrición animal, tanto por el valor alimenticio de frutos y semillas, como por el resto de la planta usada como forraje o en pastoreo. ⁽³⁾ En este sentido la biomasa de los árboles arbustos y en especial de leguminosas rastreras han tenido un papel protagónico por sus considerables contenidos de proteína y aceptable valor nutritivo. ⁽³⁾ Además, las leguminosas poseen una característica generalizada que es albergar en sus raíces bacterias fijadoras del nitrógeno atmosférico para aportarlo a la planta cuando sea necesario. ⁽¹⁾

Esta familia presenta una distribución cosmopolita, incluyendo las zonas áridas, las montañosas, las sabanas, las tierras bajas e incluso en ecosistemas acuáticos. ⁽¹⁾ Uno de los centros de mayor distribución de las leguminosas forrajeras se extiende desde México y el Caribe, hasta el norte de Argentina donde se pueden observar numerosas especies de los géneros *Arachis*, *Centrosema*, *Clitoria*, *Desmodium*, *Devaux*, *Macroptilium*, *Neonotonia*, *Stylosanthes* y *Zornia*. ⁽⁴⁾ En Cuba

los géneros de mayor importancia son *Centrosema*, *Desmodium*, *Neonotonia*, *Stylosanthes* y *Teramnus*. ⁽⁴⁾

Dentro del género *Teramnus*, una de las especies más importantes, es la herbácea perenne *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng. ^(5,6) La mayor utilización de esta especie es como fuente proteica en la dieta del ganado bovino, lo que se debe a su aceptable producción de biomasa y calidad nutricional. ^(6,7) Sin embargo, otros autores también referencian esta leguminosa como cultivo de cobertura en frutales como el plátano. ⁽⁸⁾

A pesar de las potencialidades de las leguminosas, en la actualidad no se ha podido extender su uso en los diferentes sistemas agropecuarios debido a la poca disponibilidad de semillas existente. Adicionalmente, el bajo porcentaje de germinación de las semillas limita el establecimiento en campo de estas especies y en particular de *T. labialis*. ⁽⁹⁾ Precisamente el bajo porcentaje de germinación en las semillas *T. labialis* se relacionan con una testa "dura" e "impermeable", pero sin definir la clase de dormancia de las semillas. ⁽¹⁰⁾

De las 5 clases de dormancia de semillas que se reconocen, la impermeabilidad de la testa resulta un rasgo característico de la dormancia física o combinada (física + fisiológica). ^(11,12) El primer paso para superar la dormancia física o

combinada es eliminar la impermeabilidad de la semilla mediante un tratamiento de escarificación. ⁽¹¹⁾ Estos tratamientos se agrupan en 3 métodos diferentes: los mecánicos, los químicos y los físicos. ⁽¹³⁾

El tratamiento de las semillas de *T. labialis* con H_2SO_4 (método químico) fue descrito por Muñoz, Sánchez aunque el uso de H_2O caliente (método físico) resulta el procedimiento más estudiado en esta especie. ^(14,3,15,16) Entre los métodos físicos la literatura refiere el uso del nitrógeno líquido (NL) como agente escarificador en semillas de muchas especies de leguminosas. ⁽¹⁷⁾ No obstante, es un tratamiento nunca antes utilizado para mejorar la germinación en las semillas de *T. labialis*.

Considerando los argumentos anteriores esta investigación tiene como objetivo determinar el efecto del NL como tratamiento de escarificación en la germinación de las semillas y el establecimiento de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng.

MÉTODOS

Material vegetal

La presente investigación se realizó entre los años 2019 y 2020, se utilizó la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng. Las semillas fueron donadas por el banco de germoplasma perteneciente a la entidad de Ciencia, Tecnología e Innovación (ECTI) del Centro de Bioplasmas, adscrita a la Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez (UNICA).

Efecto del nitrógeno líquido en las semillas

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal, Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez y en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Universidad de Kwazulu-Natal, Sudáfrica. Se tomaron dos muestras de 200 semillas, una muestra se escarificó por inmersión directa en NL durante 30 min y la otra muestra no se trató (tratamiento Control) y se realizaron las siguientes determinaciones: ⁽¹⁸⁾

El estudio anatómico se realizó mediante la metodología convencional de microscopía electrónica de barrido. Se tomaron 2 muestras de 20 semillas ($n = 20$) por cada tratamiento y se montaron en porciones de metal con cinta de carbono y un revestimiento de oro por medio de un recubridor de pulverización catódica (Q150R ES). Cada semilla se observó a 200X con un microscopio (Carl Zeiss, LEO-1450) y se fotografiaron con una cámara Canon (EOS 600D) acoplada al microscopio.

