

**Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez**  
**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

## **Trabajo de Diploma**



**Influencia de la temperatura y la luz en la germinación de  
semillas de dos especies de leguminosas herbáceas tropicales**

**2017-2018**

**Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez**  
**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo**



**Título:** Influencia de la temperatura y la luz en la germinación de semillas de dos especies de leguminosas herbáceas tropicales.

**Autor:** Yoel Martín Sánchez.

**Tutor:** MCs. Yanier Acosta Fernández.

**2017-2018**

## **Pensamiento**

En la tierra hace falta personas que trabajen más y critiquen menos, que construyan más y destruyan menos, que prometan menos y resuelvan más, que esperen recibir menos y dar más, que digan mejor ahora que mañana.

**Ernesto Guevara de la Serna.**



## **Dedicatoria**

Le dedico este gran sueño que he logrado hacer realidad en mi vida a mi madre, padre, toda mi familia, pero sobre todo a mi persona por esforzarse y superar todos los obstáculos cuando hubo que hacerlo.



## Agradecimientos

Me gustaría agradecer a muchas personas por haberme ayudado a lograr este gran sueño en mi vida el de poder ser un profesional, por aconsejarme cuando hizo falta, entenderme cuando lo necesitaba y sobre todas las cosas darle las gracias a todos aquellos que me apoyaron en los momentos difíciles que me tocó vivir en esta etapa de mi vida

- Le agradezco a mi madre la persona que siempre me apoyo, que nunca me dejo solo, que me aconsejo siempre que me hizo falta y sobre todas las cosas que siempre estuvo a mi lado pasara lo que pasara.
- A mi padre por brindarme su apoyo siempre que lo necesite.
  
- A mi abuela Edelma por estar siempre a mi lado.
- A toda mi familia por parte de madre y padre, pero en especial a mis tías Tania y Caridad por los consejos que me dieron.
- A mi primo Yuniel por estar siempre que me hizo falta en estos 5 años y porque si no lo pongo, se molesta.

Quiero agradecerle en especial a mi tutor por haberme ayudado a lograr este gran sueño en mi vida, por permitirme trabajar a su lado y sobre todo por el respeto y la confianza que siempre me brinda.



## Resumen

Para determinar la influencia de la temperatura y la Luz en la germinación de semillas recién cosechadas de dos leguminosas herbáceas tropicales (*Teramnus labialis* (L.f.) Spreng y *Neonotonia wightii* (Cvs.) Tinaroo y Cooper), se desarrolló un experimento en áreas del Laboratorio de Fisiología Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en la Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez. Para el desarrollo de la investigación se estableció una secuencia experimental que comenzó con la determinación de la temperatura Mínima, Óptima y Máxima de germinación para cada especie, donde se evaluó un rango que varió desde 10 hasta 45°C, según la especie. En el segundo momento, se determinó la influencia de diferentes fotoperiodos, que fueron desde luz constante hasta oscuridad constante, sobre la germinación de ambas especies. Como principal resultado se obtiene que la temperatura óptima de germinación para la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng., es de 35°C, la mínima de 20°C y la máxima de 40°C. En tanto para la especie *Neonotonia wightii*, (Cv.) Tinaroo, la temperatura óptima de germinación es de 20°C, la mínima de 15°C y la máxima de 35°C y para el cultivar Cooper, la temperatura óptima de germinación es de 25°C, la mínima de 15°C y la máxima de 35°C. Como segundo resultado se determinó que las dos especies objeto de estudio son indiferentes a la necesidad de luz para la germinación de sus semillas, por lo que se pueden denominar como, no fotoblásticas.

## Índice

1. Introducción.....	1
2. Revisión bibliográfica.....	5
2.1. Generalidades de la Familia <i>Leguminosae</i> .....	5
2.2. Principales características de la especie <i>Teramnus labialis</i> (L. f.) Spreng.....	5
2.3. Generalidades de la Especie <i>Neonotonia wightii</i> .....	6
2.3.1. Cultivar Cooper.....	6
2.3.2. Cultivar Tinaroo.....	7
2.4. Definición de semilla.....	7
2.4.1 La semilla.....	7
2.4.2. Desarrollo de la semilla.....	8
2.5. Proceso de germinación.....	10
2.6. Factores que afectan la germinación.....	11
3. Materiales y Métodos.....	17
3.1. Recolección de las semillas utilizadas.....	17
3.2. Ensayos de germinación.....	18
3.3. Determinación de la temperatura base, óptima y máxima de germinación.....	18
3.4. Evaluación de la influencia de la luz en la germinación.....	18
3.5. Procesamiento estadístico de los resultados.....	19
4. Resultados y Discusión.....	20
4.1. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie <i>Teramnus labialis</i> (L.f.) Spreng.....	20
4.1.1. Semillas germinadas.....	20
4.1.2. Semillas muertas.....	22
4.2. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie <i>Neonotonia wightii</i> (Cv.) Tinaroo.....	23
4.2.1. Semillas germinadas.....	23
4.2.2. Semillas muertas.....	25
4.3. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie <i>Neonotonia wightii</i> (Cv.) Cooper.....	27
4.3.1. Semillas germinadas.....	27
4.3.2. Semillas muertas.....	29
4.4. Efecto de la Luz sobre la germinación en semillas de <i>Teramnus labialis</i> (L.f.) Spreng., y <i>Neonotonia wightii</i> (Cvs.) Cooper y Tinaroo.....	30
5. Conclusiones.....	34

<b>6. Recomendaciones</b> .....	35
<b>7. Bibliografía</b> .....	36



## 1. Introducción.

La familia de las leguminosas (*Fabacea*) está conformada por aproximadamente 700 géneros y más de 20 000 especies (Doyle, 2013) y entre sus componentes más representativos se encuentran las formas arbóreas o arbustivas de constitución leñosa y las herbáceas, que poseen la particularidad de conformar cubiertas y asociarse fuertemente con la vegetación circundante (Machado, 2004). En Cuba, las leguminosas ocupan el primer lugar en cuanto al número de especies dentro de la flora (Yepes, 1971), siendo capaces de crecer y desarrollarse en áreas de baja fertilidad y escasas precipitaciones, con una alta adaptación a nuestras condiciones climáticas (Gómez *et al.*, 2003).

En la ganadería cubana, el uso de las leguminosas como forraje, se encuentra dirigido a elevar la producción de leche y carne en el ganado vacuno (Ruiz *et al.*, 2015). Las mismas pueden ser utilizadas como asociaciones en sistemas silvopastoriles y agrosilvopastoriles, permitiendo disminuir los costos de producción e incrementando la estabilidad del sistema (Díaz *et al.*, 2012).

En la rama agrícola, pueden ser utilizadas como cultivos de cobertura en diferentes tipos de frutales, destacándose, entre otros, la guayaba (Acosta, 2014). El establecimiento de especies de leguminosas como coberturas vivas permite incrementar la fertilidad del suelo al incorporar nitrógeno atmosférico por fijación simbiótica y disminuir la dependencia de los fertilizantes químicos, contribuyendo a reducir la erosión, mejorar la estructura del suelo, reducir las variaciones de temperatura del mismo y controlar las arvenses (Barrios-Maestre *et al.*, 2011).

Entre las leguminosas más estudiadas en Cuba y en especial en la provincia de Ciego de Ávila, destacan las especies, *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng., (Fontes *et al.*, 2008; Acosta, 2014 y Fontes *et al.*, 2018). A pesar, de toda la información recolectada, en la actualidad aún no se ha podido generalizar el uso de estas dos especies, debido, en gran medida, a la incapacidad que presentan sus semillas para

germinar rápidamente y en un porcentaje que asegure su rápido establecimiento en los diferentes sistemas donde son utilizadas.

Por lo expuesto anteriormente, es importante conocer, cómo influyen los factores del ambiente en la germinación de las semillas de estas especies, ya que esto determinará la densidad de plantas a lograr y también su uniformidad (Caruso, 2012). En ambientes desfavorables conocer la capacidad de la especie para sortear la etapa germinación-emergencia con éxito es fundamental para determinar su factibilidad como cultivo (Windauer *et al.*, 2007).

Entre los factores ambientales que influyen en la germinación de una semilla y la velocidad con que ello ocurre se puede mencionar, humedad del sustrato, temperatura, luz, oxígeno, y dióxido de carbono, entre otros (Baskin y Baskin, 2014; Ahmed, 2015). De los factores antes mencionados, la humedad y temperatura son los más determinantes en el proceso de germinación, y cuando la humedad no es limitante, la tasa y el porcentaje de germinación dependen de la temperatura (Hadas, 2004).

El efecto de la temperatura sobre la germinación estaría relacionado con las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras su rehidratación (Rajjou *et al.*, 2012). La germinación de una semilla se produce dentro de un rango determinado de temperatura, donde es posible identificar: temperatura base, óptima y máxima de germinación, las que pueden ser determinadas experimentalmente (Finch-Savage, 2004). La temperatura base es el límite inferior sobre la cual se produce la germinación; en general las temperaturas base, óptima y máxima pueden ser muy variables entre especies e incluso entre cultivares de una misma especie (Finch-Savage, 2004).

En relación al requerimiento de luz, las semillas de muchas especies germinan a altos porcentajes tanto en la luz como en la oscuridad (Baskin y Baskin, 2014), pero dependiendo de la especie, las semillas pueden germinar sólo a la luz (Baskin y Baskin 2003b) o sólo en la oscuridad (Morgan y Lunt, 1994). En

algunas especies, las semillas germinan a porcentajes más altos en la luz que en la oscuridad (Grime *et al*, 1981; Baskin y Baskin, 1988), pero en otras las semillas germinan a porcentajes más altos en la oscuridad que a la luz. Por otra parte, cuando las semillas requieren luz para germinar, se les denomina fotoblásticas positivas, cuando requieren oscuridad, fotoblásticas negativas y cuando la luz no interfiere con el proceso de germinación, neutral o no fotoblásticas (Damasceno, 2018).

Por lo antes señalado y teniendo en cuenta el siguiente **problema**: Bajos porcentajes de germinación de las especies *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng., durante el establecimiento en los sistemas agropecuarios; se hace imperante conocer los requerimientos de temperatura y luz para la germinación de las mismas.

Partiendo de la problemática anterior, se formula la siguiente **Hipótesis**: Si se determinan los requerimientos de temperatura y luz para la germinación de las semillas de *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng., se podrán alcanzar mayores porcentajes de germinación en el establecimiento de los sistemas agropecuarios.

**Objetivo general:**

Determinar los requerimientos óptimos de temperatura y luz para la germinación de semillas de *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng.

**Objetivos específicos:**

- Determinar la temperatura base, óptima y máxima para la germinación de semillas recién cosechadas de *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng.
- Determinar la influencia de la luz sobre la germinación de semillas recién cosechadas de *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng., a temperatura constante.

### **Novedad científica**

La determinación de los requerimientos óptimos de temperatura y luz para la germinación de semillas de *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo y *Teramnus labialis* (L.f) Spreng.

### **Valor práctico**

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten tener elementos necesarios para programar las épocas de siembra idóneas para cada especie, teniendo en consideración los requerimientos de temperatura necesarios para que se exprese un mayor porcentaje de germinación y de esta forma lograr el establecimiento en los diferentes sistemas agropecuarios de una manera más rápida y segura.

## 2. Revisión bibliográfica.

### 2.1. Generalidades de la Familia *Leguminosae*.

La familia de las leguminosas (*Leguminosae*) la conforman 700 géneros y aproximadamente 20 000 especies siendo esta una de las tres más amplias de las angiospermas (Doyle, 2013). Presenta como componentes específicos, sus formas arbóreas y arbustivas de constitución leñosa, hasta las formas herbáceas suculentas, en estas últimas, desde las que poseen la particularidad de conformar cubiertas más o menos densas sobre el suelo hasta las que tienen la posibilidad de trepar y asociarse fuertemente con la vegetación circundante (Machado, 2004).

