

Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez
Facultad de Ciencias Agropecuaria

Tesis en opción al título de ingeniero agrónomo



Título: Clasificación de la dormancia en semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar "Semilla Oscura".

Autor: Savier Saavedra Jiménez.

Tutor: M.Cs. Yanier Acosta Fernández.

Curso: 2018 – 2019.

Pensamiento:

Ciencia es el conjunto de conocimientos humanos aplicables a un orden de objetos, íntima y particularmente relacionados entre sí.

José Martí

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a mi madre que siempre ha estado incondicionalmente a mi lado, en las buenas, en las malas y en las peores, por todas sus enseñanzas y fortaleza, mil Gracias.

A mi abuela que me da fuerza diariamente para seguir adelante y ser mejor cada día.

A mi padre que siempre me ha apoyado en todo para lograr mis metas y me ha servido de ejemplo a seguir durante toda mi vida.

A toda mi familia, que siempre me impulsaron a seguir adelante.

A mis compañeros y amigos que me prestaron ayuda cuando más la necesitaba.

Agradecimientos

Me gustaría agradecerle a todas las personas que me ayudaron a graduarme como profesional, que me aconsejaron cuando lo necesitaba además de los que estuvieron en las buenas y en las malas en especial:

- ❖ A mi madre Bárbara que me ha apoyado en todas las decisiones y me ha dado los consejos necesario para lograr ser mejor cada día
- ❖ A mi abuela que me ha ayudado a ser un hombre mejor, además con su vejez me ha preparado para la vida.
- ❖ A mi padre Servando que con sus consejos y vivencias ha contribuido en mi preparación como profesional y ser un hombre de bien.
- ❖ A mi tutor que además de amigo lo considero un padre y siempre me apoyo y me enseñó sus conocimiento para logra el sueño más bonito que es graduarme.
- ❖ No quiero dejar de agradecerle a Darian que lo considero el hermano que nunca tuve que ha estado conmigo durante todos estos años como estudiante y me ha apoyado en los momentos más difíciles de mi vida.

Resumen

Se realizó un estudio con el objetivo de clasificar la dormancia de las semillas de la especie *Teramnus labialis*, cultivar “Semilla Oscura”. Se utilizaron semillas recolectadas en la finca “La Esperanza” ubicada en el municipio Ciro Redondo, provincia Ciego de Ávila, Cuba en el mes de febrero en el año 2018 a partir de 50 plantas cultivadas en un banco de germoplasma. A las semillas se les realizaron ensayos de germinación, viabilidad y vigor para determinar la calidad de las mismas, donde se obtuvo un 35, 90 y 76% respectivamente para cada determinación. Se realizaron diferentes experimentos para conocer el tipo y nivel de dormancia de las semillas comenzando por la estratificación en frío y caliente durante un periodo de cuatro meses y utilización de AG_3 a diferentes concentraciones, donde no se encontraron variaciones en los porcentajes de germinación entre las semillas. Se realizó una prueba de inhibición con semillas cortadas y sin cortar, evidenciando la falta de entrada de agua a la semilla. Se utilizó el lavado con abundante agua por diferentes periodos de tiempo y como último experimento la abrasión en papel de lija en combinación con dos concentraciones de AG_3 . Se llegó a la conclusión que las semillas de *Teramnus labialis*, cultivar “Semilla Oscura” presentan dormancia física por impermeabilidad de la cubierta al agua y al aire.

Índice.

1. Introducción	1
2. Revisión Bibliográfica	4
2.1 Generalidades de la Familia <i>Leguminosae</i>	4
2.2 Generalidades de la Especie <i>Teramnus labialis</i> (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.....	5
2.3 Definición de semilla	7
2.4 Origen de la semilla.	7
2.5 Germinación de la semilla.....	8
2.6 Factores que influyen en la germinación de las semillas.....	9
2.7 Definición de la dormancia en semillas.....	10
2.8 Clasificación de la dormancia en semillas.	11
2.8.1 Dormancia física (PY).....	11
2.8.2 Dormancia fisiológica (PD).....	12
2.8.3 Dormancia combinada (PY+PD).....	13
3 Materiales y Métodos	14
3.1 Recolección y almacenamiento de las semillas.....	14
3.2 Determinación de la viabilidad y el vigor de las semillas.....	14
3.2.1 Germinación de las semillas.	14
3.2.2 Viabilidad y vigor de las semillas.	15
3.3 Determinación de la clase, el tipo y nivel de dormancia de las semillas.	15
3.3.1 Toma de agua por la semilla (imbibición).....	15
3.3.2 Estratificación caliente (30°C).....	16
3.3.3 Estratificación en frío (5°C).	16
3.3.4 Utilización de AG ₃ (Ácido Giberélico).....	16
3.3.5 Lavado con abundante agua.....	16
3.3.6 Abrasión+AG ₃	17
3.4 Procesamiento Estadístico	17
4. Resultados y discusión.....	18
4.1. Determinación de la viabilidad y el vigor en las semillas de la especie <i>Teramnus labialis</i> (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.....	18
4.1.1. Germinación de las semillas.....	18
4.1.2. Viabilidad de las semillas.	19
4.1.3. Vigor de las semillas.	20
4.2 Determinación de la clase, el tipo y nivel de dormancia presente en las semillas.....	21
4.2.1 Estratificación caliente (30°C).....	21

4.2.2 Estratificación en frío (5°C).....	22
4.2.3 Utilización de AG ₃	23
4.2.4 Toma de agua por la semilla (imbibición).....	24
4.2.5 Lavado con abundante agua.....	26
4.2.6 Abrasión + AG ₃	27
5. Conclusiones	29
6. Recomendaciones.....	30
7. Bibliografía	31

1. Introducción

En el área tropical de América existe una amplia biodiversidad de leguminosas, destacándose, entre otras, los géneros *Neonotonia*, *Teramnus*, *Stylosanthes*, *Centrosema* y *Macroptilium* (Díaz *et al.*, 2012). Dentro de estos géneros, destaca la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscuras”, con la cual se ha trabajado por más de cuatro décadas en Cuba (Funes y Perez, 1976; Hernández y Hernández 1988; González y Mendoza, 1991; Gutiérrez *et al.*, 2006, Fontes *et al.*, 2008; Mazorra *et al.*, 2016; Fontes *et al.*, 2018; Acotsa *et al.*, 2019). Esta especie, como la mayoría de las leguminosas, juegan un papel preponderante en la agricultura, debido a su uso como alimento animal y su papel como mejoradoras de las condiciones fisicoquímicas de los suelos en los diferentes ecosistemas en que son usadas (Crews *et al.*, 2016).

Teramnus labialis es una especie naturalizada en Cuba que 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). Sin embargo, el uso y manejo de la misma se ve afectada por la poca disponibilidad de semillas, el pequeño tamaño de ellas y los bajos porcentajes de germinación, debido a un alto contenido de semillas duras que no germinan (Funes y Perez, 1976; González y Mendoza, 1991; Skerman *et al.*, 1991).

Con respecto a la especie *Teramnus labialis* existen criterios divididos entre muchos autores con relación al tipo de dormancia que presentan sus semillas. Yepes *et al.* (1971) describieron que es una especie de semillas pequeñas, cuyo establecimiento se puede ver dificultado por esta razón, aunque no describieron ningún tipo de dormancia. Menéndez (1982), por su parte, plantea la presencia de semillas duras en alrededor de un 20% y no observó efecto dormático en las mismas. Sin embargo, González y Mendoza (1991) encontraron en las semillas recién cosechadas un 70% de dureza, lo que dificulta su establecimiento. Comportamientos similares a este fueron

reportados por, Martín *et al.* (1991), González y Mendoza (1995) y Acosta *et al.* (2019), entre otros autores que han reportado algún tipo de dormancia en esta especie.