El estudio histológico se realizó según la metodología descrita por Johansen. ⁽¹⁹⁾ Se tomaron 2 muestras de 20 semillas ($n = 20$) por cada tratamiento y se fijaron durante 48 h en una solución FAA (CH_2O al 40 % (v:v), 5 mL; C_2H_6O al 70 % (v:v), 90 mL y H_2O destilada, 5 mL). Posteriormente, las semillas

fueron deshidratadas en una serie creciente de C_2H_6O : H_2O al 50 %; 75 %; 85 %; 95 %; 100 %; 100 % y 100 % (v:v) (dejándolas 2 h en cada solución). Una vez deshidratadas las semillas, se realizó la inclusión en parafina con una temperatura de fusión de 58 °C. Se realizaron 20 bloques de parafina para cada tratamiento y se colocó una semilla por bloque. Se realizaron cortes con un micrótopo para parafina de rotación manual (KD-202A) a 5 μm y se recogieron los cortes en un baño de María (Fried Electric, WBS-11) durante 5 s $\pm$ 2 s a 40 $\pm$ 1 °C, sobre un portaobjeto impregnado con una solución de gelatina al 1 % (m:v). Los portaobjetos se colocaron en una estufa (HS62A) durante 24 h a una temperatura de 35 °C $\pm$ 1 °C. Finalmente, los cortes se tiñeron con safranina durante 24 h y se observaron 20 cortes (uno por semilla) a 200X en un microscopio electrónico (Carl Zeiss MicroImaging, GmbH 37081), y se fotografiaron partes de la testa y la región hilar con una cámara Canon (EOS 600D) acoplada al microscopio.

Estudio de la germinación: Se tomaron cuatro repeticiones de 25 semillas ($n = 4$) por cada tratamiento de escarificación más el Control y se colocaron a germinar en placas Petri sobre papel de filtro humedecido durante 28 días. Se determinó el porcentaje de semillas germinadas y se calcularon las siguientes variables numéricas asociadas al vigor: (T50) tiempo necesario para que germine el 50 % de las semillas, (IG) índice de germinación, (TMG) tiempo medio de germinación y (UG) uniformidad de la germinación.

Efecto de nitrógeno líquido en las plantas

El experimento se realizó en la finca "La Esperanza", municipio Ciro Redondo, Ciego de Ávila entre los años 2019 y 2020, sobre un suelo ferralítico rojo compactado eútrico. ⁽²⁰⁾ Se sembraron parcelas de 4 m de largo por 3 m de ancho (12 m²) y se realizó un diseño completamente aleatorizado con 3 parcelas (repeticiones) por tratamiento, un tratamiento de semillas sin escarificar (control) y el otro de semillas que se escarificaron por inmersión directa en NL.

Durante el establecimiento de las plantas se determinaron los siguientes caracteres, plantas emergidas a los (7, 14, 21, 28, 35 y 42) días después de la siembra ($n = 3$) y cobertura foliar (%) con un intervalo de 30 días, hasta los 180 días. Durante la fase reproductiva se determinó el número de legumbres por m², la longitud de las legumbres (cm), el número de semillas por legumbre, la masa de 1000 semillas (g) y el total de semillas por hectárea (kg ha⁻¹).

Procesamiento estadístico de los resultados

En el procesamiento estadístico de los datos se empleó el utilitario *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS para Windows, versión 23.0, Copyright SPSS Inc., 1989-1997). Se

realizaron pruebas paramétricas (*t-student* y ANOVA, Tukey), para una significación del 5%. En cada figura se representa el número de muestras utilizadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del nitrógeno líquido en las semillas

El efecto de la escarificación con NL en la testa de las semillas de *T. labialis* se muestra en la figura 1. La microscopía electrónica de barrido mostró testas completamente intactas en el 80 % de las semillas sin escarificar (figura 1 A), mientras en el 100 % de las escarificadas con NL se observaron múltiples grietas (figura 1 B) y en el 10 % se pudo constatar pérdida de parte de la testa (figura 1 C).

Las grietas que se observan fueron abundantes en toda la anatomía de la testa en las semillas escarificadas con NL, pero la profundidad de las mismas no se pudo determinar con exactitud solo con este experimento. Con esta finalidad se realizó un estudio histológico de las diferentes capas de la testa y la región hilar de las semillas de *T. labialis* y los resultados se muestran en la figura 2.

La capa externa de la testa correspondió a una fina cutícula (figura 2 A y C) y seguidamente, se observó una capa de células macroesclereidas compactada (figura 2 A y C) y

finalmente la capa subepidérmica de células osteoesclereidas (figura 2 A y C). En la región hilar se pudo apreciar una capa externa de células contra-empalizada unida a la capa macroesclereidas (figura 2 B y D) y debajo de la fisura hilar se encontró la barra de traqueidas piriforme rodeada por un anillo de células aerenquimáticas (figura 2 B y D).

Los resultados de esta investigación son pioneros en mostrar la anatomía y la disposición de las diferentes capas de células que componen la testa y la región hilar de las semillas de *T. labialis*. Las características anatómicas observadas en estas semillas se corresponden con lo descrito para especies de la subfamilia Papilionoideae por Okonwu y Ariaga y da Silva, de Oliveira. ^(21,22)

Por primera vez se demuestra que la disposición estrecha y compactada de las células macroesclereidas, unido al cierre de la fisura hilar, son los responsables de la impermeabilidad en las semillas de *T. labialis*. Similares resultados se informaron para varias especies de la familia *Leguminosae* en investigaciones que realizaron Luan, Zhao y Jaganathan, Yule. ^(23,24)

Las múltiples grietas que se observaron en la testa de las semillas de *T. labialis*, cuando se escarificaron con NL, sucedieron en la capa de células macroesclereidas llegando hasta la osteoesclereida, mientras la fisura hilar se agrietó hasta la barra de traqueidas. Por tanto, desde el punto de vista morfológico,