Esta familia presenta una distribución cosmopolita, incluyendo las zonas áridas, las montañosas, las sabanas, las tierras bajas e incluso en ecosistemas acuáticos (Binder, 1997). Estas ocupan el primer lugar en cuanto al número de especies en la flora de Cuba (Sauget y Liogier, 1951; Yepes, 1971), quienes informaron 433 taxones de los cuales 239 corresponden a *Faboideae*; 113 a *Caesalpinioideae* y 81 a *Mimosoideae*. Esta amplitud permitió, en las expediciones llevadas a cabo por varios investigadores entre los que se destacan Machado y Roche (2004) y Álvarez (2005), poder identificar una gran diversidad de géneros en las diferentes regiones del país.

### 2.2. Principales características de la especie *Teramnus labialis* (L. f.) Spreng.

*Teramnus labialis* (L. f.) Spreng. Es una especie originaria de América tropical y está representada por varios ecotipos en Cuba, Jamaica, Haití, Barbados, Colombia, Paraguay, Brasil y Argentina, pero frecuente en Centro América (Menéndez, 1982). En Cuba abunda en su región oriental, aunque también se encuentra en menores cantidades en la zona centro-occidental del país, particularmente en Villa Clara y Matanzas (Menéndez, 1982). Esta especie es una leguminosa de semillas pequeñas, cuyo establecimiento se dificulta por poseer plántulas pequeñas (Yepes, 1971).

Esta es una especie perenne, estolonífera, de tallos finos, de la que se destacan dos variedades: con semilla clara de entrenudos, y hojas mayores y con semilla oscura de entrenudos y hojas menores (Skerman *et al.*, 1991). Las hojas son trifoliadas, cuyo foliolo central mide de 4-5 cm, lampiñas por el haz con pelos aplicados en el envés. Las flores son blancas, muy pequeñas en racimos axilares. Las vainas, aplanadas y pubescentes, miden de 3.5-5 cm de longitud y de 2-3 mm de ancho con 6-10 semillas de coloración pardo claro hasta negras, según la variedad (Menéndez, 1982).

En Cuba, el mejor comportamiento lo exhibe en suelos del tipo Loam Arenoso Fino, pero se establece de igual modo en suelos Oscuros Plásticos Gleysosos en los Gley Ferralíticos, en los Ferralíticos Pardos Rojizos y en suelos no Calcáreos. A pesar de ser una leguminosa de semillas pequeñas, su establecimiento se logra en 6-8 meses después de la siembra, siempre que se empleen densidades de 5-6 kg/ha, lo que se atribuye a su facilidad para la nodulación espontánea y su facilidad para entremezclarse con otras especies (Menéndez, 1982).

### **2.3. Generalidades de la Especie *Neonotonia wightii*.**

#### **2.3.1. Cultivar Cooper.**

El cultivar *Cooper* es una planta desarrollada en Lawes, Queensland y se distribuyó comercialmente en agosto de 1962 por el Comité de Enlace Pratense de Queensland, la semilla original procedía de Kongwa, Tanzania, y llegó en enero de 1959. Es una planta con tallos ramificados, esbeltos y estoloníferos, pubescentes. Los pelos del tallo son blancos y con reflejos, lo que le da un aspecto ceniciento-plateado (Skerman *et al.*, 1991).

La inflorescencia se ve fuertemente interrumpida. Flores blancas, con estrías rosa-violetas en el estándar. Vainas apretadas, vellosas, con cinco semillas aproximadamente, semillas pardo claro. Este cultivar puede distinguirse del "Clarence" y el "Tinaroo" por su vestidura ceniciento-plateada, de su foliolo de forma oblicua y lo apretado de sus vainas. Es un cultivar resistente a la sequía

y tolera el exceso de humedad, aunque se desarrolla mucho mejor en un régimen pluviométrico intermedio. Es más productiva en su primer año de crecimiento (Skerman *et al.*, 1991).

### **2.3.2. Cultivar Tinaroo.**

El cultivar *tinaroo* es una planta desarrollada en Atherton y se distribuyó comercialmente en 1962, la semilla original procedía de Kenya (Skerman *et al.*, 1991).

Los tallos adquieren una coloración parda en la epidermis con la edad, son moderadamente pilosos. Los brotes jóvenes carecen de pigmentos. Los pelos de los tallos son de semierectos a pegados a ellos y apuntan hacia la base. Foliolos aovados- agudos, casi glabros a veces, la cara inferior tiene una nerviación fina. Las flores son blanco-crema con pequeñas vetas violeta claro, moteadas a veces. El crecimiento a partir de semillas es más lento que el de ``Clarence`` y ``Cooper`` durante el primer año, comienza a florecer de principios a mediados de junio y la semilla madura en septiembre, es un cultivar que forma un elevado porcentaje de semilla dura (Skerman *et al.*, 1991).

## **2.4. Definición de semilla.**

### **2.4.1 La semilla.**

La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, regeneración de los bosques y sucesión ecológica (Rao *et al.*, 2007). Es una unidad reproductiva compleja, característica de las plantas vasculares, que se forma a partir del óvulo vegetal, generalmente después de la fertilización (Bewley *et al.*, 2013). La propagación por semillas es el método principal por el cual las plantas se reproducen en la naturaleza y uno de los métodos de propagación más eficaces y ampliamente utilizados para los cultivos. La semilla en sí, sin

embargo, es el producto final de un proceso de crecimiento y desarrollo dentro de la planta madre.

#### **2.4.2. Desarrollo de la semilla.**

Se reconocen en semillas dicotiledóneas tres fases fisiológicas o estados de desarrollo: histodiferenciación, expansión celular y maduración seca (Bewley *et al.*, 2013; Sreenivasulu y Wobus, 2013).

La etapa de histodiferenciación se caracteriza por la diferenciación del embrión y el endospermo debido, sobre todo, a la división celular. En este estado el embrión alcanza el comienzo del estado cotiledonal. Existe un rápido incremento tanto en masa fresca como en masa seca. En dicotiledóneas, la embriogénesis procede a través de los estados característicos: proembrional, globular, corazón, torpedo y cotiledonal. Los nutrientes necesarios llegan al embrión en formación desde la planta madre a través del suspensor hasta los últimos estados de su desarrollo cuando es sustentado por sustancias procedentes del endospermo. Cuando el embrión alcanza la madurez, los cotiledones constituyen el principal tejido de almacenamiento, el cual ahora ocupa la mayoría de la cavidad de la semilla (Fait *et al.*, 2005; Bewley *et al.*, 2013; Sreenivasulu y Wobus, 2013).

La expansión celular es un período de un aumento rápido del volumen celular a menudo llamado "llenado de la semilla", debido a la acumulación de reservas. En este estado existe un rápido incremento de ADN, ARN y síntesis proteica en la semilla (Kimura y Nambara, 2010). Como principales sustancias de reservas se encuentran carbohidratos, proteínas de reserva y lípidos (van der Schoot *et al.*, 2011; Bewley *et al.*, 2013; Miquel *et al.*, 2014). Las sustancias de reserva son sintetizadas en las semillas en desarrollo a partir de compuestos de bajo



peso molecular que son trasladados desde la planta madre, como sacarosa, asparginina, glutamina y minerales. En dicotiledoneas existe una conexión vascular entre la planta madre y la semilla (floema y xilema). Este flujo desde la planta madre generalmente se esparce en los integumentos (cubierta de la semilla) y por difusión alcanza el endospermo y las demás estructuras de la semilla. No existe conexión vascular directa entre la planta madre y la semilla lo cual la protege de enfermedades, las cuales, sin embargo, pueden acumularse en las capas exteriores de la cubierta (Singh y Johri, 1972).

Las semillas al final del estado II alcanzan la madurez fisiológica. La madurez fisiológica es anterior a la madurez seca y ocurre cuando las semillas adquieren la máxima masa seca a través de la acumulación de reservas (Farrant y Moore, 2011; Copeland y McDonal, 2012). Las semillas en estas condiciones pueden ser removidas de la cápsula o fruto y muestran alta viabilidad y vigor (Bewley *et al.*, 2013).

Las semillas en el estado de madurez seca se caracterizan por una pérdida rápida de agua al no existir una extensa conexión vascular con la planta madre (Vicente-Carbajosa y Carbonero, 2005). Es notable el bajo nivel de humedad que es capaz de tolerar la semilla, mientras que muchas plantas no toleran niveles de humedad inferiores a 20 % de su masa seca, las semillas ortodoxas usualmente permanecen viables a niveles de humedad inferiores a 5 % (Singh *et al.*, 2003; Li-Rong y Jian-Guo, 2009).

Las semillas ortodoxas se preparan para la madurez seca hacia finales del estado II, antes de la madurez fisiológica. El ácido abscísico (ABA) es la señal principal para la inducción de la tolerancia a la desecación (An y Lin, 2011). Los mecanismos fisiológicos para tolerar condiciones secas extremas no están

completamente dilucidados, pero se correlacionan a un incremento en azúcares (especialmente di y oligosacáridos) y proteínas LEA (Hoekstra *et al.*, 2001). Se piensa que estas moléculas preservan las proteínas y membranas al reemplazar las funciones del agua cuando las células se deshidratan y pasan a un estado altamente viscoso conocido como estado *vítreo* (Buitink y Leprince, 2004).

Al terminar la madurez seca las semillas no germinan debido a que están secas o dormantes. Una ulterior exposición de las semillas secas a un ambiente favorable provoca la germinación. Sin embargo, las semillas dormantes no germinan incluso en condiciones favorables. Existen una serie de ventajas ecológicas para las semillas dormantes y este comportamiento es rasgo común en muchas semillas (Bewley *et al.*, 2013; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2014).

## **2.5. Proceso de germinación.**

A partir de una lectura cuidadosa del artículo de Evenari (1980/81) sobre la historia de la investigación sobre la germinación, se llega a la conclusión de que Teofrasto (c 372-287 a. C.) debería ser llamado el padre de la ecología de la germinación de semillas. Este notable filósofo y científico griego primitivo sabía que: (1) las reservas alimenticias se almacenan en semillas, (2) las condiciones ambientales bajo las cuales las semillas maduran afectan sus características de germinación y (3) la germinación puede estar influenciada por factores climáticos, inhibidores, edad de la semilla y abrigos de semillas.

La germinación se define como un conjunto de procesos que se inician con la captación de agua por la semilla y finalizan con la elongación de los ejes embrionarios y la penetración de la radícula por las estructuras que rodean al embrión (Bewley 1997). Según Besnier (1965), la aparición de la radícula a través de las cubiertas seminales es el primer indicio visible de la germinación.

Según Bewley y Black (1994), el clásico curso trifásico de la imbibición de las semillas refleja la rápida absorción inicial del agua por estas cuando están secas (fase 1). Posteriormente es seguido por un período de elongación asociado a la actividad enzimática y al incremento de las tasas de respiración y asimilación, lo cual se manifiesta en la utilización del alimento almacenado y su transportación a las zonas en crecimiento (fase 2). Finalmente ocurren sucesivas divisiones celulares que traen como consecuencia la aparición de la radícula y la plúmula (fase 3).

Puesto que el embrión debe crecer para que ocurra la emergencia, se requiere turgencia y extensión de la pared celular para la realización exitosa de la germinación. En muchas semillas los embriones están rodeados por tejidos que deben ser penetrados por la radícula (Besnier, 1965). Una vez que la semilla se embebió totalmente, la longitud de la fase 2 de la germinación se relaciona, probablemente, con la generación adicional de turgencia del embrión y su paso a través de la pared celular, o con el debilitamiento de los tejidos que se encuentran adjuntos a este (Welbaum *et al.*, 1998).

## **2.6. Factores que afectan la germinación.**

En general, la germinación está controlada por factores internos (composición de las semillas, edad, salud, latencia, hormonas y composición genética) y externos (condiciones ambientales; tales como: agua, temperatura, luz y oxígeno) (Shafii y Price, 2001; Koornneef *et al.*, 2002).