La dormancia de una semilla viable se ha definido, como el fracaso de la misma para completar la germinación en condiciones favorables (Bewley, 1997, Baskin y Baskin, 2004, 2006). La dormancia en muchas leguminosas es el resultado de una testa impermeable causada por una densa capa de células en empalizada (Baskin and Baskin, 2014). La impermeabilidad se ha atribuido a propiedades que incluyen el grosor de la cubierta de la semilla, la composición de la cutícula y los pigmentos de la testa (Smykal *et al.*, 2014).

En algunas ocasiones la cubierta de la semilla ejerce una acción restrictiva de la germinación, ya sea por ser impermeable al agua y/o al oxígeno (dormancia física), al producir compuestos inhibidores de la germinación (dormancia fisiológica) o por su resistencia mecánica a la protuberancia de la radícula (dormancia fisiológica) (Baskin and Baskin, 2014). En este sentido, Baskin and Baskin, (2015) en la última clasificación de dormancia conocida, reportaron que en la familia de las leguminosas se ha conocido de la presencia de dormancia física (PY), dormancia fisiológica (PD) y la dormancia combinada (PY+PD). Estos criterios han contribuido como punto de partida para clasificar el tipo de dormancia presente en las semillas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” y de esta manera solucionar el siguiente **Problema:** Se desconoce la clase de dormancia que presentan las semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

Hipótesis: El estudio de la germinación bajo diferentes condiciones experimentales en semillas de *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”, permitirá definir la clase de dormancia presente en esta especie.

Objetivo: Clasificar la dormancia en semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

Objetivos Específicos:

1. Determinar la viabilidad y el vigor en las semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar "Semilla Oscura".
2. Determinar la clase, el tipo y nivel de dormancia presente en semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar "Semilla Oscura".

2. Revisión Bibliográfica

2.1 Generalidades de la Familia *Leguminosae*

La familia de las leguminosas (*Leguminosae*) es una familia del orden de las *fabales* y es de las más grandes dentro de las plantas con flores, con un estimado de 700 géneros y 14000 especies (Doyle, 2013). En Cuba existen 125 especies nativas (Yepes, 1971), lo que representa el 34% del total y se distribuyen por sus familias de la siguiente forma: 36 *Cesalpinioideae*, 33 *Mimosoideae* y 38 *Phaseoloideae*. Por su parte Barreto *et al.* (1995) señalan que, dentro de la flora de Cuba, las leguminosas forrajeras se consideran únicamente tropicales y en estas regiones han alcanzado su máxima diferenciación morfológica.

Esta familia posee hojas alternas, mayormente pecioladas, multifoliadas de nerviación reticulada, cuyos folíolos son de forma orbicular, con estípulas y estípelas y un desarrollo pulvínolo que confiere gran movilidad a sus hojas. El tallo es típico de las dicotiledóneas, que se ramifica y contiene yemas basales, axilares y terminales. Sus flores son completas, con cuatro verticilos bien definidos; por su forma pueden ser zigomorfas, actinomorfas e irregulares y se dispone generalmente en inflorescencias de tipo racimo. El fruto es una legumbre, que puede ser dehiscente o indehiscente y contienen desde una hasta más de 20 semillas con variada forma, tamaño y coloración. La raíz es pivotante y se ramifica profundamente hasta un cuarto estrato (Skerman *et al.*, 1991).

En trabajos realizados por Clavel (2004), Rodríguez (2005) y Navia (2005), se alude a los principales efectos de la utilización de las leguminosas como cultivos de cobertura. Entre los que señalan: aumento del contenido de materia orgánica del suelo a lo largo de los años; disminución del lavado de nutrimentos y aumento de su disponibilidad (principalmente del nitrógeno) a través de su adición al suelo mediante la fijación biológica; incremento de la capacidad de reciclaje y movilización de nutrimentos lixiviados que se encuentran en las capas más profundas del suelo y que no pueden ser

aprovechados por cultivos con sistema radical superficial; elevación del pH del suelo; beneficio en la formación de ácidos orgánicos fundamentales en el proceso de solubilización de minerales del suelo; movilización de formas estables de fósforo y potasio, convirtiéndolas en formas asimilables para las plantas. Según (CIDICCO, 2004) estas coberturas se utilizan en plantaciones de guanábanas en costa rica y en honduras y Surinam en cultivos de cítricos y, en panamá es muy utilizado en plátano esto disminuye los costos de los sistemas de explotación, reducen la necesidad de aplicación de herbicidas químicos y mano de obra para el control de malezas.

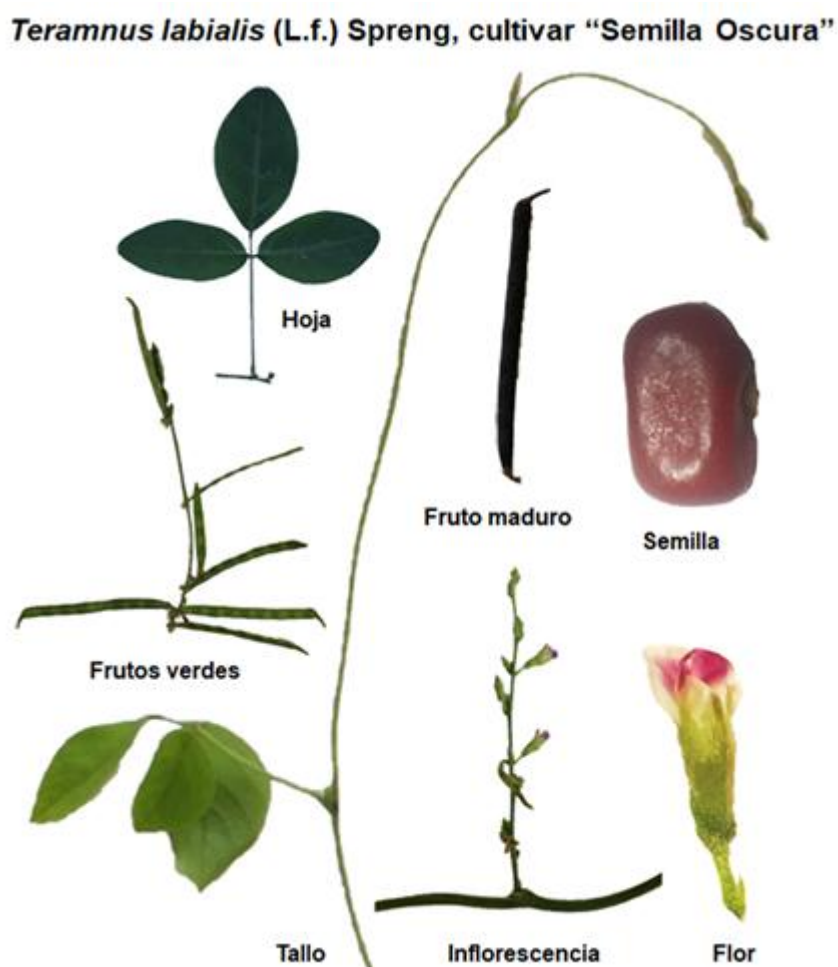
En la agricultura cubana se han desarrollado diversas investigaciones con el uso de leguminosas como cultivos de cobertura, entre las que se destacan las realizadas por Pérez-Carmenate *et al.* (1996), en plantaciones de coco (*Cocos nucifera*) con dos leguminosas tropicales (*Neonotonia wightii*, y *Clitoria ternatea*). Por su parte, Cancio *et al.* (2003) señalaron que *A. pintoii* puede ser utilizada como cobertura viva en plantaciones de café, al manifestar buena adaptabilidad en este ecosistema.

2.2 Generalidades de la Especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

Teramnus pertenece a la tribu *Phaseoleas*, sub-familia *Phaseoloideae*, posee 6 especies tropicales que se distribuyen en Cuba, Jamaica, Haití, Brasil, Paraguay, Argentina y Colombia, pero no existe en Centro América. La especie más extendida en América es *T. uncinatus* que se comporta como anual en Cuba, donde además se encuentran distribuidas *T. labialis* y *T. volubilis*. *T. labialis* es la especie más abundante en Cuba, particularmente en las provincias más orientales, donde ha mostrado ser una leguminosa prometedora como componente de pastizales mixtos, por poseer una excelente habilidad asociativa al convivir con la mayoría de las gramíneas cespitosas como pangola, pasto estrella, bermuda, etc. y con macollosas, incluso con la guinea *cv. Likoni* gramínea de gran agresividad.