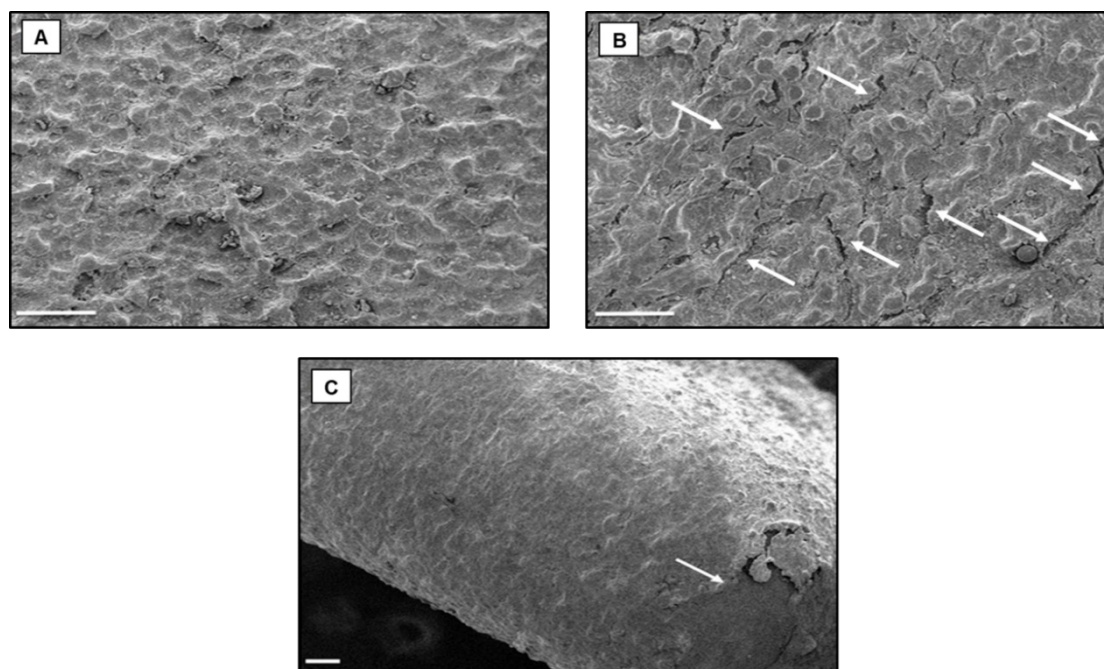


Fig. 1. Anatomía de la testa en semillas de *T. labialis*; A) semillas sin escarificar (control); B) y C) semillas escarificadas con NL durante 30 min (NL); las flechas señalan múltiples grietas B) y pérdida de parte de la testa C). La barra representa 100 μ m

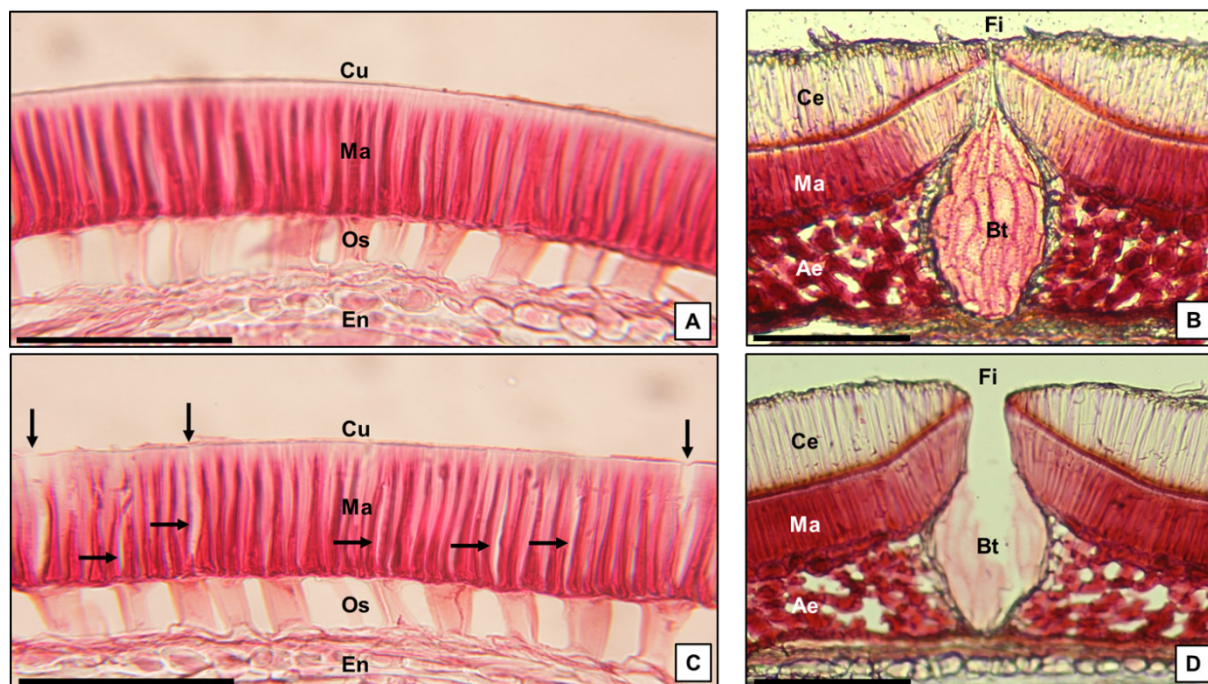


Fig. 2. Anatomía de la testa (A y C) y la región hilar (B y D) en semillas de *T. labialis* sin escarificar (control, A y B) y escarificadas con NL durante 30 min (NL, C y D). (Ae) aerénquima; (Bt) barra de traqueidas; (Ce) capa de células contra empalizada; (Cu) cutícula; (En) endospermo; (Fi) fisura hilar; (Ma) capa de células macrosclereidas en empalizada y (Os) capa de células osteosclereidas. Leyenda: Las flechas indican grietas en la capa de células macrosclereidas. La barra representa 100 μm

los tejidos que componen el embrión no se afectaron durante la exposición de las semillas a las bajas temperaturas del NL.