### **2.6.1. Agua.**

Es esencial para la germinación de la semilla (Baskin y Baskin, 2014). De hecho, la germinación comienza con la imbibición de agua de la semilla seca. La imbibición de las semillas desencadena cambios hormonales que conducirán a la reactivación de las enzimas. Además, Stokes (1965) indicó que la hidratación de la semilla es importante para romper la latencia de la semilla mediante la estratificación en frío. La imbibición de las semillas depende de la diferencia del potencial hídrico entre las semillas y su entorno. Sin embargo, la

germinación puede inhibirse si la cantidad de agua es demasiado baja o alta (Baskin y Baskin, 2014). La absorción de agua por la semilla se puede dividir en tres fases

Efectos combinados de la temperatura y el agua: El cambio climático principalmente la temperatura y el potencial hídrico ( $\Psi$ ) en el suelo afectarán a muchos componentes de la semilla (es decir, longevidad de la semilla, liberación de latencia, germinación y actividad del patógeno del suelo). Modificará la distribución geográfica de especies y poblaciones (Walck *et al.*, 2011). El agua es esencial para la germinación de las semillas (Baskin y Baskin, 2014). De hecho, la germinación comienza con la imbibición de agua de la semilla seca. A una temperatura dada, el momento y el porcentaje de germinación en las poblaciones de semillas se controlan mediante la diferencia entre un potencial de agua base fisiológicamente determinado ( $\Psi$ ) de semillas y  $\Psi$  del medio (Alvarado y Bradford, 2002). La germinación puede inhibirse si la cantidad de agua es demasiado baja o alta (Baskin y Baskin, 2014). La imbibición de las semillas desencadena cambios hormonales que conducirán a la reactivación de las enzimas. En la germinación de las semillas, la mitocondria proporciona el ATP celular porque la germinación es un poder de proceso heterotrófico mediante la utilización de la energía almacenada durante el desarrollo de la semilla (Logan *et al.*, 2001; Benamar *et al.*, 2003). Además, Stokes (1965) indicó que la hidratación de las semillas es importante para romper la latencia de las semillas mediante la estratificación del agua fría.

### **2.6.2. Temperatura.**

Es el factor más importante que regula el desarrollo de la planta. El desarrollo de la planta consta de dos elementos: crecimiento y diferenciación. El proceso de crecimiento se basa en la extensión irreversible de todo el organismo debido al aumento en la cantidad y el tamaño de las células. El crecimiento se puede dividir en tres fases: división celular, elongación celular y maduración celular (Lewicka y Pietruszka, 2006). El crecimiento de cualquier órgano de la planta es sigmoideal y se puede dividir en tres fases: la fase inicial de crecimiento lento,

la fase intensa del crecimiento más rápido y la fase final del crecimiento más lento por tiempo (Beemster y Baskin, 1998; Waraich *et al.*, 2012). Desde un punto de vista químico y bioquímico, la ecuación de Arrhenius da la relación entre la velocidad de una reacción y la temperatura. En un nivel más alto de organización, el crecimiento y la tasa de división celular dependen en gran medida de la temperatura del órgano. Las especies de plantas tienen diferentes rangos de temperatura críticos y requisitos térmicos básicos para completar las fenofases específicas o el ciclo de vida completo (Luo, 2011). Una de las primeras y más exhaustivas investigaciones sobre los efectos de la temperatura en el crecimiento de las plantas fue realizada por Lehenbauer (1914) sobre plántulas *Zea mays* L.

La temperatura afecta el funcionamiento de la semilla y la germinación. La relación entre la temperatura y la germinación se ha estudiado ampliamente en muchas especies. Además, en muchas especies templadas, la latencia de la semilla se elimina a baja temperatura (Bewley y Black, 1994; Baskin y Baskin, 2014). La germinación de semillas en respuesta a la temperatura puede expresarse en términos de temperaturas cardinales mínimas, óptimas y máximas ( $T_{min}$ ,  $T_o$  y  $T_{max}$ ) (Bewley y Black, 1994). Las semillas de unas pocas especies germinan a porcentajes más altos a temperatura constante en comparación con las temperaturas alternas. Sin embargo, las temperaturas alternas parecen más favorables para la germinación que las constantes (Baskin y Baskin, 2014).

### **2.6.3. Luz.**

La respuesta de las semillas a la luz puede controlar el momento de la emergencia de las plántulas en el campo (Benech-Arnold *et al.*, 2000). Las semillas de muchas especies germinan a altos porcentajes tanto en la luz como en la oscuridad (Baskin y Baskin, 1988). Sin embargo, las semillas pueden germinar solo a la luz (Baskin y Baskin, 2003), a un porcentaje más alto de luz que a la oscuridad (Grime *et al.*, 1981), a un porcentaje más alto en la oscuridad que en la luz o solo en la oscuridad (Morgan y Lunt, 1994). En algunas especies, se ha demostrado que la luz induce la latencia. Además, la

inhibición por la luz de la germinación de la semilla también depende de la especie y la calidad de la luz. La estratificación oscura frena la latencia de muchas semillas y causa un aumento gradual en la sensibilidad a la luz de las semillas y la germinación al exponerse a la luz (Steadman, 2004).

#### **2.6.4. Oxígeno y Dióxido de Carbono.**

La respiración es un proceso que requiere un consumo considerable de energía. En las células vivas los principales procesos productores de energía son la respiración y la fermentación. Ambos procesos implican un intercambio de gases CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, entre las células y el medio ambiente. La mayoría de las semillas germinan bien con un 20 % de oxígeno y un 0,33 % de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, algunas especies como *Cynodon dactylon* germinan mejor en presencia de un 8 % de oxígeno que en la atmósfera normal. Otras semillas pueden resistir bien las condiciones de anaerobiosis y así el arroz presenta un porcentaje de germinación del 80 % en presencia de un 0,3% de O<sub>2</sub> y el trigo en un 5,2 % de O<sub>2</sub>. Se ha demostrado, sin embargo, que estas condiciones de anaerobiosis conducen a la formación de plántulas anormales y que tales anomalías pueden corregirse por la presencia de oxígeno. (Barceló *et al.*, 1992). La mayoría de las semillas no pueden germinar si se aumenta la concentración de CO<sub>2</sub>.

#### **2.6.6. Peso de la semilla.**

Los mecanismos que dictan el tamaño de la semilla deben controlar la extensión de la proliferación celular en el embrión, el endosperma y el recubrimiento de la semilla (Wobus y Weber, 1999). Se observa una variación en el peso o el tamaño de la semilla entre las especies (Werker, 1997). Por lo tanto, el peso de la semilla se considera un rasgo importante que determina el éxito del establecimiento de las plantas (Dias *et al.*, 2011). Un aumento en el peso por semilla puede correlacionarse con la calidad de la semilla y el rendimiento de la plántula (Wang *et al.*, 2004). Además, las diferencias de tamaño pueden corresponder a diferencias en el porcentaje de germinación, las tasas y el tiempo de germinación (Baskin y Baskin, 2014). En muchas

especies, las semillas grandes o más pesadas germinan más rápido que las pequeñas, porque las semillas grandes tienen más reservas que las pequeñas. Sin embargo, no es una regla general. Por ejemplo, el porcentaje de germinación se ha correlacionado positivamente con la masa de semilla de *L. multiflorum*, *L. perenne*, *F. pratensis* y *M. sativa* (Akpan y Bean, 1977; Cooper *et al.*, 1979). Por otro lado, los informes no muestran ninguna relación entre el tamaño de la semilla y la germinación de *D. glomerata* (Bretagnolle *et al.*, 1995) y *M. sativa* (Beveridge y Wilsie, 1959). Además, el tamaño de la semilla de *L. perenne* no se correlacionó con el momento de la emergencia (Naylor, 1980). Muchos estudios se han centrado en las variaciones en la germinación en términos del tamaño de la semilla, pero pocos han considerado el crecimiento heterotrófico. Por ejemplo, la tasa de crecimiento de la elongación de *Beta vulgaris L.* puede estar relacionada positivamente con la tasa de germinación (Dürr *et al.*, 2000). Del mismo modo, la masa de la semilla se correlacionó positivamente con la altura de la plántula, el ancho de la hoja y la longitud del brote de *L. perenne* diploide y tetraploide (Smith *et al.*, 2003).

#### **2.6.7. Hormonas.**

Las hormonas son un actor importante en la regulación del desarrollo y los procesos fisiológicos en las plantas, incluso en la etapa de germinación (Bewley y Black, 1994). Elongación celular tiene una gran sensibilidad a los cambios hormonales (Ellis *et al.*, 2004; Schopfer, 2006). Además, varios informes se centran en las interacciones entre las hormonas y la temperatura en las semillas y las plántulas.

Por ejemplo, Toh *et al.*, (2008) concluyeron que la alta temperatura controla la síntesis de ABA e inhibe la síntesis de GA durante la germinación de la semilla de *Arabidopsis*. Yamauchi *et al.*, (2004) informaron que el tratamiento con frío podría tener un papel único en la estimulación de la germinación de *Arabidopsis thaliana* a 4 ° C al aumentar la GA bioactiva y la acumulación de ARNm de AtGA3ox1 en el tejido perivascular y las capas aleurónicas. Indicaron que la GA promueve la producción de  $\alpha$ -amilasa en el endospermo y que la

hidrólisis del almidón fue diferente durante la germinación de la semilla y el alargamiento celular en diferentes órganos y tejidos.



### 3. Materiales y Métodos.

#### 3.1. Recolección de las semillas utilizadas.

Las semillas utilizadas en la presente investigación pertenecen a la familia *Fabaceae*, dentro de ella, a las especies *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng. y *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo. Este material genético fue recolectado en la medida que se fue usando en cada uno de los experimentos de la investigación entre los meses de noviembre del año 2017 y febrero del año 2018 en la finca “La Teresa”, perteneciente al poblado “Limpiones” del municipio Ciro Redondo (Figura 1), donde se encontraba un pequeño banco de germoplasma de estas especies sobre un suelo Fersialítico Típico. Las semillas fueron recolectadas y tratadas según lo establecido en el Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma (Rao *et al.*, 2007) y conservadas a una temperatura de 5 °C durante todo el período de experimentación, según lo recomendado por Baskin y Baskin (2014).

**Figura 1:** Ubicación de la finca “La Teresa”.



### **3.2. Ensayos de germinación.**

Los ensayos de germinación se llevaron a cabo en áreas del laboratorio de fisiología vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad de Ciego de Ávila, donde se encontraba una cámara pre-germinativa de ambiente controlado (Modelo, RTOP-D).

### **3.3. Determinación de la temperatura base, óptima y máxima de germinación.**

Se realizó un experimento donde se colocaron a germinar semillas de las especies objeto de estudio a diferentes temperaturas constantes (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45°C), durante 28 días (Baskin y Baskin, 2014). Todos los tratamientos se mantuvieron bajo las mismas condiciones de humedad relativa (80%) y Luz (12 h luz/12 h oscuridad), teniendo en consideración lo descrito por Baskin y Baskin, 2014. Se utilizaron 100 semillas de cada especie, para cada una de las temperaturas evaluadas, las mismas se dividieron en 4 repeticiones de 25 semillas y se colocaron en placas Petri (9 cm de diámetro), sobre un papel de filtro previamente humedecido con 5 ml de agua destilada (ISTA, 2010).

Se realizaron lecturas diarias de semillas germinadas tomando como criterio la emergencia de la radícula (2 mm). Al vigésimo octavo día se contaron las semillas muertas, se clasificaron como semillas podridas, las semillas que al final del periodo de evaluación no estaban duras ni produjeron plántulas y se vieron afectadas por necrosis del tejido. El porcentaje de germinación (PG) se calculó con la siguiente fórmula,  $PG = [(N^{\circ} \text{ semillas germinadas}) / (N^{\circ} \text{ semillas utilizadas})] \times 100$ , expresándose los resultados en por ciento (%).