T. labialis es una leguminosa naturalizada en Cuba de la que se han separado dos variedades.; “Semilla Clara” y “Semilla Oscura”, siendo la primera de mejor comportamiento, la que ha persistido por más de 3 años en pastoreo rotacional simulado, asociada a gramíneas con carga de 2-2,5 animales/ha. Es además, una leguminosa muy apetecida por el ganado bovino y tiene un elevado contenido de proteína, que fluctúa entre 16-20%. Produce alrededor de 10-16 t MS/ha/año y basta 500 kg de semillas/ha/año. (Menéndez, 1982).

Figura 1: Principales características morfológicas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semillas Oscura”.



T. labialis es una planta perenne de gran habilidad asociativa, de tallos finos estoloníferos que enraízan en los entrenudos, volubles. Las hojas son trifoliadas, cuyo foliolo central mide de 4–5.5 cm, lampiñas por el haz con pelos aplicados en el envés; las flores son blancas muy pequeñas en racimos axilares (Figura 1). Las vainas aplanadas y pubescentes miden de 3.5–5 cm de

longitud y 2-3 mm de ancho con 6-10 semillas de coloración pardo claro hasta negras, según la variedad (Figura 1) (Menéndez, 1982).

Se presenta como una especie muy plástica (vista como capacidad de adaptación edafoclimática), lo que le confiere alta persistencia en un amplio rango de suelo. En Cuba el mejor comportamiento lo exhibe en suelos del tipo loam arenoso fino aluviales aunque se establece de igual modo en suelos Oscuros plásticos gleysosos, en los Gley ferralíticos, en los Ferralíticos pardos rojizos y en suelos no calcáreos (Menéndez, 1982).

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 a su facilidad para entremezclarse con otras especies.

2.3 Definición de semilla

La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, regeneración de los bosques y sucesión ecológica. En la naturaleza, la semilla es una fuente de alimento básico para muchos animales. También, mediante la producción agrícola, la semilla es esencial para el ser humano, cuyo alimento principal está constituido por semillas, directa o indirectamente, que sirven también de alimento para varios animales domésticos. Las semillas pueden almacenarse vivas por largos períodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas (Doria, 2010).

2.4 Origen de la semilla.

La semilla es una unidad reproductiva compleja, característica de las plantas vasculares superiores, que se forma a partir del óvulo vegetal, generalmente después de la fertilización. Se encuentra en las plantas con flores (angiospermas) y en las gimnospermas. En las angiospermas los óvulos se

desarrollan dentro de un ovario, en tanto que en las gimnospermas la estructura que los contiene es muy diferente, pues no constituye una verdadera flor; sin embargo, la estructura de las semillas de estas plantas es básicamente similar a la de flores (Camacho 1994). Las reservas energéticas de la semilla son: grasas, carbohidratos y a veces proteínas, que sostendrán a la futura planta durante sus primeras etapas de vida. Estas reservas, como se ha dicho, pueden encontrarse en diferentes tejidos o en el embrión mismo, lo cual está relacionado con la germinación y el desarrollo de un nuevo individuo (Doria, 2010).

2.5 Germinación de la semilla

La germinación en términos generales constituye los eventos que inician con la toma de agua por parte de la semilla y termina con la elongación de la radícula. Durante estas etapas ocurren varios eventos como hidratación de proteínas, cambios estructurales, cambios celulares, respiración, síntesis de macromoléculas y elongación celular (Angelovici *et.al.* 2010). Durante el proceso de germinación se presentan las siguientes fases: La primera fase hace referencia a la imbibición, proceso esencial para el ingreso de agua a las semillas. El agua es absorbida a través de las aberturas naturales de la cubierta y difundida hacia el tejido interno. Es el primer paso para el inicio del crecimiento del embrión y es un proceso que rompe períodos de dormancia y quiescencia (Bewley, D. 1997). Según (Doria 2010) que se caracteriza por un rápido incremento en la respiración, que generalmente se produce antes de transcurridas 12 h desde el inicio de la imbibición. El aumento en la actividad respiratoria es proporcional al incremento de la hidratación de los tejidos de la semilla.

En la segunda fase, el potencial hídrico de la semilla se equilibra con el del medio. Después de un tiempo el ingreso de agua se hace más lento hasta que se vuelve nulo. Durante este momento se mantienen activos los sistemas enzimáticos y los procesos metabólicos como la respiración y la síntesis de proteínas (Bewley, D. 1997). Según (Doria 2010) la actividad respiratoria se estabiliza entre las 12 y 24 h desde el inicio de la imbibición. Probablemente las

cubiertas seminales, que todavía permanecen intactas, limitan la entrada de O₂. La eliminación de la testa puede acortar o anular esta fase.

Durante la tercera fase ocurre la elongación de la radícula, turgencia celular y debilitamiento de tejidos externos (Bewley, D. 1997). Según (Doria 2010) se produce un segundo incremento en la actividad respiratoria, que se asocia a la mayor disponibilidad de O₂, como consecuencia de la ruptura de la testa producida por la emergencia de la radícula. Otro factor que contribuye a ese aumento es la actividad de las mitocondrias, recientemente sintetizadas en las células del eje embrionario.

2.6 Factores que influyen en la germinación de las semillas.

La germinación es afectada tanto por factores internos como externos: En el caso de los factores internos se conoce que la viabilidad del embrión es uno de los factores indispensables para la germinación, ya que si el embrión no es viable es claro que la semilla nunca germinará. Este factor indica si una semilla está metabólicamente activa o no. La viabilidad se determina mediante la prueba topográfica por Tetrazolio (Cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio); que utiliza la actividad de las enzimas deshidrogenasas como un índice de la tasa respiratoria y la viabilidad de las semillas (Ortega, A 2006).

Otro factor que define la calidad fisiológica e incide en la germinación de las semillas, es el contenido de humedad, a medida que las semillas estén más maduras el contenido de humedad será inferior, la semillas tendrán un máximo de peso seco y su potencial osmótico será muy negativo, garantizando el ingreso de agua por osmosis para la reactivación del metabolismo (Ramirez.*et.al.* 2008).

El último factor a mencionar es el vigor de la semilla, este parámetro se define como la sumatoria total de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de germinación. Es un factor clave para establecer las semillas en un ambiente determinado, dependiendo del alto o bajo vigor germinativo. Para la medición de este factor se emplea un conductímetro, el cual permite estimar

la cantidad de osmolitos que se encuentran en el medio causados por la lixiviación de las membranas de la semilla, por lo tanto los valores altos de conductividad eléctrica señalarán semillas de baja calidad (ISTA, 2010).

En el caso de los factores externos, la humedad del medio es uno de los factores indispensables para la germinación, si la humedad no es la apropiada para la especie, la semilla no germina ya que no se inicia el proceso de reactivación del metabolismo. Otro factor importante es la temperatura a la que se somete la semilla, ya que esta interviene en la actividad enzimática y metabólica de las semillas. Otro factor externo importante es el nivel de oxígeno que se encuentra en el medio, ya que durante el momento de la germinación la tasa respiratoria de la semilla se incrementa junto con la reactivación del metabolismo mientras que durante el proceso de maduración y deshidratación de la semillas se reduce la captación de oxígeno, evitando los radicales libres y daños a la membrana. Otro factor importante es la incidencia de la luz y la calidad de la misma, ya que algunas semillas germinan dependiendo de la intensidad y longitud de onda percibida (Bewley, D. 1997).