La aparición de grietas en la testa de semillas en varias especies de leguminosas con dormancia física, así como la apertura de los puntos naturales de entrada de agua (hilo, micrópilo, lente) después de utilizar algún tratamiento de escarificación, diferente al NL, se demostró por Erickson, Merritt.⁽²⁵⁾ En este estudio las grietas se relacionaron con el incremento en la capacidad de imbibición y germinación de las semillas.

La pérdida de impermeabilidad ocasionó un aumento de la germinación en las semillas de *T. labialis* y en el vigor durante la germinación (tabla 1). El uso de NL como agente escarificador exhibió el mayor porcentaje de germinación (89 %), con diferencias estadísticas del control (31 %). Además, para este tratamiento (NL) las variables numéricas asociadas al vigor de las semillas (T_{50} , IG, TMG y UG) fueron estadísticamente diferentes a los del tratamiento control (tabla 1).

El incremento en los porcentajes de germinación y los valores obtenidos en todas las variables numéricas asociadas al vigor de las semillas (tabla 1) cuando se usó el NL, demuestran la efectividad de este tratamiento para utilizarlo en las semillas de *T. labialis*. Este resultado se corresponde con los obtenidos en otras investigaciones donde el uso del NL como agente escari-

ficador resultó un tratamiento efectivo para superar la dormancia física en semillas de varias especies de leguminosas.⁽²⁶⁾

El uso del NL como agente escarificador fue efectivo para superar la dormancia física en las semillas de este cultivar. No obstante, para generalizar este tratamiento en la especie se hace necesario comprobar su efectividad durante la emergencia y desarrollo vegetativo de las plantas.

Efecto de nitrógeno líquido en las plantas

El porcentaje de plantas de *T. labialis* que emergieron durante los primeros 42 días después de la siembra se muestra en la figura 3A. Se aprecian diferencias significativas en el porcentaje de plantas que se obtuvieron a partir de las semillas sin escarificar (control) y las que se escarificaron con NL en cada día de evaluación, apreciándose mejores resultados en este último.

En el tratamiento de semillas sin escarificar (control) se registró emergencia de plantas durante los 42 días de evaluación, con un porcentaje final del 26 %. Este resultado demuestra que la dormancia física presente en las semillas de *T. labialis* ocasiona que la emergencia de las plantas suceda de forma dispersa en el tiempo, además de obtenerse bajos porcentajes de plantas en relación con el número de semillas que se sembraron.

Tabla 1. Variables numéricas asociadas a la germinación y vigor de las semillas de *T. labialis* sin escarificar (control) y escarificadas por inmersión directa en nitrógeno líquido

Indicador	Control	NL
Germinación (%)	31,00 ± 2,80 (b)	89,00 ± 4,00 (a)
T50 (días)	7,94 ± 0,69 (a)	2,14 ± 0,15 (b)
IG (semillas días-1)	1,06 ± 0,06 (b)	6,95 ± 0,28 (a)
TMG (días)	9,12 ± 0,85 (a)	2,98 ± 0,21 (b)
UG (días)	11,78 ± 0,24 (a)	2,86 ± 0,23 (b)

Legenda: Medias con letras desiguales en una misma fila tienen diferencias estadísticamente significativas (t de Student, $p \leq 0,05$, $n = 4$). (T_{50}) tiempo necesario para que germine el 50 % de las semillas, (IG) índice de germinación, (TMG) tiempo medio de germinación y (U) uniformidad de la germinación. Solo para el procesamiento estadístico los datos se transformaron según $y' = y^{0.5}$. Los intervalos indican media ± error estándar de la media.

La cobertura foliar generada por las plantas que se obtienen de semillas escarificadas con NL, en cada día de evaluación, fue estadísticamente superior en relación con el tratamiento donde las semillas no se escarificaron (control) (figura 3B). Cuando las semillas no se escarificaron (control), las plantas cubrieron el 40 % del área a los 120 días, el 57 % a los 150 días y el 74 % a los 180 días después a la siembra. En este tratamiento la cobertura foliar que se obtiene en consecuencia de un número reducido de plantas emergidas que, junto al lento crecimiento y desarrollo de las mismas, disminuyeron la capacidad de la especie para colonizar y cubrir el área donde se sembró.

Los porcentajes de plantas emergidas que se obtienen en esta investigación, para el tratamiento de semillas sin escarificar (control), se corresponden con los resultados que informaron con anterioridad para esta especie Gómez, Fernández y Fontes, Mazorra. ^(27,9) Estos autores determinaron que los bajos porcentajes de germinación y emergencia, unido al lento crecimiento de las plantas, son los factores que afectan el establecimiento de la especie.

El mayor porcentaje de plantas emergidas (22 %) en este tratamiento (control) se observó durante los primeros 28 días. Este resultado se corresponde con la proporción de semillas sin dormancia dentro del lote. En las 2 últimas evaluaciones (días 35 y 42) emergió el 4 % de las plantas restantes, lo que indica que las condiciones a las que se expusieron las semillas dormantes de *T. labialis* después de la siembra permitieron eliminar la impermeabilidad de la testa.