### **3.4. Evaluación de la influencia de la luz en la germinación.**

Con el objetivo de evaluar la influencia de diferentes fotoperiodos en la germinación, se realizó un experimento donde se colocaron a germinar semillas

de las especies objeto de estudio a diferentes periodos de luz y oscuridad (24/0, 18/6, 12/12, 6/18, 0/24; horas luz/horas oscuridad), durante 14 días (Baskin y Baskin, 2014). Todos los tratamientos se mantuvieron a la temperatura óptima de germinación para cada especie (Tabla 1). En el experimento se utilizaron 100 semillas de cada especie para cada uno de los fotoperiodos estudiados, las mismas se dividieron en 4 repeticiones de 25 semillas y se colocaron en placas Petri (9 cm de diámetro), sobre un papel de filtro previamente humedecido con 5 ml de agua destilada (ISTA, 2010).

**Tabla 1.** Temperatura optima de germinación para cada especie

<b>Especies</b>	<b>Temperatura de germinación</b>
<i>Teramnus labialis</i> (L.f.) Spreng	30°C
<i>Neonotonia wightii</i> (Cv.) Tinaroo	20°C
<i>Neonotonia wightii</i> (Cv.) Cooper	25°C

Se realizaron lecturas diarias de semillas germinadas para todos los tratamientos, excepto para el de oscuridad permanente que se contabilizó el total de semillas germinadas al final del experimento; se tomó como criterio de semilla germinada la emergencia de la radícula (2 mm), (Baskin y Baskin, 2014). El porcentaje de germinación (PG) se calculó con la siguiente fórmula,  $PG = [(N^{\circ} \text{ semillas germinadas}) / (N^{\circ} \text{ semillas utilizadas})] \times 100$ , expresándose los resultados en por ciento (%).

### 3.5. 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 23.1, Copyright SPSS Inc., 1989-1997). Se realizaron pruebas paramétricas (ANOVA y Tukey), para una significación del 5 %. Los detalles del tratamiento estadístico aparecen en cada figura o tabla de resultados y discusión.

#### **4. Resultados y Discusión.**

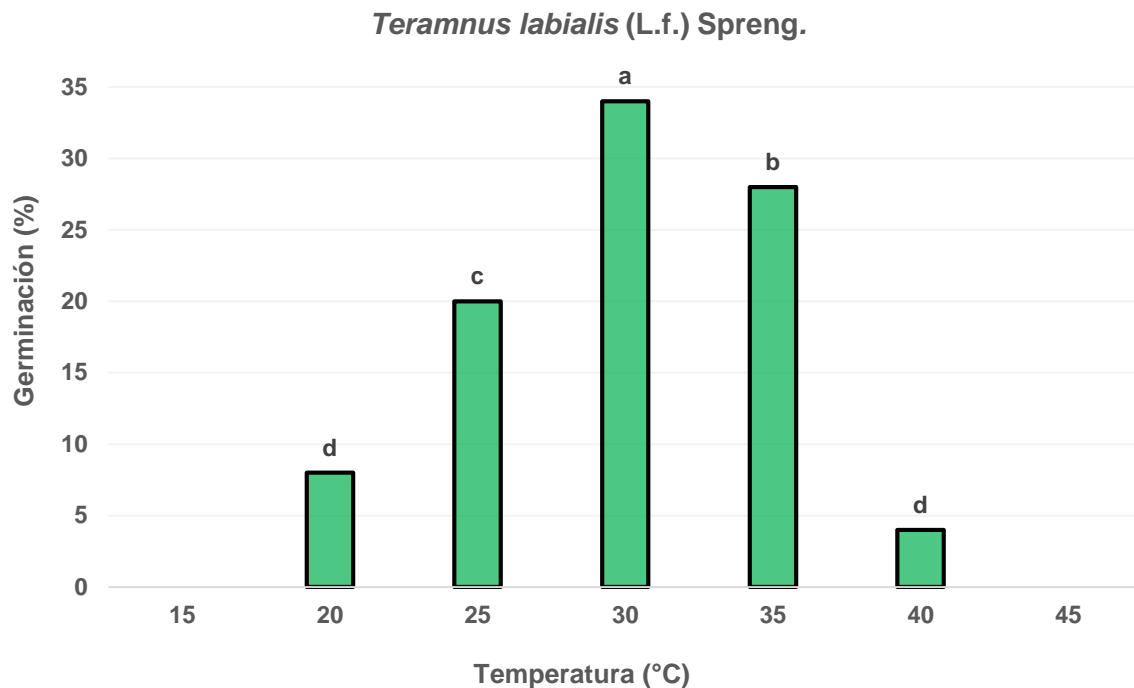
##### **4.1. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng.**

###### **4.1.1. Semillas germinadas.**

La primera fase de germinación en la mayoría de las leguminosas forrajeras, a menudo, resulta crítica, debido a la competencia con otras especies, enfermedades y las condiciones estresantes que deben afrontar durante la germinación (Marinoni *et al.*, 2017). Si bien existen antecedentes que el rango de temperaturas entre 5 y 30 °C no son factores limitantes para la germinación de semillas de leguminosas perennes, observándose valores óptimos entre 15 y 20 °C, esta temperatura óptima varía de acuerdo a la especie (Marinoni *et al.*, 2017).

La figura 2, muestra el comportamiento de la germinación en semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, en un rango de temperatura que oscila desde los 15 a los 45°C. Se puede observar que el mayor porcentaje de germinación se alcanzó a una temperatura de 30°C, siendo esta la temperatura óptima para que ocurra la germinación en semillas de esta especie. La temperatura máxima a la cual se registró germinación fue de 40°C y la mínima o base, 20°C, además, se puede expresar que a las temperaturas de 15 y 45°C no se encontró ninguna semilla germinada durante el periodo que duró el experimento.

Los resultados de máxima germinación (30°C) alcanzados para esta especie se relacionan con lo descrito por Carvalho y Nakagawa (2000), quienes indican que, para cierto rango de temperaturas, la velocidad de absorción de agua y de las reacciones químicas es mayor y las semillas germinan en un mejor porcentaje. Por su parte, Reino *et al.* (2011) alcanzaron los mejores porcentajes de germinación en especies de leguminosas herbáceas a temperaturas entre 25 y 30 °C, resultados estos que se corresponden con los alcanzados en esta investigación.



**Figura 2.** Semillas germinadas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, sometidas a diferentes temperaturas. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.65.

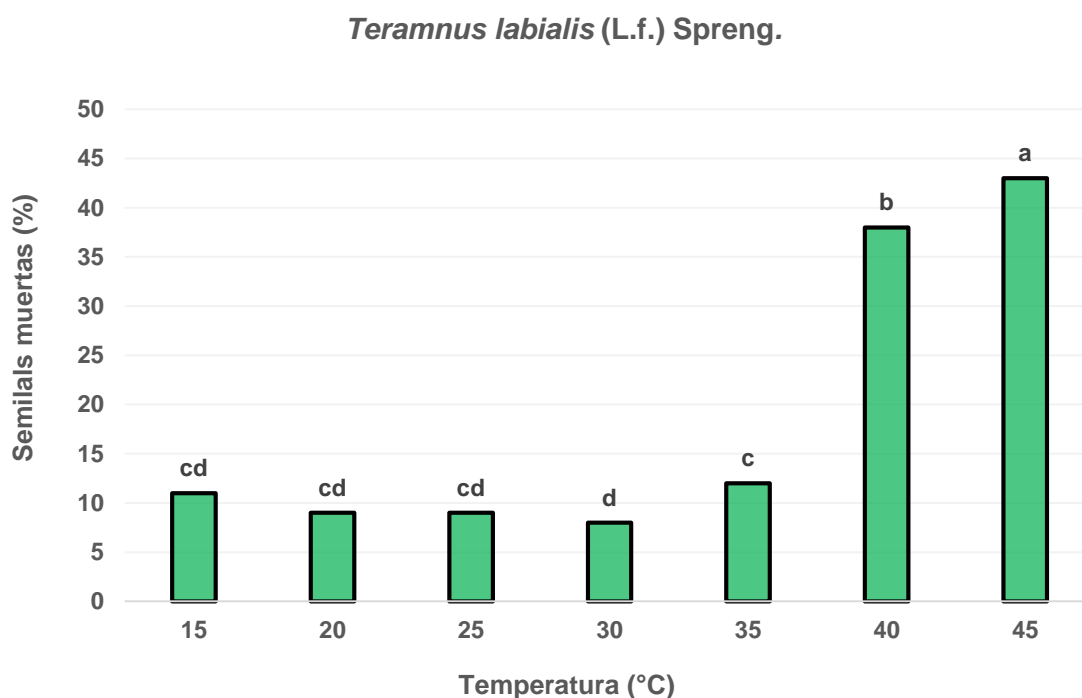
En el caso de las altas temperaturas no se alcanzaron buenos rendimientos a 40°C y a 45°C no ocurrió germinación. Lo descrito anteriormente tiene relación con lo planteado por (Butler *et al.*, 2014) el cual llegó a la conclusión que la influencia de temperaturas superiores a la óptima, pueden afectar los procesos metabólicos de la semilla e incluso dañarlas irreparablemente, y por lo tanto no se evidencia crecimiento del embrión. Por otra parte, Carvalho y Nakagawa (2000), indican que la germinación sólo ocurre apropiadamente dentro de un determinado rango de temperatura. Además, otros mecanismos para esta reducción de la germinación es que se reduce la eficiencia metabólica a temperaturas superiores a la óptima (Heidari *et al.*, 2014).

Los resultados demostraron que a 20°C se retrasa la germinación, hasta su inhibición total a 15°C, este comportamiento provocó que el proceso de germinación fuera más lento y se obtuviera un bajo porcentaje de germinación en la medida que se disminuye la temperatura; esta conducta es característica de especies que son oriundas de climas cálidos, subtropicales y tropicales (Marinoni

et al., 2017). Según Carvalho y Nakagawa (2000), las temperaturas bajas tienden a reducir la velocidad del proceso germinativo, exponiendo a las semillas a factores adversos, pudiendo llevar incluso a la reducción total de la germinación. Por otra parte, la reducción en el porcentaje de germinación a temperaturas que son inferiores a la óptima para la germinación esta atribuido a la reducción de la imbibición y la actividad enzimática (Heidari et al., 2014).

#### 4.1.2. Semillas muertas.

En la figura 3, se muestra el porcentaje de semillas muertas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, sometidas a diferentes temperaturas de germinación. Se aprecia que los valores más elevados de semillas muertas se registran para los tratamientos a 40 y 45°C, existiendo diferencias significativas entre ellos y con el resto de los tratamientos evaluados, que a su vez fueron los de porcentajes más bajos de semillas muertas (15, 20, 25, 30, 35 °C).



**Figura 3.** Semillas muertas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, sometidas a diferentes temperaturas. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.6.