2.7 Definición de la dormancia en semillas

El término “semilla dormante” se refiere al estado en el cual las semillas intactas no germinan cuando se les brindan las condiciones que normalmente favorecen al proceso germinativo (Cohn, 2006) y estas pueden ser: humedad adecuada (agua), régimen apropiado de temperaturas, una atmósfera normal (oxígeno) y, en algunos casos, la luz (Hilhorst y Toorop, 1997). La dormancia es una característica dependiente de la especie y el genotipo (Foley y Fennimore, 1998).

Los factores ambientales pueden tener efectos significativos en la expresión fenotípica de la germinación y se conoce que estos interactúan con el genotipo (Geneve, 2003; Dias, 2005). Según Li y Foley (1997) y Baskin (2005), la presencia de dormancia en las semillas actúa como modulador de la regeneración de las especies vegetales, además de convertirse durante la

evolución de las plantas en una estrategia para evitar la germinación en las condiciones donde es probable que la supervivencia de la plántula sea baja.

2.8 Clasificación de la dormancia en semillas.

A lo largo del tiempo se han publicado diversos sistemas para clasificar la dormancia de las semillas (Crocker, 1916; Harper, 1957, 1977; Nikolaeva, 1969, 1971, 2001; Lang *et al.*, 1985, 1987; Lang, 1987, Baskin and Baskin, 2004, 2015). El sistema de Harper, (1957) es demasiado restringido para cubrir los diversos tipos de latencia existentes, mientras que el sistema de endodormancia, paradormancia y ecodormancia de Lang, (1987) se basa únicamente en la fisiología y no se aplica a semillas con embriones subdesarrollados o capas de semillas impermeables al agua. Sin embargo, el sistema de clasificación de Nikolaeva (1969, 1971, 2001) es más completo y se adapta a la diversidad de tipos de letargo en las semillas.

Nikolaeva (1969, 1971, 2001), no solo reconoció varios tipos de latencia endógena y exógena, sino que también distinguió diferentes tipos de latencia fisiológica (3) y morfofisiológica (7). En la actualidad este sistema ha sido modificado y mejorado (Baskin and Baskin, 2004, 2015), y comprende cinco clases de dormancia (Tabla1).

Tabla 1: Clases de dormancia en semillas (Modificado de Nikolaeva, 1977 y Baskin and Baskin, 1998)

Clase de dormancia	Causa de la dormancia
A-Dormancia fisiológica (PD)	Bajo potencial de crecimiento del embrión, con una restricción mecánica al crecimiento en la testa de la semilla o el fruto.
B-Dormancia morfológica (MD)	Embrión pequeño diferenciado o indiferenciado (pero desarrollado) que solo necesita tiempo para desarrollarse antes de germinar (período de desarrollo=período de dormancia).
C-Dormancia morfofisiológica (MPD)	Combinación de embrión sin desarrollarse y embrión con dormancia fisiológica.
D-Dormancia física (PY)	Capa de células en empalizada impermeable al agua en la testa de la semilla o fruto.
E-Dormancia combinada (PY+PD)	Semilla impermeable al agua y dormancia fisiológica del embrión.

2.8.1 Dormancia física (PY)

La dormancia física (PY) es causada por una o más capas, impermeables al agua, de células en empalizada en la testa de la semilla o fruto (Baskin *et al.*, 2000). Normalmente la dormancia se rompe en semillas con PY, tanto en condiciones naturales como condiciones artificiales (excepto escarificación mecánica). Morrison *et al.* (1998) presentaron evidencia de que en la familia *Fabaceae*, se puede interrumpir la latencia por calentamiento de la cubierta de la semilla en una región opuesta al lente. La escarificación mecánica o química también promueve la germinación en semillas con esta dormancia y con dormancia fisiológica. Por lo tanto, no es inusual que un investigador informe que las semillas de una especie tienen una capa de semilla impermeable al agua, cuando, de hecho, este no es el caso. Casi sin excepción en tales estudios, la prueba de absorción de agua no fue realizada comparando la imbibición en semillas escarificadas/no escarificadas.

2.8.2 Dormancia fisiológica (PD)

Las semillas con PD son permeables al agua (excepto las semillas que presentan alguna sustancia inhibidora que impida la entrada de agua), y de acuerdo con Nikolaeva (1969, 1977) tienen un mecanismo de inhibición fisiológica en el embrión que impide la aparición de la radícula. Además, el bajo potencial de crecimiento, o poder de empuje, del embrión juega un papel importante en el retraso de la germinación. En consecuencia, las estructuras que cubren el embrión, incluido el endosperma (o perispermo), las cubiertas de semillas, las paredes de fruta indehisciente, pueden restringir la aparición de radículas, especialmente en semillas recién maduras. (Nikolaeva, 1977).

Una parte de dormancia fisiológica (antes llamada química) se debe a que las semillas no germinan por la presencia de inhibidores en el pericarpio (pared del fruto). Esta dormancia se rompe por la eliminación del pericarpio o lixiviación de los frutos. Sin embargo, si los resultados de eliminación de pericarpio logran un aumento del porcentaje de germinación, no siempre está claro si se han eliminado los inhibidores, la restricción mecánica o ambos. La dormancia debido a sustancias química se ha ampliado para incluir compuestos que, o bien se producen en, o se translocan a, la semilla, en la que bloquean el

crecimiento del embrión. Numerosos estudios han demostrado que la germinación en placas de Petri se inhibe por una variedad de compuestos que se encuentran en muchas familias de plantas (Evenari, 1949; Ketring, 1973).

Por otro lado, la dormancia química, ahora parte de la dormancia fisiológica, es debido a la presencia de una pared dura en la semilla o fruto. La estructura dura por lo general el endocarpio, pero a veces también el mesocarpio es leñoso (Hill, 1933). En algunos casos, el endocarpio puede ser impermeable al agua, por consiguiente, los frutos (semillas) presentan dormancia física. En la mayoría de las familias, el endocarpio pétreo es permeable al agua, pero la germinación no ocurre hasta que las semillas reciben un tratamiento. En ocasiones, se requieren largos períodos de estratificación en frío para la pérdida de la dormancia (Nikolaeva, 1969). En las familias tropicales, los largos períodos de tiempo requeridos para la iniciación de la germinación y que se rompa la dormancia suelen ser por estratificación caliente (Baskin and Baskin, 2014).

2.8.3 Dormancia combinada (PY+PD)

En semillas con (PY PD), la testa de la semilla (o fruto) es impermeable al agua y, además, el embrión es fisiológicamente inactivo. El componente fisiológico parece estar en el nivel no profundo en todos ejemplos descritos por (Baskin and Baskin, 1998). Los embriones de semillas recién maduras en algunas especies de la familia Fabaceae, con dormancia fisiológica han salido de ese estado, después de la maduración, en un período de almacenamiento en seco o en el campo dentro de unas pocas semanas, incluso mientras que la cubierta de la semilla permanece impermeable al agua (Baskin y Baskin, 1998). En embriones de géneros tales como *Cercis* (Fabaceae) y *Ceanothus* (Rhamnaceae) se requieren unas pocas semanas de estratificación fría, después de haber roto la PY y las semillas logran germinar.

3 Materiales y Métodos

3.1 Recolección y almacenamiento de las semillas.

Se utilizaron semillas maduras de la especie, *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”, que se recolectaron en el mes de febrero de 2018 a partir de 50 plantas cultivadas en la Finca “La Esperanza” del Municipio Ciro Redondo, provincia de Ciego de Ávila, Cuba. 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 mostraron un contenido de humedad de 7.23 %. Los experimentos fueron realizados en el laboratorio de fisiología vegetal de la facultad de ciencia agropecuaria perteneciente a la Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez.