Las fluctuaciones de temperatura, la humedad del suelo y la acción de los microorganismos son factores que permiten debilitar la testa de una semilla con dormancia física. ⁽²²⁾ Así, la semilla logra iniciar la germinación, lo que permite la emergencia de plantas de forma escalonada en el tiempo, aunque

este proceso se desarrolla lentamente y puede durar desde unos pocos días hasta varios años. ⁽²⁸⁾

Después de escarificar las semillas con NL, el porcentaje de plantas emergidas fue de 78 % y se concentró en los primeros 21 días posteriores a la siembra. Estos resultados demuestran que este tratamiento de escarificación no favorece únicamente la germinación en condiciones controladas de laboratorio, sino también, la emergencia de las plantas en campo.

La emergencia representa un proceso crucial en la supervivencia de la nueva planta y determina si esta puede competir exitosamente con sus vecinos para desarrollarse, florecer y reproducirse apropiadamente al final de su etapa de crecimiento. ⁽²⁹⁾ Alcanzar una emergencia de plantas rápida y uniforme después de la siembra resulta una ventaja para el establecimiento de cualquier especie y está relacionada con la potencia germinativa y el vigor de las semillas. ^(30,31)

En la presente investigación fue diferente el porcentaje de germinación en condiciones controladas de laboratorio (89 % ver tabla 1) y el porcentaje de emergencia en campo (78 %, ver figura 3A) después de escarificar las semillas con NL. Esto pudo deberse a semillas que no germinaron o que germinaron y no alcanzaron la emergencia en campo, en ambos casos, debido a condiciones menos favorables a las controladas en el laboratorio. Entre estas condiciones adversas destacan la humedad, la temperatura y la calidad del aire en el suelo, aunque también la fertilidad, la salinidad, la compactación del suelo y la profundidad de siembra de cada semilla individual. ⁽²⁹⁾

El porcentaje de área cubierta a los 180 días posteriores a la siembra, en el tratamiento control, resulta similar a los resultados que obtuvieron Hernández, Carballo y Fontes, Mazorra en trabajos de investigación que realizaron en este cultivar. ^(32,16) Estos últimos autores especificaron que cuando

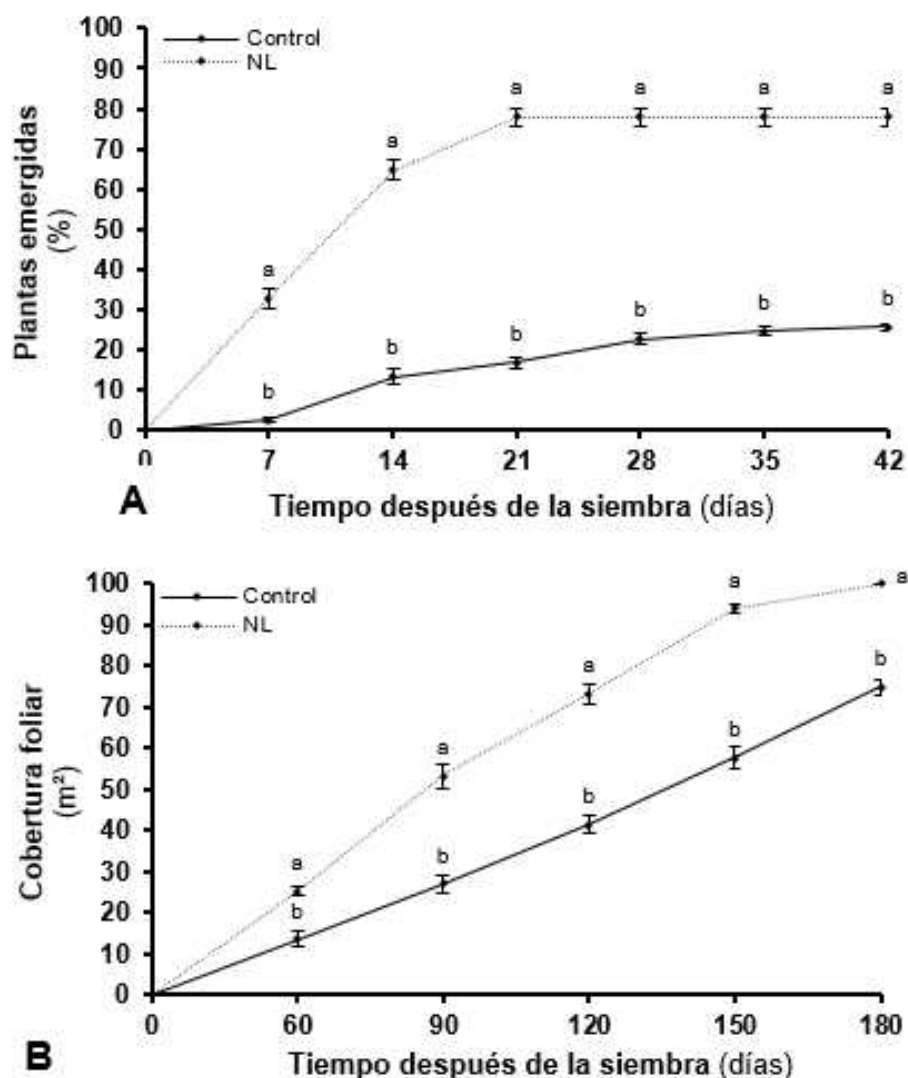


Fig. 3. Porcentaje de plantas emergidas (A) y cobertura foliar (B) de plantas de *T. labialis* obtenidas de semillas sin escarificar (control) y escarificadas con NL durante 30 min (NL). Medias con letras desiguales, para cada día y figura, tienen diferencias estadísticamente significativas (t de Student, $p \leq 0,05$, $n = 3$). Solo para el procesamiento estadístico los datos se transformaron según $y' = 2 \cdot \arcsen ([y/100]^{0,5})$. Las barras verticales indican media $\pm$ error estándar de la media