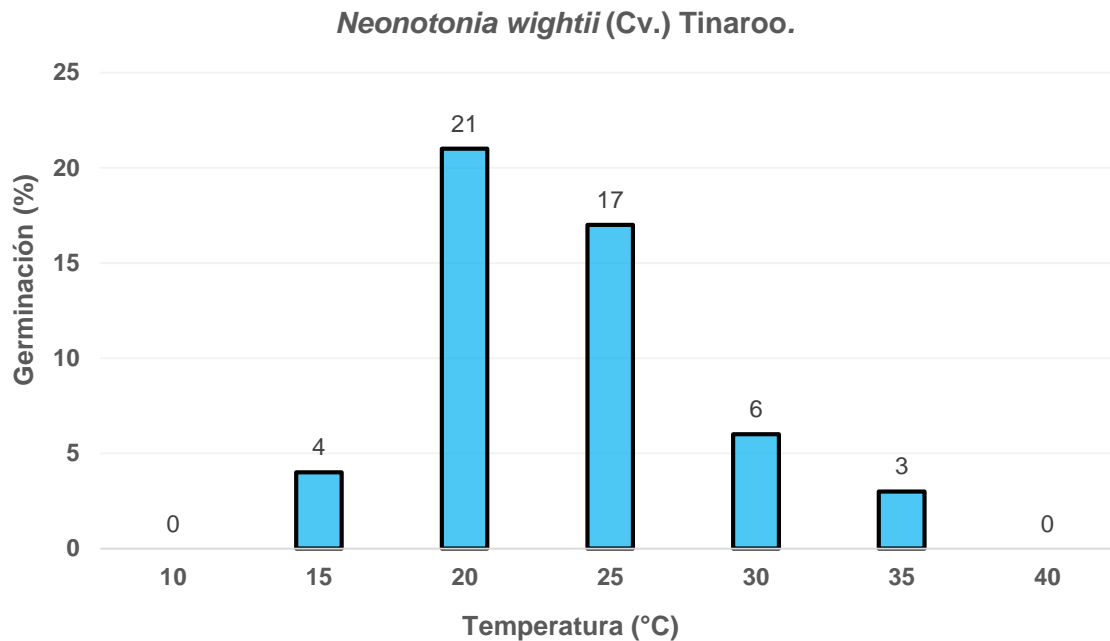
Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con los alcanzados por Sánchez *et al.*, 2017, que al estudiar la germinación de semillas de *Guazuma ulmifolia* obtuvieron una germinación errática y altos porcentajes de semillas muertas en la medida que aumentaba la temperatura de germinación por encima de la óptima para esa especie. Por su parte, Reino *et al.*, 2011, al estudiar el comportamiento de semillas de leguminosas herbáceas (*Indigofera sp.*, *Desmanthus virgatus*, *Clitoria ternatea*, *Crotalaria sp.* y *Centrosema pubescens*), demostró que ocurría un incremento de semillas muertas, en la mayoría de los casos, cuando se aumentaba la temperatura, por encima de la óptima, durante el proceso de germinación. Lo anterior, podría explicarse, porque temperaturas muy altas (por encima de la media óptima para cada especie) afectan los procesos metabólicos de la semilla e incluso llegan a dañarlas irreparablemente, por lo tanto, no se evidencia crecimiento del embrión y la semilla muere (Butler *et al.*, 2014).

Por otra parte, la disminución de semillas muertas en la medida que desciende la temperatura de germinación, está estrechamente relacionado con la intensidad del flujo de agua hacia la semilla (proceso de imbibición), el cual depende, según (Vertucci y Leopold, 1983), de la temperatura, debido a que la movilidad del agua está relacionada con su viscosidad y la misma aumenta en la medida que disminuye la temperatura, criterios estos que concuerdan con lo descrito por (Carvalho y Nakagawa, 2012). En este sentido, la respuesta obtenida se puede entender, porque las temperaturas bajas o muy por debajo de la temperatura óptima de germinación, tienen su efecto en la reducción de las tasas metabólicas hasta el punto en que los procesos esenciales para la germinación disminuyen o dejan de ocurrir, criterios estos que concuerdan con los descrito por Caroca *et al.* (2016).

## **4.2. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo.**

### **4.2.1. Semillas germinadas.**

La figura 4, muestra el porcentaje de germinación a diferentes rangos de temperatura de semillas de la especie *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo. En la misma se puede observar que se alcanzó mayor germinación a una temperatura de 20°C, siendo esta la óptima para esta especie. La temperatura máxima a la cual las semillas llevaron a cabo la germinación fue de 35°C y la mínima o base, 15°C, además se pudo evidenciar que, a 10 y 40°C no ocurrió germinación.



**Figura 4.** Semillas germinadas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo, sometidas a diferentes temperaturas. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.51.

Los resultados de máxima germinación (20°C) alcanzados para esta especie se relacionan con lo descrito por Carvalho y Nakagawa (2000), quienes indican que, para cierto rango de temperaturas, la velocidad de absorción de agua y de las reacciones químicas es mayor y las semillas germinan más rápidamente y en un mejor porcentaje. Por otra parte, estos resultados difieren de los obtenidos por Reino *et al.* (2011) quienes alcanzaron los mejores porcentajes de germinación en especies de leguminosas herbáceas a temperaturas entre 25 y 30 °C. Estas diferencias encontradas pueden estar relacionadas con el origen de las especies, autores como (Marinoni *et al.*, 2017) plantean que la temperatura óptima de germinación varía con la especie y con el origen de la misma.



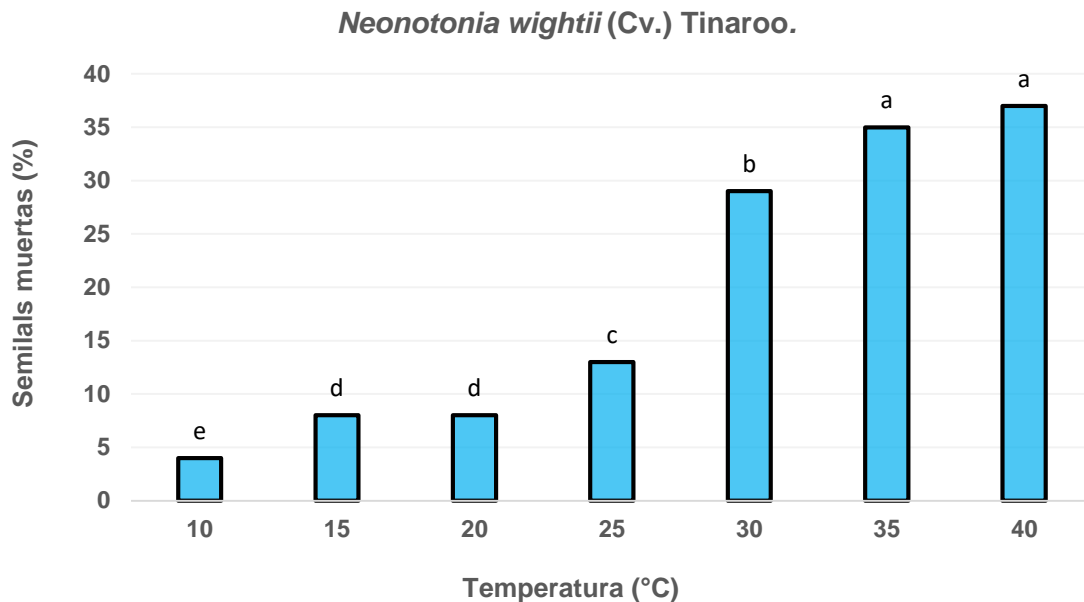
En el caso de las altas temperaturas no se alcanzaron buenos rendimientos a partir de los 30°C y a 40°C no ocurrió la germinación de ninguna semilla. Lo descrito anteriormente tiene relación con lo planteado por (Butler *et al.*, 2014) el cual llegó a la conclusión que la influencia de temperaturas superiores a la óptima, pueden afectar los procesos metabólicos de la semilla e incluso dañarlas irreparablemente. Por otra parte, Carvalho y Nakagawa (2000), indican que la germinación sólo ocurre apropiadamente dentro de un determinado rango de temperatura, que se relaciona con la temperatura óptima de germinación para cada especie. Además, (Heidari *et al.*, 2014) plantean que otros mecanismos para la reducción de la germinación es que se vuelven ineficientes los procesos metabólicos a temperaturas superiores a la óptima.

Los resultados alcanzados en la germinación para esta especie demostraron que a 15 °C se retrasa la germinación, hasta su inhibición total a 10 °C, este comportamiento provocó que el proceso de germinación fuera más lento y se obtuviera un bajo porcentaje de germinación en la medida que se disminuye la temperatura. Según Carvalho y Nakagawa (2000), las temperaturas bajas tienden a reducir la velocidad del proceso germinativo, exponiendo a las semillas a factores adversos, pudiendo llevar incluso a la reducción total de la germinación. Por otra parte, la reducción en el porcentaje de germinación a temperaturas que son inferiores a la óptima para la germinación esta atribuido a la reducción de la imbibición y la actividad enzimática (Heidari *et al.*, 2014).

#### **4.2.2. Semillas muertas.**

En la figura 5, se puede observar el porcentaje de semillas muertas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo, sometidas a diferentes temperaturas durante el proceso de germinación. Se aprecia que los valores más elevados de semillas muertas se registran para los tratamientos a 35 y 40°C, existiendo diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos evaluados, aunque es preciso señalar que el tratamiento a 30 °C, que presenta diferencias significativas con los tratamientos anteriores, también posee un elevado porcentaje de semillas muertas. Por otra parte, el porcentaje más bajo de

semillas muertas está expresado en el tratamiento a 10°C, con diferencias estadísticas significativas al resto de tratamientos estudiados.



**Figura 5.** Semillas muertas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo, sometidas a diferentes temperaturas durante la germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.61.

El bajo porcentaje de semillas muertas en los tratamientos con temperaturas inferiores a la óptima para la germinación para esta especie, puede estar estrechamente relacionada con la intensidad del flujo de agua hacia la semilla (proceso de imbibición), el cual depende, según (Vertucci y Leopold, 1983), de la temperatura, debido a que la movilidad del agua está vinculada con su viscosidad y la misma aumenta en la medida que disminuye la temperatura, criterios estos que concuerdan con lo descrito por (Carvalho y Nakagawa, 2012). En este sentido, la respuesta obtenida se puede entender, porque las temperaturas bajas o muy por debajo de la temperatura óptima de germinación, tienen su efecto en la reducción de las tasas metabólicas hasta el punto en que los procesos esenciales para la germinación disminuyen o dejan de ocurrir, criterios estos que concuerdan con los descrito por Caroca *et al.* (2016).

En otro sentido, los altos porcentajes de semillas muertas en la medida que aumenta la temperatura, por encima de la óptima para esta especie, concuerdan con los resultados alcanzados por Sánchez *et al.*, 2017, que al estudiar la germinación de semillas de *Guazuma ulmifolia* obtuvieron una germinación errática y altos porcentajes de semillas muertas en la medida que aumentaba la temperatura de germinación por encima de la óptima para esa especie. También, Reino *et al.* (2011), al estudiar el comportamiento de semillas de leguminosas herbáceas (*Indigofera sp.*, *Desmanthus virgatus*, *Clitoria ternatea*, *Crotalaria sp.* y *Centrosema pubescens*), demostró que ocurría un incremento de semillas muertas, en la mayoría de los casos, cuando se aumentaba la temperatura, por encima de la óptima, durante el proceso de germinación. Lo anterior, podría explicarse, porque temperaturas muy altas (por encima de la media óptima para cada especie) afectan los procesos metabólicos de la semilla e incluso llegan a dañarlas irreparablemente, por lo tanto, no se evidencia crecimiento del embrión y la semilla muere (Butler *et al.*, 2014).

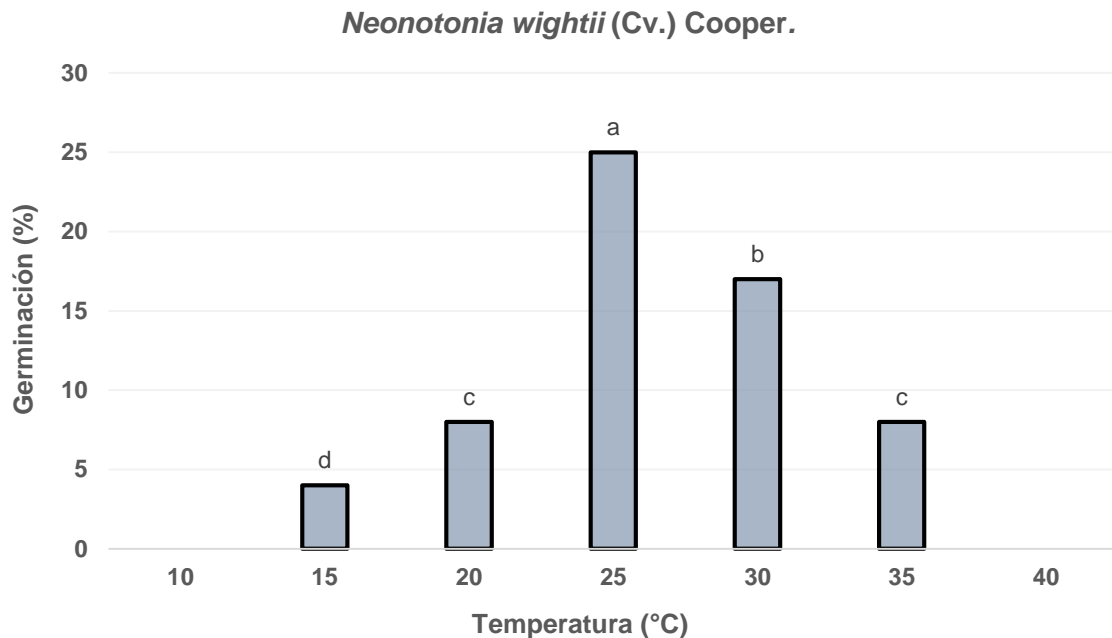
### **4.3. Temperatura base, óptima y máxima de germinación para semillas de la especie *Neonotonia wightii* (Cv.) Cooper.**

#### **4.3.1. Semillas germinadas.**

En la figura 6, se muestra el comportamiento germinativo de semillas de la especie *Neonotonia wightii* (Cv.) Cooper expuestas a diferentes temperaturas. Se puede apreciar que las semillas de esta especie a las temperaturas de 10 y 40°C no registraron germinación. Las mismas presentaron su mayor porcentaje de germinación a una temperatura de 25°C, además efectuaron la germinación a una temperatura mínima de 15°C y máxima de 35°C.