3.2 Determinación de la viabilidad y el vigor de las semillas.

3.2.1 Germinación de las semillas.

Se tomaron 100 semillas y se dividieron en 4 repeticiones de 25 semillas cada una 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). Posteriormente, las placas Petri, se colocaron en una cámara pre-germinativa de ambiente controlado (Modelo: R-DTOP Series, China) y se mantuvieron a una temperatura de 30°C y con un fotoperiodo de 12 horas luz 12 horas oscuridad por un período de 24 días como recomienda (Martín, 2018)

Se realizaron lecturas diarias de semillas germinadas tomando como criterio la emergencia de la radícula, al vigésimo cuarto día se contaron las semillas no germinadas y podridas, clasificándose como no germinadas las semillas que no germinaron en condiciones favorables y se caracterizaron por permanecer duras y aparentemente viables, y como semillas podridas las que al final del periodo no estaban duras ni produjeron plántulas y se vieron afectadas por hongos o necrosis del tejido, expresándose los resultados en porcentaje (%) (Skerman *et al.*, 1991).

3.3.2 Viabilidad y vigor de las semillas.

Tres repeticiones, de 50 semillas, se colocaron en cajas Petri sobre papel de filtro previamente humedecido con 5 ml de agua destilada, por un período de 24 h, a 30°C y en la oscuridad en una cámara pre-germinativa de ambiente controlado (Modelo, RTOP-D Series, China). Luego de transcurrido el período de tiempo de incubación, se tomaron las semillas y se le retiró la cubierta seminal para exponer los cotiledones y el embrión. Estos se colocaron en cajas Petri, donde se sustituyó el agua por una solución de tetrazolio (2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio) al 1 % (Altare *et al.*, 2006) y se mantuvieron en las mismas condiciones dentro de la cámara por 2 h. Luego, las semillas se enjuagaron con agua destilada y se observaron con un microscopio estereoscópico.

Las semillas se clasificaron según su coloración (International Seed Testing Association, 2010; Maldonado-Peralta *et al.*, 2016) en: 1) vivos con vigor alto, cuando estaban totalmente teñidos de rojo intenso, 2) vivos con vigor bajo, cuando su coloración era rojo pálido o con secciones descoloridas y, 3) no viables, cuando permanecieron incoloros. La viabilidad se expresó como porcentaje de embriones vivos del total de evaluaciones. La suma de la clase 1 y 2 representó la proporción de embriones viables, la clase 1 representó a los embriones con vigor alto y la clase 2 a los de vigor bajo. Los valores se expresaron en porcentaje.

3.3 Determinación de la clase, el tipo y nivel de dormancia de las semillas.

3.3.1 Toma de agua por la semilla (imbibición).

Se tomaron 150 semillas y se dividieron en 3 réplicas de 50 semillas cada una, posteriormente fueron pesadas en una balanza analítica y colocadas en placas Petri (9 cm de diámetro), sobre un papel de filtro previamente humedecido con 10 ml de agua destilada. Las semillas se mantuvieron en estas condiciones por un periodo de 48 h y cada 2 h se retiraban, se secaban con papel de filtro, se pesaban e inmediatamente se regresaban a la placa Petri. Los ensayos se

llevaron a cabo a la temperatura óptima de germinación para la especie. Al final del ensayo, las semillas se clasificaron como hidratadas o no hidratadas, según el aumento o no de su peso (Monroy-Vázquez *et al.*, 2017).

3.3.2 Estratificación caliente (30°C).

Se tomaron 500 semillas y se depositaron en un pomo de cristal ámbar, debidamente sellado y se colocó a una temperatura de 30°C durante 4 meses. Cada mes se tomó una muestra de 100 semillas y se realizó un ensayo de germinación como se describe en el acápite 3.2.1 (Baskin and Baskin, 2014).

3.3.3 Estratificación en frío (5°C).

Se tomaron 500 semillas y se depositaron en un pomo de cristal ámbar, debidamente sellado y se colocó a una temperatura de 5°C durante 4 meses. Cada mes se tomó una muestra de 100 semillas y se realizó un ensayo de germinación como se describe en el acápite 3.2.1 (Baskin and Baskin, 2014).

3.3.4 Utilización de AG₃ (Ácido Giberélico).

Para el tratamiento con AG₃, se utilizaron cuatro concentraciones diferentes (1, 0.1, 0.05, 0.01 µM) y se tomaron 100 semillas, para cada concentración, y se introdujeron en un recipiente con 1ml de cada concentración y se colocaron en un agitador por un período de tiempo de 14 horas. Posteriormente se retiraron y se realizaron varios enjuagues con agua a temperatura ambiente, para posteriormente colocar las semillas a germinar según se describe en el acápite 3.2.1 (Baskin and Baskin, 2014).

3.3.5 Lavado con abundante agua.

Para el experimento de lavado con abundante agua, se evaluaron cuatro períodos de tiempo (6, 12, 18 y 24 h). Se tomaron 100 semillas, por cada período de tiempo y se introdujeron en un recipiente cerrado con agua destilada y se colocaron en un agitador a 100 rpm. Luego se extrajeron las

semillas y se colocaron a germinar según acápite 3.2.1 (Baskin and Baskin, 2014).

3.3.6 Abrasión+AG₃.

Para el tratamiento de abrasión se tomaron 300 semillas y se colocaron entre dos papeles de lija, numero 180 y se lijaron durante 5 segundos, luego se tomaron 100 semillas para cada tratamiento (L, lijado; L+0.1 μM GA₃; L+0.5 μM GA₃) y colocaron a germinar según acápite 3.2.1 (Baskin and Baskin, 2014).

3.4 Procesamiento Estadístico

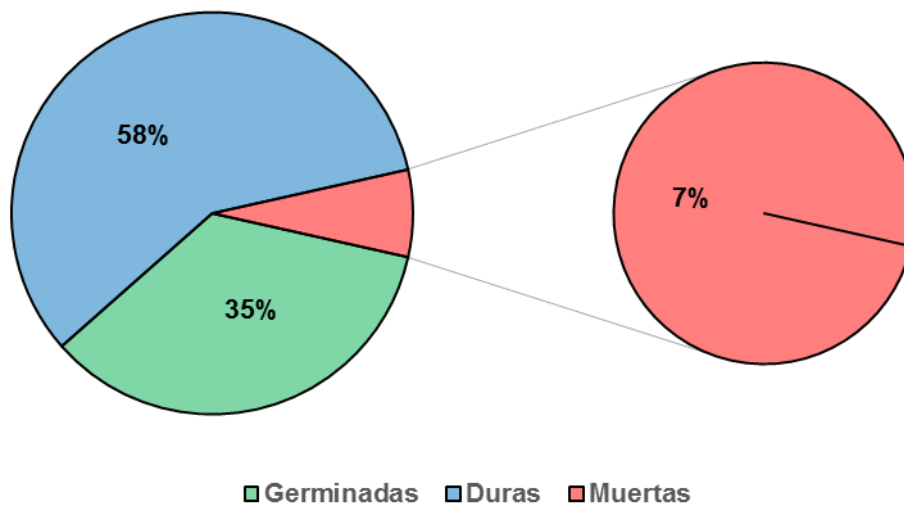
Todos los experimentos se realizaron utilizando un diseño experimental completamente aleatorizado, donde se establecieron cuatro repeticiones para cada tratamiento. En el procesamiento estadístico de los datos se empleó el utilitario *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS para Windows, versión 23.0, Copyright SPSS Inc., 1989-1997). Se realizaron pruebas paramétricas (t-test y ANOVA, Tukey), para una significación del 5%.

4. Resultados y discusión.

4.1. Determinación de la viabilidad y el vigor en las semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

4.1.1. Germinación de las semillas.

La grafica 1 muestra el porcentaje de germinación en semillas de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”. En la misma se observa que a los 24 días germinaron un 35% de las semillas evaluadas, y permanecieron duras un 58%, además de que murieron el 7%. Este resultado, 58% de semillas duras, unido, a solo el 35% de semillas germinadas, demuestra que las semillas de esta especie presentan alguna clase de dormancia que imposibilita o retrasa la germinación de las semillas de esta especie.