la cobertura foliar de *T. labialis* alcanza, como mínimo, el 70 % del área cubierta, se puede catalogar como establecida. El uso del NL como tratamiento de escarificación permitió alcanzar el 73 % y 92 % del área cubierta a los 120 días y 150 días posteriores a la siembra. El incremento de área cubierta en este tratamiento, con respecto al control, se encuentra estrechamente relacionado con la densidad de plantas por m², la altura de las mismas y el número de hojas por planta que se alcanzaron en este tratamiento.

Fontes, Mazorra demostraron que el uso de H₂O caliente durante 2 min como tratamiento de las semillas permite el

establecimiento de este cultivar con el 82 % del área cubierta a los 180 días después de la siembra.⁽¹⁶⁾ Por lo tanto, con el uso de NL como agente escarificador se garantiza establecer este cultivar en un menor periodo de tiempo (120 días) en comparación con el uso de H₂O caliente como tratamiento de las semillas antes de la siembra.

Durante la fase reproductiva se evaluaron varios caracteres relacionados con el rendimiento de las plantas de *T. labialis* y los resultados se muestra en la tabla 2. El número de legumbres por m² (3152) y el total de semillas por hectárea (244,46 kg) fueron estadísticamente superiores en el trata-

Tabla 2. Componentes del rendimiento en plantas de *T. labialis* obtenidas de semillas sin escarificar (control) y escarificadas con NL durante 30 min (NL)

Caracteres	Control	NL
Número de legumbres por m2	1696 ± 21,45 (b)	3152 ± 33,85 (a)
Longitud de las legumbres* (mm)	39,55 ± 0,15 (a)	39,61 ± 0,13 (a)
Número de semillas por legumbre*	7,69 ± 0,04 (a)	7,72 ± 0,02 (a)
Masa fresca de 1 000 semillas (g)	6,14 ± 0,05 (a)	6,24 ± 0,06 (a)
Semillas por hectárea (kg ha-1)	126,95 ± 2,78 (b)	244,46 ± 5,36 (a)

Leyenda: Medias con letras desiguales en una misma fila tienen diferencias estadísticamente significativas (t de Student, $p \leq 0,05$, $n = 3$, (*) $n = 100$). Solo para el procesamiento estadístico los datos de número de legumbres por m² y número de semillas por legumbres se transformaron según $y' = y^{0.5}$. Los intervalos indican media ± error estándar de la media.

miento de semillas escarificadas con NL en comparación al control (1696 kg y 126,95 kg, respectivamente). La longitud de las legumbres, número de semillas por legumbres y la masa fresca de 1000 semillas no mostraron diferencias significativas entre ambos tratamientos.

En las plantas que se obtienen de semillas sin escarificar, los resultados que se alcanzan en todos los caracteres evaluados son similares a los que informaron González y Mendoza y Fontes, Mazorra para *T. labialis*.^(15,16) La longitud de las legumbres, el número de semillas por legumbres y la masa fresca de 1000 semillas también se corresponden con las características fenotípicas descritas para este cultivar por Menéndez y Skerman, Cameron.^(5,33)

El mayor número de legumbres por m² y semillas por hectárea observado en las plantas que provienen de semillas escarificadas con NL, se debe a la mayor cantidad de plantas (ver figura 3A) y cobertura foliar (ver figura 3B) que se obtuvo en este tratamiento. Una mayor área foliar en contacto directo con la radiación solar resulta un factor muy importante para garantizar una adecuada floración y fructificación en las leguminosas tropicales.⁽³⁴⁾

El estudio que se realizó durante la fase reproductiva confirma que el uso del NL como agente escarificador no ocasiona variabilidad a nivel morfológico, al menos en los caracteres evaluados. Estos resultados coinciden con los obtenidos en plantas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum*, *Chrysanthemum morifolium* Ramat., *Sorghum*, *C. arietinum*.^(35,36,37,38,39) En estos trabajos investigativos no se encontraron diferencias fenotípicas entre las plantas adultas que se obtienen de semillas crioconservadas y sin crioconservar.

Conclusiones

La eficacia del NL como agente escarificador en las semillas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, se demuestra a través de la ruptura de la testa y el incremento de la germinación, la emergencia y el vigor de las plantas. Adicionalmente, se reduce el tiempo para el establecimiento de especie y se incrementa la producción de semillas por ha. Además, el uso de este tratamiento de escarificación puede ser extendido a otras especies de leguminosas forrajeras con potencialidades agropecuarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Llamas F, Acedo C. Las leguminosas (*Leguminosae* o *Fabaceae*): una síntesis de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. Ambio Ciencias. 2016;14(1):5-18.

2. Azani N, Babineau M, Bailey CD, Banks H, Barbosa AR, Pinto RB, *et al.* A new subfamily classification of the *Leguminosae* based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group. Taxon. 2017;66(1):44-77.