Los resultados de máxima germinación (25°C) alcanzados para esta especie se relacionan con lo descrito por Carvalho y Nakagawa (2000), quienes indican que, para cierto rango de temperaturas, la velocidad de absorción de agua y de las reacciones químicas es mayor y las semillas germinan más rápidamente y en un mejor porcentaje. Por su parte Reino *et al.* (2011) alcanzaron los mejores

porcentajes de germinación en especies de leguminosas herbáceas a temperaturas entre 25 y 30 °C, resultados estos que se corresponden con los alcanzados en esta investigación.



**Figura 6.** Semillas germinadas de *Neonotonia wightii* (Cv.) cooper, sometidas a diferentes temperaturas durante el proceso de germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.47.

En el caso de las altas temperaturas no se alcanzaron buenos rendimientos a partir de los 35°C y a 40°C no se registró germinación. Lo descrito anteriormente tiene relación con lo planteado por (Butler *et al.*, 2014) el cual llegó a la conclusión que la influencia de temperaturas superiores a la óptima, pueden afectar los procesos metabólicos de la semilla e incluso dañarlas irreparablemente, y por lo tanto no se evidencia crecimiento del embrión. Por otra parte, Carvalho y Nakagawa (2000), indican que la germinación sólo ocurre apropiadamente dentro de un determinado rango de temperatura. Además, otros mecanismos para esta reducción de la germinación es que se reduce la eficiencia metabólica a temperaturas superiores a la óptima (Heidari *et al.*, 2014).

Por otra parte, los resultados demostraron que a 20 °C se retrasa la germinación, hasta su inhibición total a 10 °C, este comportamiento provocó que

el proceso de germinación fuera más lento y se obtuviera un bajo porcentaje de germinación en la medida que se disminuye la temperatura; esta conducta es característica de especies que son oriundas de climas cálidos, subtropicales y tropicales (Marinioni *et al.*, 2017). Según Carvalho y Nakagawa (2000), las temperaturas bajas tienden a reducir la velocidad del proceso germinativo, exponiendo a las semillas a factores adversos, pudiendo llevar incluso a la reducción total de la germinación. Por otra parte, la reducción en el porcentaje de germinación a temperaturas que son inferiores a la óptima para la germinación esta atribuido a la reducción de la imbibición y la actividad enzimática (Heidari *et al.*, 2014).

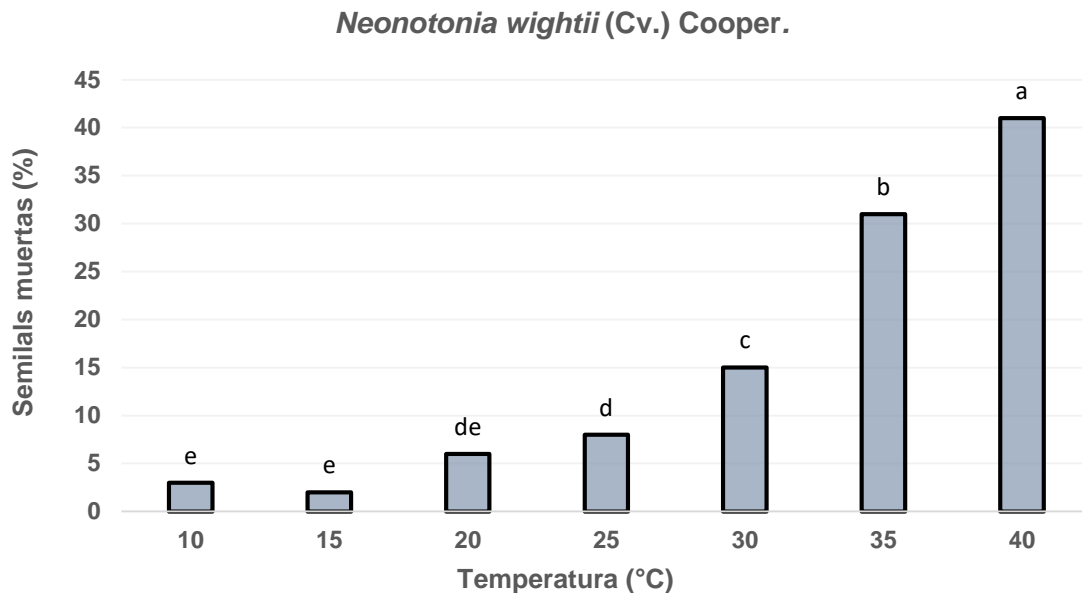
#### **4.3.2. Semillas muertas.**

En la figura 7, se puede observar el porcentaje de semillas muertas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Cooper, sometidas a diferentes temperaturas durante el proceso de germinación. Se aprecia que los valores más elevados de semillas muertas se registran para los tratamientos a 35 y 40°C, con diferencias estadísticas entre ellos y con respecto al resto de tratamientos. En este sentido, los porcentajes más bajos de semillas muertas se registran para los tratamientos a 10 y 15°C, sin diferencias estadísticas entre ellos, pero si con el resto de evaluaciones.

Sánchez *et al.*, 2017, al estudiar la germinación de semillas de *Guazuma ulmifolia*, obtuvieron resultados similares a los nuestros, para su caso en particular se alcanzaron altos porcentajes de semillas muertas en la medida que aumentaba la temperatura de germinación por encima de la óptima para esa especie. Por su parte, Reino *et al.*, 2011, al investigar la germinación en semillas de cinco leguminosas tropicales (*Indigofera sp.*, *Desmanthus virgatus*, *Clitoria ternatea*, *Crotalaria sp.* y *Centrosema pubescens*), demostraron que existía un incremento de semillas muertas, en la mayoría de las especies, cuando se aumentaba la temperatura durante la germinación.

Lo anterior, tiene su explicación en los criterios planteados por Butler *et al.*, 2014, quienes plantean que temperaturas muy altas (por encima de la media

óptima para cada especie) afectan los procesos metabólicos de la semilla e incluso llegan a dañarlas irreparablemente, lo que lleva a la muerte del embrión y de la semilla en sentido general.

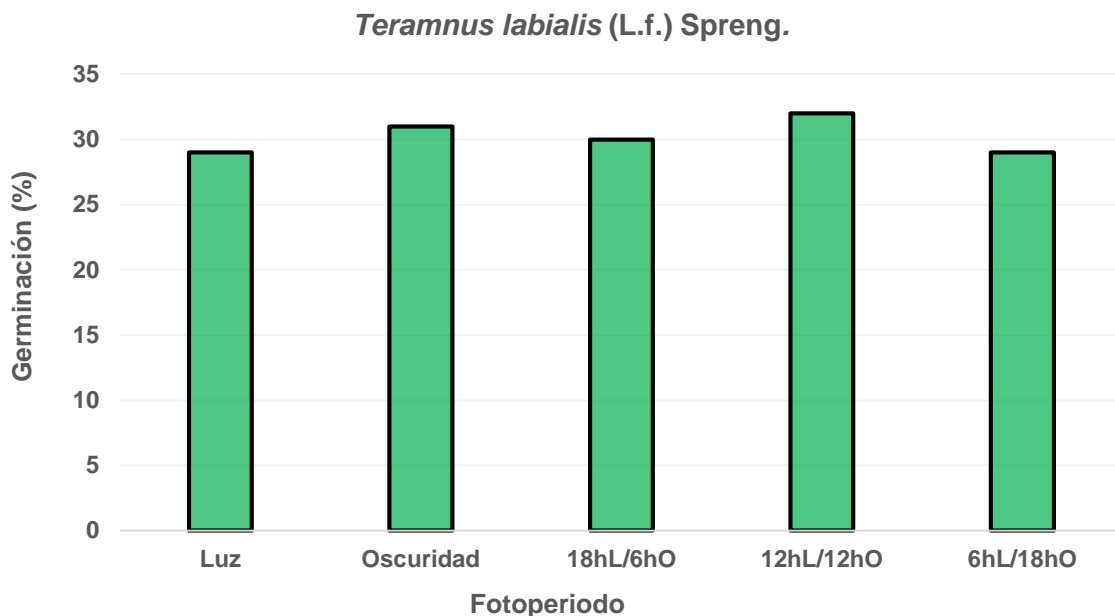


**Figura 7.** Semillas muertas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Cooper, sometidas a diferentes temperaturas durante el proceso de germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.63.

Tomando como punto de partida la disminución de semillas muertas en la medida que desciende la temperatura de germinación, está estrechamente relacionado con la intensidad del flujo de agua hacia la semilla (proceso de imbibición), el cual depende de la temperatura según lo descrito por Vertucci y Leopold (1983). Este flujo de agua hacia la semilla se puede ver afectado por la energía cinética de las moléculas, la cual disminuye en la medida que disminuye la temperatura y es inversamente proporcional a la viscosidad del agua, la cual aumenta en la medida que disminuye la temperatura, criterios estos que concuerdan con lo descrito por Carvalho y Nakagawa (2012)

#### **4.4. Efecto de la Luz sobre la germinación en semillas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng., y *Neonotonia wightii* (Cvs.) Cooper y Tinaroo.**

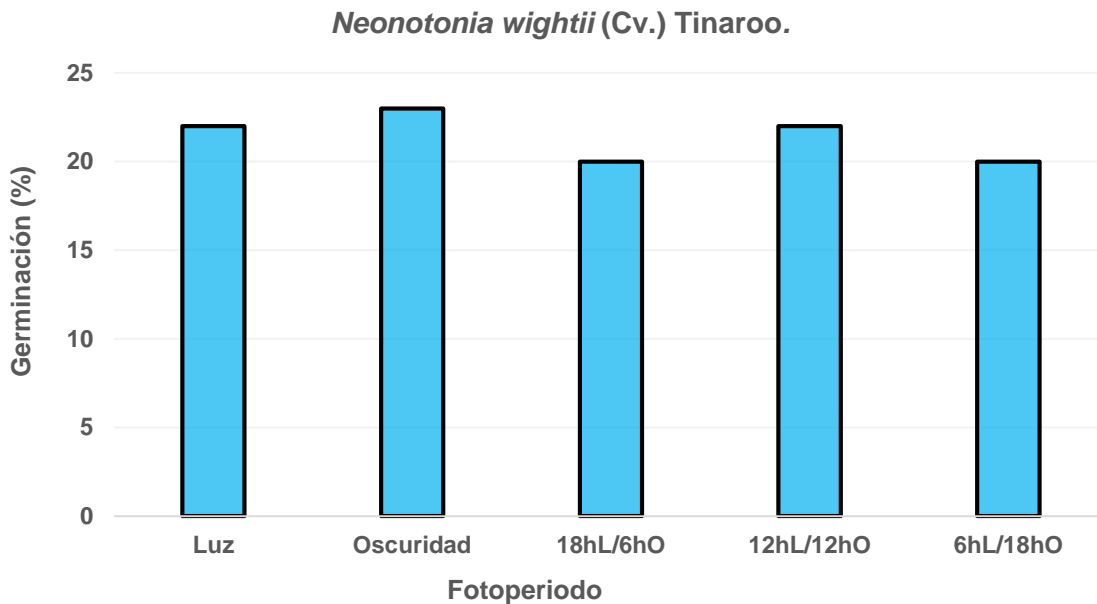
El porcentaje de semillas germinadas de las dos especies objeto de estudio, expuestas a diferentes fotoperiodos y a la temperatura constante óptima para la germinación de cada especie se muestra en las figuras, 8, 9 y 10. Se puede apreciar que no se encontraron diferencias significativas en la germinación, para cada especie, con respecto a cada uno de los tratamientos de exposición a la luz u oscuridad a la que fueron sometidos. Por otra parte, la germinación se comportó, para cada especie, en los porcentajes descritos en la literatura (Skerman *et al.*, 1991) y los obtenidos en los experimentos evaluados en el primer objetivo de esta investigación.