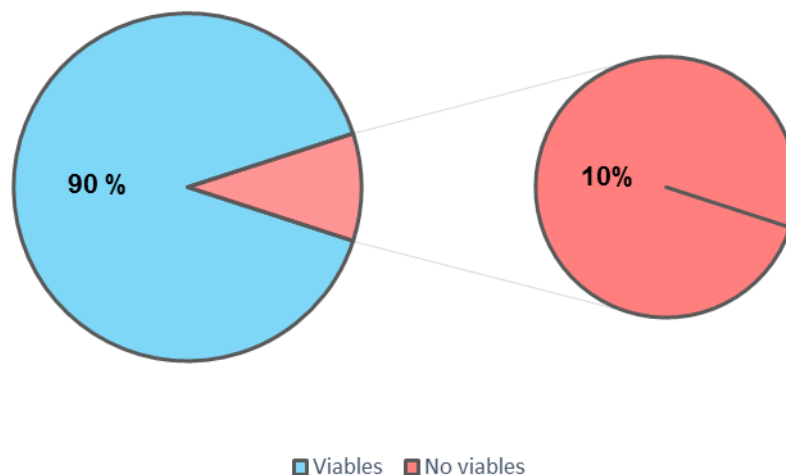
Gráfica 1: Porcentaje de semillas germinadas, duras y muertas de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

Resultados similares a los alcanzados en esta investigación fueron reportados por Funes y Perez (1976) quienes encontraron en esta especie un alto porcentaje de semillas duras, 70%. En este sentido, González y Mendoza (1991) y Skerman *et al.* (1991) reportaron que el establecimiento de esta especie se veía afectada por los bajos porcentajes de germinación que presentaban sus semillas. Sin embargo, Yepes *et al.* (1971) habían descrito que a pesar de que las semillas de esta especie eran pequeñas

y esto podía dificultar su establecimiento, las mismas no presentaban dormancia alguna. Menéndez (1982), por su parte, planteó que en esta especie solo se presentaban hasta un 20% de semillas duras dentro de un lote, por lo que descartó la existencia de dormancia.

4.1.2. Viabilidad de las semillas.

La gráfica 2 presenta el porcentaje de semillas viables en la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”. En la misma se observa que el total de semillas viables alcanzadas en esta investigación fue de un 90%, con diferencias respecto a las semillas no viables donde solo se obtuvo un 10%. Los resultados obtenidos muestran que para esta especie existe un alto porcentaje de viabilidad, esto ligado a los bajos porcentaje de germinación que se obtuvieron en la gráfica 1 demuestran que las semillas de esta especie presentan algún grado de dormancia.

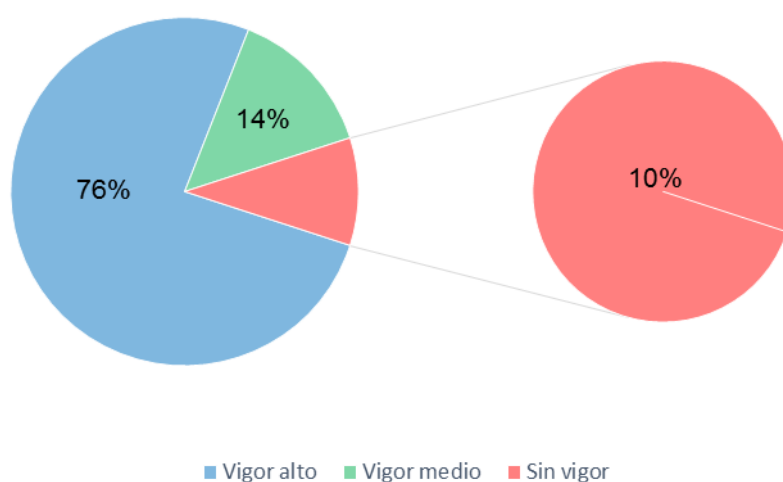


Gráfica 2: Semillas viables y no viables de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”.

Según Ortega (2006), el embrión es uno de los factores indispensables para la germinación, este elemento indica si una semilla está metabólicamente activa o no. Pérez *et al.* (1999), consideran que la viabilidad es la cualidad de una semilla de ser potencialmente capaz de germinar, por lo tanto, una semilla capaz de germinar, es una semilla viva que potencialmente debe general una nueva planta, bajo condiciones externas adecuadas en correspondencia con las potencialidades genotípicas de su especie. En otro sentido, estos mismos autores plantean que una semilla no viable, es una semilla con un embrión muerto e incapaz de producir una nueva planta.

4.1.3. Vigor de las semillas.

En la gráfica 3 se describe el vigor en las semillas de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”. El mayor porcentaje se registra para las semillas con vigor alto con un 75%, con diferencias entre estas y las de vigor medio (15%) y las semillas sin vigor (10%). Estos resultados demuestran que las semillas presentan un alto vigor, esto ligado a los bajos porcentaje de germinación que se obtuvieron en la gráfica 1, demuestran que las semillas de esta especie presentan algún grado de dormancia.



Gráfica 3: Vigor en las semillas de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng cultivar “Semilla Oscura”.

Los resultados alcanzados demuestran que las semillas de esta especie poseen un alto vigor, por lo que están en capacidad, en un gran porcentaje, de generar una nueva planta. La definición de vigor hace referencia a la semilla y al comportamiento inicial de la plántula, para Rajjou *et al.* (2012), las diferencias en el vigor germinativo se pueden manifestar en los procesos bioquímicos y en las reacciones que se desarrollan durante la germinación (reacciones enzimáticas, actividad respiratoria, etc.), en la velocidad y uniformidad de la germinación en condiciones ambientales desfavorables. El grado de vigor, según este colectivo de autores, puede condicionar también el crecimiento de las plantas adultas, su fructificación y producción. Por lo tanto, las semillas vigorosas son potencialmente capaces de tener un comportamiento óptimo en condiciones que no son consideradas como las ideales para la especie a la que pertenece la muestra (Bacchetta *et al.*, 2012).

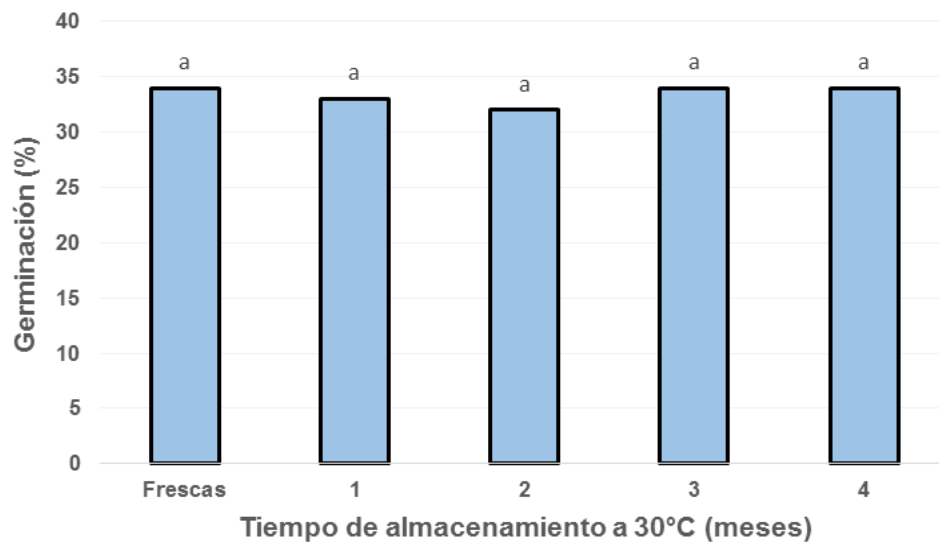
4.2 Determinación de la clase, el tipo y nivel de dormancia presente en las semillas.

Tomando en consideración los criterios aportados por Baskin *et al.* (2006) y referenciando los resultados obtenidos en las etapas anteriores de esta investigación, se hace necesario implementar una serie de experimentos para conocer el tipo de dormancia que presentan las semillas de esta especie. Baskin and Baskin (2015), describieron una “llave dicotómica” para conocer con exactitud, en cualquier especie, que tipo de dormancia presentan sus semillas. Los experimentos que se desarrollarán a continuación nos darán una idea del tipo de dormancia presente en las semillas de *T. labialis*, pero no necesariamente serán conclusivos.