3. Mazorra CA, Fontes D, Donis LH, Martínez J, Acosta Y, Espinosa I, *et al.* Diagnóstico tecnológico y socioeconómico del establecimiento de *Psidium guajava* L. y *Teramnus labialis* en Ciego de Ávila, Cuba. Pastos y forrajes. 2016;39(4):259-64.

4. Pizarro EA, editor Especies arbustivas, gramíneas y leguminosas para el trópico americano. IX seminario de pastos y forrajes; 2005 2005; San Cristobal, Venezuela: Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

5. Menéndez J. *Teramnus* Swartz. Pastos y forrajes. 1982;5(3):251-63.

6. Toral OC, Navarro M, Reino J. Prospection and collection of species of interest for livestock production in two Cuban provinces. Pastos y Forrajes. 2015;38(3):220-5.

7. Machado R, Olivera Y. Caracterización morfológica de una colección de *Teramnus* spp. Pastos y forrajes. 2008;31(2):119-27.

8. Gutiérrez IR, Pérez G, Benega R, Gómez L. Coberturas vivas de leguminosas en el plátano (*Musa* sp.) FHIA 03. Cultivos tropicales. 2002;23(3):11-7.
9. Fontes D, Mazorra C, Acosta Y, Pardo J, Martínez J, Hernández J, *et al.* Comportamiento productivo de coberturas vivas de leguminosas herbáceas en una plantación de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. Enana Roja Cubana eea-1840. Universidad&Ciencia. 2018;7(2):297-308.
10. Reino-Molina J, Toral-Pérez O, Fonte-Marrero D, Morales-Querol D. Calidad de las semillas de accesiones colectadas en la provincia de Ciego de Ávila, Cuba. Avances en Investigación Agropecuaria. 2019;23(1):49-55.
11. Baskin CC, Baskin JM. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. 2nd ed. ed. San Diego, CA: Academic Press; 2014. 1586.
12. Rodrigues-Junior AG, Santos MT, Hass J, Paschoal BS, De-Paula OC. What kind of seed dormancy occurs in the legume genus *Cassia*? Scientific Reports. 2020;10(1):1-11.
13. Apodaca-Martínez M, Cetina Alcalá VM, Jasso-Mata J, López-López MÁ, González-Rosas H, Uscanga-Mortera E, *et al.* Ruptura de la latencia física y germinación de semillas de *Chiranthodendron pentadactylon* (Malvaceae). Bot Sci. 2019;97(2):211-7.
14. Muñoz BC, Sánchez J, Montejo LA, González Y, Reino J. Valoración germinativa de 20 accesiones de leguminosas almacenadas en condiciones desfavorables. Pastos y Forrajes. 2009;32(3):1-15.
15. González Y, Mendoza F. Comportamiento de la germinación de *Teramnus labialis* Cv. Semilla Clara. II. Tratamientos antes de almacenar. Pastos y forrajes. 1991;14(3):227-34.
16. Fontes D, Mazorra C, Pulido L, Cubillas N, Hernández N, Lazo M, *et al.* *Teramnus labialis*: leguminosa promisorio para la producción diversificada en fincas citrícolas. Zootecnia Tropical. 2008;26(3):351-4.
17. Wu G, Jaganathan GK, Song D, Liu B. Cryopreservation of selected physical dormant species with special *socus* on dormancy breaking time. Research Journal of Seed Science. 2017;10(1):38-42.
18. Mira S, Schnadelbach A, Correa EC, Pérez-García F, González-Benito ME. Variability of physical dormancy in relation to seed mechanical properties of three legume species. Seed Science and Technology. 2017;45(1):540-56.
19. Johansen DA. Plant microtechnique. 1940.
20. Hernández A, Pérez J, Bosch D, Rivero L, Camacho E, Ruiz J. Clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos Ministerio de la Agricultura AGRINFOR Ciudad de La Habana, Cuba. 1999.
21. Okonwu K, Ariaga C. Effects of Seed Treatment on Removal of Physical Dormancy in *Canna indica* L. International Journal of Plant & Soil Science. 2017;14(1):1-9.
22. da Silva BM, de Oliveira C, Vitti F, Daiton R. Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia pauciflora* Ducke. Journal of Seed Science. 2018;40(3):237-45.
23. Luan Z, Zhao J, Shao D, Zhou D, Zhang L, Zheng W, *et al.* A comparison study of permeable and impermeable seed coats of legume seed crops reveals the permeability related structure difference. Pakistan Journal Botany. 2017;49(4):1435-41.
24. Jaganathan GK, Yule KJ, Biddick M. Determination of the water gap and the germination ecology of *Adenanthera pavonina* (Fabaceae, Mimosoideae); the adaptive role of physical dormancy in mimetic seeds. AoB PLANTS. 2018;10(5).
25. Erickson TE, Merritt DJ, Turner SR. Overcoming physical seed dormancy in priority native species for use in arid-zone restoration programs. Australian Journal of Botany. 2016;64(5):401-16.
26. Mira S, Arnal AL, García FP. Seed germination of *Phillyrea angustifolia* L., a species of difficult propagation. Forest systems. 2017;26(1):4.
27. Gómez I, Fernández JL, Olivera Y. Efecto del estiércol vacuno en el establecimiento y la producción de semillas de *Teramnus labialis*. Pastos y Forrajes. 2007;30(2):213-9.
28. Penfield S. Seed dormancy and germination. Current Biology. 2017;27(17):874-8.
29. Boschi F, Latorre P, Saldanha S, Machado J, Bentancur O, Moure S. Importancia de las semillas duras en leguminosas forrajeras producidas en Uruguay. Agrociencia Uruguay. 2016;20(2):43-50.
30. Navarro M, Febles G, Torres V. Effects of scarification and storage on vigor expression of *Albizia lebbek* (L.) Benth seeds. Cuban Journal of Agricultural Science. 2016;50(3):465-78.
31. Rajjou L, Duval M, Gallardo K, Catusse J, Bally J, Job C, *et al.* Seed germination and vigor. Annual Review of Plant Biology. 2012;63(1):507-33.
32. Hernández D, Carballo M, González A, Sánchez T, Reyes F, Castrellón J, *et al.* Composición botánica de gramíneas y leguminosas seleccionadas por vacas que pastaron en un sistema silvopastoril multiasociado. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2001;35(3):221-9.
33. Skerman PJ, Cameron DG, Riveros F. Leguminosas forrajeras tropicales. Roma (Italia): FAO;1991. 707 p.
34. Matías C, Matías Y. Efecto de los soportes en la producción de semillas de *Teramnus labialis* cv. Semilla Clara. 1. Selección de soporte. Pastos y forrajes. 1995;18(1):51-7.
35. Cejas I, Méndez R, Villalobos A, Palau F, Aragón C, Engelmann F, *et al.* Phenotypic and molecular characterization of *Phaseolus vulgaris* plants from non-vryopreserved and cryopre-served seeds. American Journal of Plant Sciences. 2013;4(1):844-9.
36. Zevallos B, Cejas I, Engelmann F, Carputo D, Scarano M-T, Yanes E, *et al.* Phenotypic and molecular characterization of plants regenerated from non-cryopreserved and cryopreserved wild *Solanum lycopersicum* Mill. seeds. CryoLetters. 2014;35(3):216-25.
37. Bi W-L, Pan C, Liu J, Wang Q-C. Greenhouse performance, genetic stability and biochemical compounds in *Chrysanthemum morifolium* "Hangju" plants regenerated from cryopreserved shoot tips. Acta Physiologiae Plantarum. 2016;38(11):1-10.
38. Villalobos A, Arguedas M, Escalante D, Martínez J, Zevallos BE, Cejas I, *et al.* Cryopreservation of *Sorghum* seeds modifies germination and seedling growth but not field performance of adult plants. Journal of Applied Botany and Food Quality (JABFQ). 2019;92(1):94-9.
39. Villalobos A, Campbell R, Díaz R, Martínez J, Escalante D, Martínez-Montero ME, *et al.* Chickpea seed cryostorage alters germinant but not adult plant growth. Biología. 2020;76(1):55-61.