**Figura 8.** Semillas germinadas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng., sometidas a diferentes fotoperiodos durante la germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.02.

Estos resultados demuestran que para ninguna de las especies estudiadas existe una dependencia del factor luz, o ausencia de este, para que tenga lugar la germinación. Esto sugiere que probablemente las semillas de estas especies tendrían la misma oportunidad de germinar en los distintos agroecosistemas en los cuales son utilizadas, tanto en ausencia como en presencia de iluminación. Resultados similares a nuestro trabajo fueron obtenidos por Manso y Simón (2002) al estudiar el efecto de la luz y la temperatura en la germinación de leguminosas, donde no se reportaron diferencias entre los tratamientos cuando

se usaron diferentes ciclos de luz y oscuridad (luz constante, oscuridad constante y 9 horas luz/ 15 horas oscuridad).



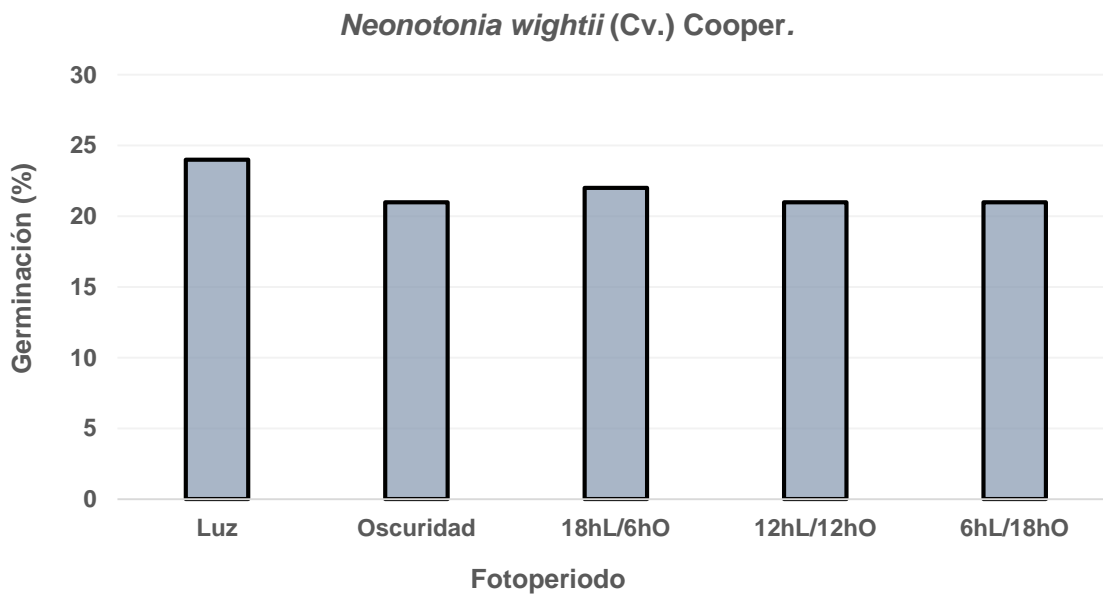
**Figura 9.** Semillas germinadas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo, sometidas a diferentes fotoperiodos durante la germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.04.

Por otra parte, se considera que las especies fotoblásticas neutras, como las semillas objeto de estudio en esta investigación, no tienen la capacidad de permanecer en el suelo por periodos prolongados de tiempo (Jiménez y Flores, 2010). Sin embargo, esta afirmación está actualmente puesta en duda ya que existen otros factores ambientales y de latencia orgánica (endógena y exógena), que pueden impedir la germinación y así favorecer la creación de bancos de semillas de estas especies (Jiménez y Flores, 2010), siempre que las mismas sean capaces de conservar la viabilidad por un tiempo prolongado.

En las especies de leguminosas forrajeras objeto de estudio, se ha descrito por varios autores (Skerman *et al.*, 1991; Fontes, 2006) que sus semillas presentan la capacidad de permanecer prolongados periodos de tiempo en el suelo sin que tenga lugar la germinación, como una capacidad adaptativa para garantizar que la misma ocurra cuando las condiciones ambientales favorezcan el óptimo



desarrollo de las plántulas. Tomando en consideración estos criterios y teniendo en cuenta que estas especies son capaces de formar colchones densos sobre el suelo y depositar sus semillas por debajo de este, la posibilidad de que estas semillas germinen en estas condiciones, aún en ausencia de luz, garantiza que de forma natural exista una repoblación del lugar donde se establecen y permite que siempre existan plantas jóvenes y vigorosas.



**Figura 10.** Semillas germinadas de *Neonotonia wightii* (Cv.) Cooper, sometidas a diferentes fotoperiodos durante la germinación. Medias con letras desiguales, significan diferencias estadísticas entre los tratamientos. (ANOVA de un factor; Tukey,  $p < 0.05$ ). Error Típico = 0.03.

## **5. Conclusiones**

- La temperatura óptima de germinación para la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng., es de 35°C, la mínima de 20°C y la máxima de 40°C.
- Para la especie *Neonotonia wightii* (Cv.) Tinaroo, la temperatura óptima de germinación es de 20°C, la mínima de 15°C y la máxima de 35°C.
- Para el cultivar Cooper de la especie *Neonotonia wightii*, la temperatura óptima de germinación es de 25°C, la mínima de 15°C y la máxima de 35°C.
- Para las dos especies objeto de estudio se definió que son indiferentes a la necesidad de luz para la germinación de sus semillas, por lo que se pueden denominar como, no fotoblásticas.

## **6. Recomendaciones**

- Desarrollar investigaciones donde se realicen estudios de germinación en semillas de estas especies expuestas a temperaturas alternas.
- Realizar experimentos con semillas de estas especies almacenadas por un periodo de tiempo para identificar si existe variación con respecto a las necesidades de temperatura y luz obtenidas en esta investigación.
- Extender los resultados de esta investigación a condiciones de campo donde se siembre cada especie en la época del año más adecuada a las necesidades de temperatura de cada especie.
- Tomar los resultados de esta investigación como punto de partida para la realización de futuros experimentos a nivel de laboratorio en estas especies.

## 7. Bibliografía

1. Acosta, F. 2014. Ruptura de la dormancia en semillas de *Teramnus labialis* (L. f.) spreng., por el efecto del Nitrógeno líquido, para su establecimiento en una plantación de *Psidium guajava* (L.). Tesis presentada en opción al grado científico de Master en Ciencias Agrícolas. 68 p.
2. Ahmed, L. 2015. Analysis of inter-and intra-specific variability of five pasture species in response to temperature during germination and initial heterotrophic growth. To obtain the degree of Doctor from the University of Poitiers, Faculty of Sciences Fundamental and Applied. 256 p.
3. Akpan, E y Bean, E. 1977. The effects of temperature upon seed development in three species of forage grasses. *Annals of Botany*. 41: 689-695.
4. Alvarado, V y Bradford, K. 2002. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant, Cell and Environment*. 25: 1061-1069.
5. Álvarez, O. 2005. Colecta de germoplasma útil para la producción Agropecuaria. Memorias del VI Taller Internacional sobre Recursos Fitogenéticos. p.15.
6. An, Y y Lin, L. 2011. Transcriptional regulatory programs underlying barley germination and regulatory functions of gibberellin and abscisic acid. *BMC Plant Biology* 11:1.
7. Azcón-Bieto, J y Talón, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid, España. 522 p.
8. Barceló, J.; Rodrigo, G.; Sabater, B y Sánchez, R. 1992. Fisiología Vegetal, pág. 527-541. Ed. Pirámide, Madrid.
9. Baskin, C y Baskin, J. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*. 75: 286-305.
10. Baskin, C y Baskin, J. 2003. When breaking seed dormancy is a problem try a move along experiment. *Native Plants Journal*. 4: 17-21.

11. Baskin, C y Baskin, J. 2014. Seed ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. (2 Eds.). Academic Press.
12. Beemster, G y Baskin, T. 1998. Analysis of cell division and elongation underlying the developmental acceleration of root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*. 116: 1515-1526.
13. Benamar, A.; Tallon, C. y Macherel, D. 2003. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Science Research*. 13: 35-45.
14. Benech-Arnold, R.; Sánchez, R.; Forcella, F.; Kruk, B. y Ghera, C. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research*. 67: 105-122.
15. Besnier, F. 1965. Semillas: Biología y Tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. 394p.
16. Beveridge JL, Wilsie CP. 1959. Influence of depth of plants seed size and variety on emergence and seedling vigor in alfalfa. *Agronomy Journal*. 51: 731-734.
17. Bewley JD, Black M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. Springer (2 Eds) 164: 445.
18. Bewley, J. D.; K. J. Bradford; H. W. M. Hilhorst; H. Nonogaki. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3ra edn. Springer, New York. 2013.
19. Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 9:1055-1066.
20. Binder, U. 1997. Manual de Leguminosas de Nicaragua. PASOLAC: Estelí. 191 p.
21. Bretagnolle F, Thompson JD, Lumaret R. 1995. The influence of seed size variation on seed germination and seedling vigour in diploid and tetraploid *Dactylis glomerata* L. *Annals of Botany*. 76: 607-615.
22. Buitink, J.; O. Leprince. Glass formation in plant anhydrobiotes: Survival in the dry state. *Cryobiology* 48:215-228. 2004.
23. Butler, T.J., A.E. Celen, S.L. Webb, D. Krstic, and S.M. Interrante. 2014. Temperature affects the germination of forage legume seeds. *Crop Science* 54:2846-2853.

24. Caroca, R; Zapata, N; Vargas, M. 2016. Efecto de la temperatura sobre la germinación de cuatro genotipos de maní (*Arachis hypogaea* L.). Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia 32(2). 94 p.
25. Caruso, G. F. 2012. Determinación de las temperaturas cardinales para la germinación de semillas de mostaza amarilla, sinapis alba y mostaza marrón, brassica juncea [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/determinacion-temperaturas-cardinales-germinacion.pdf>.
26. Carvalho, M y Nakagawa, J. 2012. Sementes: ciência, tecnologia e produção (5a ed.). Jaboticabal, SP: Funep.
27. Carvalho, N y Nakagawa, E. 2000. Sementes: Ciencia, Tecnología e Producao. Jaboticabal, Funep, Brasil.
28. Cooper CS, Ditterline RL, Welty LE. 1979. Seed size and seeding rate effects upon stand density and yield of alfalfa. Agronomy Journal. 71: 83-85.
29. Copeland, L. O.; M. B. McDonal. Principles of seed science and technology. 4ta edn. Springer Science and Business Media, New York, USA. 2012.
30. Damasceno, M; Albuquerque, C; Lopes, E; Cantalice, R; Araujo, J. 2018. Influence of temperature and light on germination of weed species. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary. [www.asianacademicresearch.org](http://www.asianacademicresearch.org). p. 60-71.
31. Dias PMB, Brunel-Muguet S, Dürr C, Huguet T, Demilly D, Wagner M-H, TeulatMerah B. 2011. QTL analysis of seed germination and pre-emergence growth at extreme temperature in *Medicago truncatula*. Theoretical and Applied Genetics. 122: 429-444.
32. Díaz, A; Martín, P.C; Castillo, E y Hernández, J.L. 2012. Suplementación de añajos Charolais de Cuba en pastoreo de asociación múltiple de leguminosas herbáceas y gramíneas tropicales. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 46, Número 3, pp 249-252.