4.2.1 Estratificación caliente (30°C).

Según Baskin *et al.* (2006), el almacenamiento en seco, a la temperatura ambiente o cerca de la misma (estratificación caliente) o la estratificación en frío (0-10°C), por un período de al menos 4 meses, nos dará información para dilucidar el tipo de dormancia presente en las semillas objeto de estudio. En la gráfica 4 se muestra el porcentaje de germinación de las semillas de *T labialis* (L.f) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” almacenadas a una temperatura de 30°C durante 4 meses. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los porcentajes de germinación obtenidos y los mismos oscilaron entre 30 y 35%, por lo que el tratamiento evaluado no fue efectivo para superar el tipo de dormancia existente en las semillas.

Si las semillas presentan una dormancia fisiológica no profunda (PD), puede producirse, durante el almacenamiento (especialmente a temperatura ambiente o cerca de ella) una maduración posterior de las mismas e interrumpirse la dormancia. Por otro lado, en algunas especies, el almacenamiento puede hacer que las semillas entren en dormancia, pero en cambio, si las semillas presentan dormancia física (PY), el secado puede provocar, en algunos casos, que se abra una brecha por donde entre el agua (Baskin *et al.*, 2006).

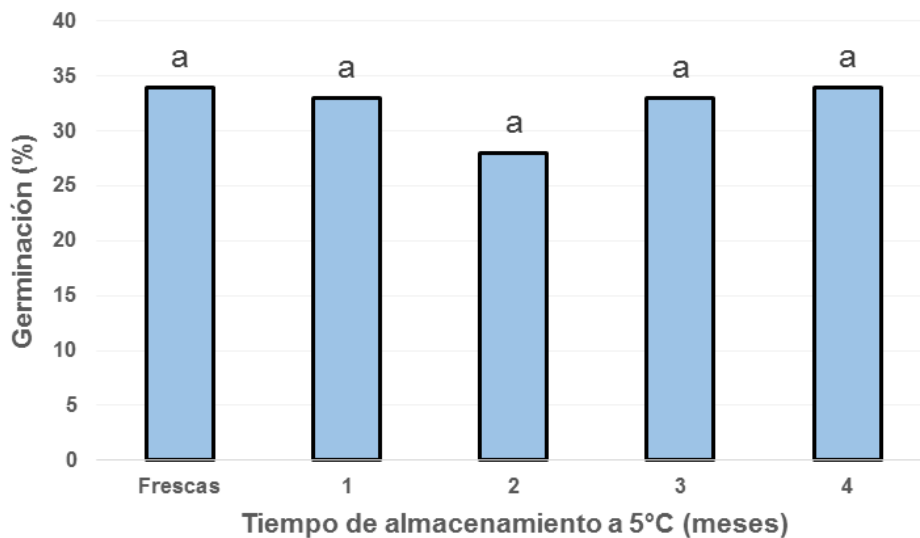


Gráfica 4: Germinación de las semillas de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”, durante cuatro meses de estratificación caliente. Letras desiguales indican diferencias significativas, ANOVA de un factor, Tukey, $P \leq 0.05$, $n=4$. E.E.=2.26.

4.2.2 Estratificación en frío (5°C).

Como se muestra en la gráfica 5, las semillas de *T. labialis* (L.f) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” estuvieron almacenadas a una temperatura de 5°C durante 4 meses. En las mismas no se evidenció un aumento o disminución de los porcentajes de germinación por los efectos de este tratamiento al no existir diferencias estadísticas significativas entre cada uno de los momentos evaluados en el experimento. El tratamiento evaluado en esta fase experimental no fue efectivo para superar el tipo de dormancia existente en las semillas.

Se ha demostrado que las semillas de algunas especies pueden madurar, después de la cosecha, cuando transcurre un período de tiempo de almacenamiento de forma artificial o en la naturaleza, incluso a -20°C. La estratificación en frío puede aumentar la fuerza del embrión, y así permitir que las semillas germinen si presentan dormancia fisiológica (PD) (Baskin *et al.*, 2006). En el caso de semillas recién maduras de *trifolium repens*, con dormancia combinada (PY+PD), fueron capaces de superar la inactividad durante el almacenamiento en frío por unas pocas semanas (Baskin and Baskin, 2015).



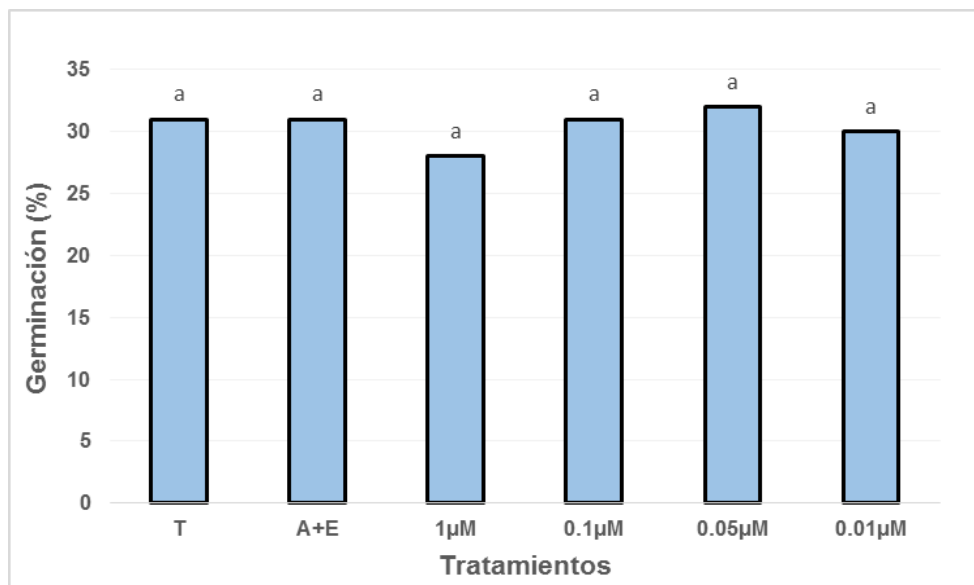
Gráfica 5: Germinación de las semillas de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura”, durante cuatro meses de estratificación fría. Letras desiguales indican diferencias significativas, ANOVA de un factor, Tukey, $P \leq 0.05$, $n=4$. E.E.= 4.69.

4.2.3 Utilización de AG_3 .

Se ha descrito por Baskin and Baskin (2015), que el GA_3 puede favorecer la germinación en semillas con dormancia fisiológica (PD) debido a la presencia de inhibidores de la germinación (especialmente ABA) o en semillas con dormancia combinada (PY+PD). La gráfica 6, muestra la germinación de las semillas de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” cuando fueron sometidas a un tratamiento con diferentes concentraciones de AG_3 . Las diferentes concentraciones utilizadas no promovieron la germinación por lo que no se observaron diferencias significativas entre cada uno de ellos, y los porcentajes se mantuvieron entre el 28 y 32%. Los resultados obtenidos en este experimento demuestran que la acción del AG_3 no promovió un aumento de la germinación, por lo que no existen evidencias que demuestren la presencia de dormancia fisiológica, provocada por un inhibidor de la germinación.

Las semillas con dormancia fisiológica (PD), de acuerdo con Nikolaeva (1969, 1977), presentan un mecanismo de inhibición fisiológica en el embrión que impide la germinación. Además, el bajo potencial de crecimiento, o poder de empuje, del embrión juega un papel importante en el retraso de la germinación. Estas semillas, varían con respecto al mecanismo de inhibición fisiológica, por lo que la respuesta varía a

diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA_3) para romper su dormancia (Nikolaeva, 1977).