Recibido: 20/06/2025

Aprobado: 5/07/2025

Agradecimientos

Lourdes Yabor, Lázaro Hernández, Lelurlys Napoles, Aurora Pérez, Oscar Concepción, Lázara Sara Pérez, Jorge Martínez, Guillermo García, Félix

Santiago, Lázaro E. Pulido, Hilda B. Wencomo, Daileny Forte, Rosa Acosta, Mario Varela, Jorge A. Sánchez, Juan L. Pérez, María de los Ángeles Torres, Byron E. Zevallos, Eliosha Hajari, Monika Höfer. Jutta Papenbrock.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada, ni con la institución que representa.

Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, Marcos E. Martínez-Montero, Carlos Mazorra Calero, Sershen Naidoo
- Curación de datos: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, Carlos Mazorra Calero, José Carlos Lorenzo Feijoo, Abraham Escobar-Gutierrez
- Análisis formal: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero
- Investigación: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, Carlos Mazorra Calero, Lianny Pérez Gómez, Lina Qadir Hamed, Claudia Linares Rivero
- Metodología: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, Marcos E. Martínez-Montero, Sershen Naidoo, Nicolas Quintana Bernabé, Paula Fernandes
- Supervisión: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, Marcos E. Martínez-Montero, Carlos Mazorra Calero, Abraham Escobar-Gutierrez, Sershen Naidoo, Inaudis Cejas Calderón, Paula Fernandes

- Redacción: Yanier Acosta Fernández, Dayamí Fontes Marrero, José Carlos Lorenzo Feijoo, Inaudis Cejas Calderón

Financiamientos

Para la realización de una parte importante de la investigación que condujo a este Premio Nacional de la Academia de Ciencias de Cuba se contó económicamente con el apoyo de: Proyecto Territorial, PT223CA001-002, Utilización de microorganismos autóctonos benéficos y productos naturales en plantas proteicas y conejos en la provincia de Ciego de Ávila. Financiamiento para movilidad y estancia en la Unité Pluridisciplinaire Pairies et Plantes Fourragères (INRA), Lusignan, Francia, otorgada por la Embajada de Francia en Cba.

Cómo citar este artículo

Acosta Fernández Y, Fontes Marrero D, Martínez-Montero ME, Mazorra Calero C, Lorenzo Feijoo JC, Pérez Gómez L et al. Alternativa para mejorar la germinación y el establecimiento de leguminosas forrajeras con potencialidades agropecuarias. An Acad Cienc Cuba [Internet] 2025 [citado en día, mes y año];15(2):e3097. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/3097>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2025.