33. Doyle, J. 2013. Advances in legume systematics in a post-genomic world. Sixth International Legumeconference 2013. Johannesburg, South Africa. p 53.
34. Dürr C, Guévaer F, Guillet JM. 2000. Pre-emergence Growth of Genotypes of Sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) Tolerant to Rhizomania. *Annals of Botany*. 85: 197-202.
35. Ellis MH, Rebetzke GJ, Chandler P, Bonnett D, Spielmeyer W, Richards RA. 2004. The effect of different height reducing genes on the early growth of wheat. *Functional Plant Biology*. 31: 583–589.
36. Fait, A.; R. Angelovici; H. Less; I. Ohad; E. Urbanczyk-Wochniak; A. R. Fernie; G. Galili. *Arabidopsis* seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches. *Plant Physiology* 142:839-854. 2005.
37. Farrant, J. M.; J. P. Moore. Programming desiccation-tolerance: From plants to seeds to resurrection plants. *Current Opinion in Plant Biology* 14 (3):340-345. 2011.
38. Finch-Savage, W.E. 2004. The use of population-based threshold models to describe and predict the effects of seedbed environment on germination and seedling emergence of crops. p. 51-96. In R.L. Benech-Arnold and R.L. Sánchez (eds.). *Seed physiology: applications to agriculture*. Haworth Press, New York, USA.
39. Fontes, D.; Mazorra, C.; Lazo, M.; Pulido, L.; Cubillas, N.; Rodríguez, L.; Hernández, N.; Rodríguez, W. 2008. *Teramnus labialis*: leguminosa promisorio para la producción diversificada en fincas cítricas. *Zootecnia Tropical*. 26(3): 351-354.
40. Fontes, D; Mazorra, C; Acosta, Y; Pardo, J. 2018. Comportamiento productivo de coberturas vivas de leguminosas herbáceas en una plantación de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. enana roja cubana eea-1840. *Universidad&Ciencia*. Vol. 7, No. 2. Pág. 297-308.
41. Gómez, O. P.; Carmona, D.; Echevarría, H. y Rosso, O. 2003. *Agricultura Orgánica y Medio Ambiente*. Curso Internacional Ganadería, Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. La Habana. DECAP. Módulo III: 63

42. Grime JP, Mason G, Curtis AV, Rodman J, Band SR. 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. *The Journal of Ecology*. 69: 1017-1059.
43. Hadas, A. 2004. Seedbed preparation: The soil physical environment of germinating seeds. p. 3-49. In R.L. Benech-Arnold and R.A. Sanchez (eds.). *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. Food Product Press, New York, USA.
44. Heidari, Z; Kamkar, B y Sinaki, J. 2014. Influence of Temperature on Seed Germination Response of Fennel. *Advances in Plants & Agriculture Research*. Volume 1, Issue 5. 7 p.
45. Hoekstra, F. A.; E. A. Golovina; J. Buitink. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *TRENDS in Plant Science* 6 (9):431-438. 2001.
46. International Seed Testing Association (ISTA). 2010. *International Rules for Seed Testing*. Basserdorf, CH Switzerland. 300 p.
47. Jiménez–Aguilar, A. y Flores, J. 2010. Effect of light on seed germination of succulent species from the southern Chihuahuan Desert: comparing germinability and relative light germination. *J. PACD* 12: 12-19.
48. Kimura, M.; E. Nambara. Stored and neosynthesized mRNA in *Arabidopsis* seeds:
49. Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. 2002. Seed dormancy and germination. *Current opinion in plant biology*. 5: 33-36.
50. Lehenbauer PA. 1914. Growth of maize seedlings in relation to temperature. *Physiology*. 48: 97-99.
51. Lewicka S, Pietruszka M. 2006. Theoretical search for the growth temperature relationship in plants. *General Physiology and Biophysics*. 25: 125-136.
52. Li-Rong, T.; H. Jian-Guo. Effect of ultradrying on germination and physiological and biochemical characteristics of *Haloxylon persicum*. *African Journal of Biotechnology* 8 (4):626-629. 2009.
53. Logan DC, Millar AH, Sweetlove Lee J, Hill SA, Leaver CJ. 2001. Mitochondrial biogenesis during germination in maize embryos. *Plant Physiology*. 125: 662-672. Lonati
54. Luo Q. 2011. Temperature thresholds and crop production: a review. *Climatic Change*. 1 09: 583-598.



55. Machado, R. & Roche, R. 2004. Colecta del germoplasma forrajero en la región
56. Machado, R. 2004. Botánica de leguminosas. Conferencia. Programa de Maestría en pastos y forrajes. Curso de Fundamentos de la Producción de Pastos. EEPF "Indio Hatuey". Mimeo.
57. Manso, M y Simón, P. 2002. Efecto de la luz y la temperatura en la germinación de leguminosas.
58. Marinoni, L; Zabala, J; Patiño, J y Pensiero, J. 2017. Efecto de la temperatura y salinidad en la germinación y crecimiento inicial de un material naturalizado de *Lotus tenuis* waldst. & kit. Revista FAVE - Ciencias Agrarias 16 (2). 49-57 pp.
59. Menéndez, J. 1982. Estudio regional y clasificación de las leguminosas forrajeras autóctonas y/o regionalizadas en Cuba. Tesis presentada en opción al grado de Candidato a Dr. en Ciencias. ICA, La Habana.
60. Miquel, M.; G. Trigui; S. d'Andréa; Z. Kelemen; S. Baud; A. Berger; C. Deruyffelaere; A. Trubuil; L. Lepiniec; B. Dubreucq. Specialization of oleosins in oil body dynamics during seed development in arabidopsis seeds. *Plant Physiology* 164:1866-1878. 2014.
61. Morgan JW, Lunt DW. 1994. Germination characteristic of eight common grassland and woodland forbs. Field Naturalists Club of Victoria. In: Baskin CC, Baskin JM. (Eds.) Seeds ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. (2 Eds.). Academic Press. P 21
62. Naylor REL. 1980. Effects of seed size and emergence time on subsequent growth of perennial ryegrass. *New Phytologist*. 84: 313-318
63. Pérez-Rodríguez, J. L.; G. Torrecilla; O. Ruiz; Martínez; M. Montero. Ruptura de dormancia en semillas de especies del género *Nicotiana*. *Centro Agrícola* 41 (1):53-60. 2014.
64. Probert, R.J. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. p. 261–292. In M. Fenner. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.

65. Rajjou, L., M. Duval, K. Gallardo, J. Catusse, J. Bally, C. Job, and D. Job. 2012. Seed germination and vigour. *Annual Review of Plant Biology* 63:507-33.
66. Rao, N. K.; J. Hanson; M. E. Dulloo; K. Ghosh; D. Novell; M. Larinde. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. *Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8*. Bioversity International, Roma, Italia. 2007.
67. Reino, J; Sánchez, A; Muñoz, B; González, Y y Montejo, L. 2011. Efecto combinado de la escarificación y la temperatura en la germinación de semillas de leguminosas herbáceas. *Pastos y Forrajes*, Vol. 34, No. 2, 179-184 pp.
68. Ruiz, T; Febles, G and Alonso, J. 2015. A scientific contribution to legume studies during the fifty years of the Institute of Animal Science. *Cuban Journal of Agricultural Science*, Volume 49, Number 2.
69. Sánchez, J; Martínez, J; Pernús, M y Barrios, D. 2017. Efecto de la temperatura y la iluminación sobre la germinación de semillas no dormantes de *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae). *Acta Botánica Cubana*, Vol. 216, No. 2, 55-60 pp.
70. Sauget, J. S & Liogier, E. E. 1951. Flora de Cuba. Contribuciones ocasionales del museo de historia natural de Salle. No. 10. La Habana, Cuba. 456p
71. Schopfer P. 2006. Biomechanics of plant growth. *American Journal of Botany*. 93: 1415-1425
72. Shafii BS, Price WJ. 2001. Estimation of cardinal temperatures in germination data analysis. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*. 6: 356-366.
73. Singh, H.; B. M. Johri. Development of gymnosperm seeds. En: Kozlowski, T. T. (ed). *Seed biology*. Academic Press, New York, USA, pp 22-77. 1972.
74. Singh, N.; A. K. Singh; B. S. Dhillon. Effect of ultra-drying on *ex situ* seed conservation. En: Smith, R. D.; J. B. Dickie; S. H. Linington; H. W. Pritchard; R. J. Probert (eds). *Seed conservation: Turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido, pp 797-805. 2003.

75. Skerman, P. J.; Cameron, D. G. y Riveros, F. 1991. Leguminosas forrajeras tropicales. Colección FAO, Producción y Protección Vegetal. Italia. Roma. 2:707.
76. Smith KF, McFarlane NM, Croft VM, Trigg PJ, Kearney GA. 2003. The effects of ploidy and seed mass on the emergence and early vigour of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars. *Animal Production Science*. 43: 481-486.
77. Sreenivasulu, N.; U. Wobus. Seed-development programs : A systems biology – based comparison between dicots and monocots. *Annual Review of Plant Biology* 64:189-217. 2013.
78. Steadman KJ. 2004. Dormancy release during hydrated storage in *Lolium rigidum* seeds is dependent on temperature, light quality, and hydration status. *Journal of Experimental Botany*. 55: 929-937.
79. Stokes P. 1965. Temperature and seed dormancy. In: Ruhland W (Eds.), *Encyclopaedia of plant physiology*. 15/2: Springer-Verlag, Berlin: 746-803. In: Baskin JM, Baskin CC. *Seed ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. (2 Eds.). Academic Press: 106-107.
80. Toh S, Imamura A, Watanabe A, Nakabayashi K, Okamoto M, Jikumaru Y, Hanada A, Aso Y, Ishiyama K, Tamura N, Iuchi S, Kobayashi M, Yamaguchi S, Kamiya Y, Nambara E, Kawakami N. 2008. High Temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in *Arabidopsis* Seed. *Plant Physiology*. 146: 1368-1385.
81. Van der Schoot, C.; L. K. Paul; S. B. Paul; P. L. Rinne. Plant lipid bodies and cell-cell signaling: a new role for an old organelle? *Plant Signaling & Behavior* 6:1732-1738. 2011.
82. Vicente-Carbajosa, J.; P. Carbonero. Seed maturation: Developing an intrusive phase to accomplish a quiescent state. *The International Journal of Developmental Biology* 49:645-651. 2005.
83. Walck JL, Hidayati SN, Dixon KW, Thompson KEN, Poschlod P. 2011. Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*. 17: 2145-2161.

84. Wang R, Bai Y, Tanino K. 2004. Effect of seed size and sub-zero imbibition-temperature on the thermal time model of winterfat (*Eurotia lanata* (Pursh) Moq.). *Environmental and Experimental Botany*. 51:183-197.
85. Waraich EA, Ahmed R, Halim A, Aziz T. 2012. Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 12: 221-244.
86. Welbaum, G.E.; Bradford, K.J.; Yim, Kyu-Ock; Booth, D.T.; Oluoch, M. O. 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. *Seed Sci. Res.* 8:161-172.
87. Werker E. 1997. Seed anatomy. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart. In; Larsen SU, Andreasen C. Turfgrass science light and heavy turfgrass seeds differ in germination percent and mean germination thermal time. *Crop Science*. 44: 1710-1720.
88. Windauer L., Altuna A, Benech-Arnold RL. 2007. Hydrotime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination responses to priming treatments. *Industrial Crops and Products*. 25:70-74.
89. Wobus U, Weber H. 1999. Sugars as signal molecules in plant seed development. *Biological Chemistry*. 380: 937-944.
90. Yamauchi Y, Ogawa M, Kuwahara A, Hanada A, Kamiya Y, Yamaguchi S. 2004. Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. *The Plant Cell*. 16: 367-378.
91. Yepes, S. 1971. Observaciones sobre la evaluación de las leguminosas serie1. *Ing. Agrónomo*. 7. Univ. De La Habana.