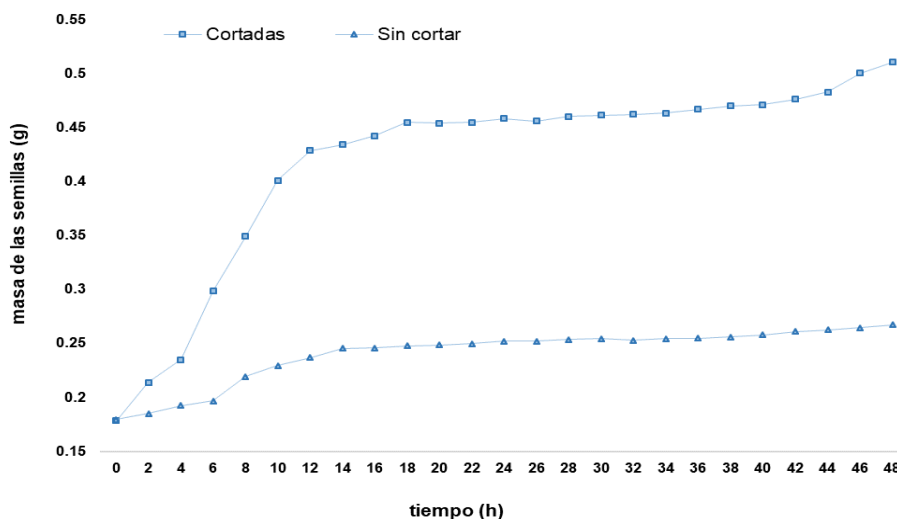
Gráfica 6: Germinación a diferentes concentraciones de AG_3 de semillas *T. labialis* (L.f.) Speng, cultivar "Semilla Oscura". Letras desiguales indican diferencias significativas, ANOVA de un factor, Tukey, $P \leq 0.05$, $n=4$. E.E. = 4.71.

4.2.4 Toma de agua por la semilla (imbibición).

El indicio más exacto de la existencia de dormancia física (PY) significa que la semilla (o fruta) es impermeable al agua. A decir de Angelovici *et al.* (2010), un requisito indispensable para que ocurra la germinación es que la semilla se embeba en agua, por lo tanto, si una semilla no es capaz de absorber agua no puede dar comienzo a la germinación, aunque sea viable. La prueba de imbibición se realiza cuando se trata de verificar el efecto de la cubierta de la semilla en la dormancia, lo importante es hacer experimentos con semillas frescas cortadas y sin cortar, para verificar la entrada de agua (Baskin *et al.*, 2006). No es inusual que un investigador informe que las semillas de una especie presentan una capa de semilla impermeable al agua, dormancia física (PY), cuando, de hecho, este no es el caso. Casi sin excepción en tales estudios, la falta de la absorción de agua no fue documentada comparando imbibición en semillas cortadas y sin cortar (Baskin and Baskin, 2004).

La gráfica 7 muestra la curva de imbibición en semillas cortadas y sin cortar de la especie *T. labialis* (L.f.) Speng cultivar "Semilla Oscura". En la misma se observa que el tratamiento con semillas cortadas tiene un rápido y progresivo aumento de masa en

las primeras 12 horas, esto significa que las semillas se encuentran en la primera fase de la germinación (fase I). A partir de las 12 horas y hasta las 48 horas se observa una fase de meseta donde no hay toma de agua por la semilla esto es característico de la segunda fase de la germinación (fase II) en este momento ocurre un aumento de los procesos metabólicos en la semilla. A partir de las 48 horas se registró, nuevamente, un aumento de la toma de agua y esto está relacionado estrechamente con la emoción de la radícula y la última fase de la germinación (fase III). En las semillas sin cortar no se observa una toma de agua y no hay diferencia entre una fase y otra, esto evidencia que no hay entrada de agua a la semilla.



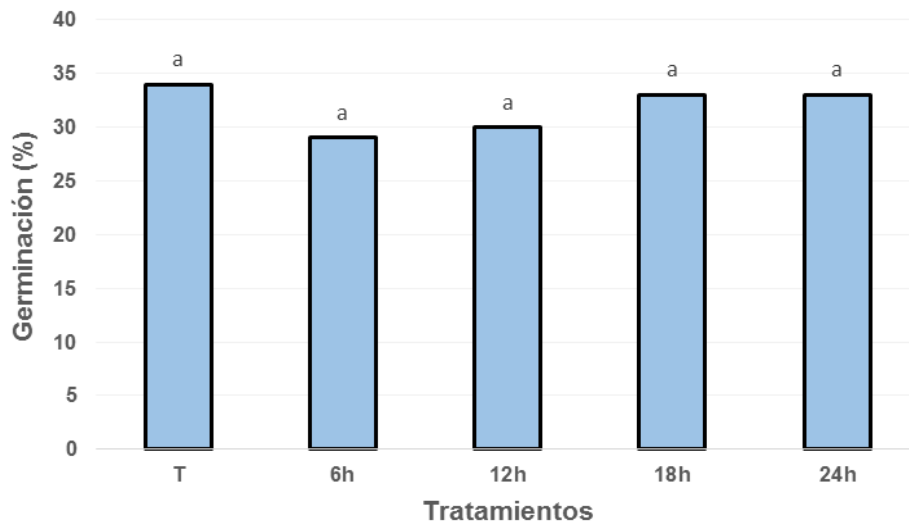
Grafica 7: Curva de imbibición en semillas frescas, cortadas y sin cortar, de la especie *T. labialis* (L.f.) Spreng cultivar “Semilla Oscura”.

Esta comprobación indica que existe un impedimento en la testa de la semilla que no permite la entrada del agua a la misma, esto, combinado con los resultados alcanzados en los experimentos anteriores confirman que las semillas de *T. labialis* presentan dormancia física (PY) o dormancia combinada (PY+PD). Estudios realizados por Vázquez-Yanes y Pérez-García (1976) y Corner (1976) indican que la impermeabilidad al agua en la semilla se debe a la presencia de una capa de células impermeables en empalizada. En la familia *Fabaceae*, se ha reportado la presencia de esta capa en empalizada por Rolston (1978) y Bianco y Kraus (2005).

Esta capa de células en empalizadas pueden impedir la entrada de agua por su disposición a lo largo de la testa de la semilla (fuertemente apiladas) o, porque están impregnados con sustancias químicas repelentes al agua, incluyendo la cutina, lignina, quinonas, materiales pécticos-insolubles, suberina y cera (Rolston, 1978; Werker, 1981, 1997;. Valdovinos-Ponce *et al*, 1994; Sahai y Pal, 1995). En la mayoría de las especies con semillas o frutos impermeables, el embrión no es dormante, sin embargo, hay algunas familias, dentro de estas, la *Fabaceae*, que se presentan semillas impermeables y embriones dormantes, estas condiciones en una sola semilla se le denomina dormancia combinada (PY+PD) (Nikolaeva, 1969). Teniendo en consideración estos criterios es indispensable descartar cualquier variante de dormancia existente en las semillas de *T. labialis* para definir con exactitud la presente en esta especie.

4.2.5 Lavado con abundante agua.

Un lavado con abundante agua, por varios períodos de tiempo, puede promover la germinación en semillas con dormancia física (PY), por la presencia de sustancias hidrofobias (Baskin and Baskin (2014). En la gráfica 8 se muestra la germinación de semillas de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” cuando fueron lavadas con agua por diferentes períodos de tiempo (6, 12, 18 y 24 horas). Los porcentajes de germinación se mantuvieron entre 28 y 34% y no se demostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos. Estos resultados, unidos a los obtenidos en gráficas anteriores, demuestran que en la testa de las semillas de *T. labialis*, no existen indicios de la presencia de algún compuesto químico que inhiba la germinación o actúe como sustancia hidrofóbica, evitando la entrada de agua a la semilla. En este punto podemos afirmar que en estas semillas existe una dormancia física (PY) o dormancia combinada (PY+PD), por lo que es necesario la realización de un último experimento para dilucidar con exactitud.



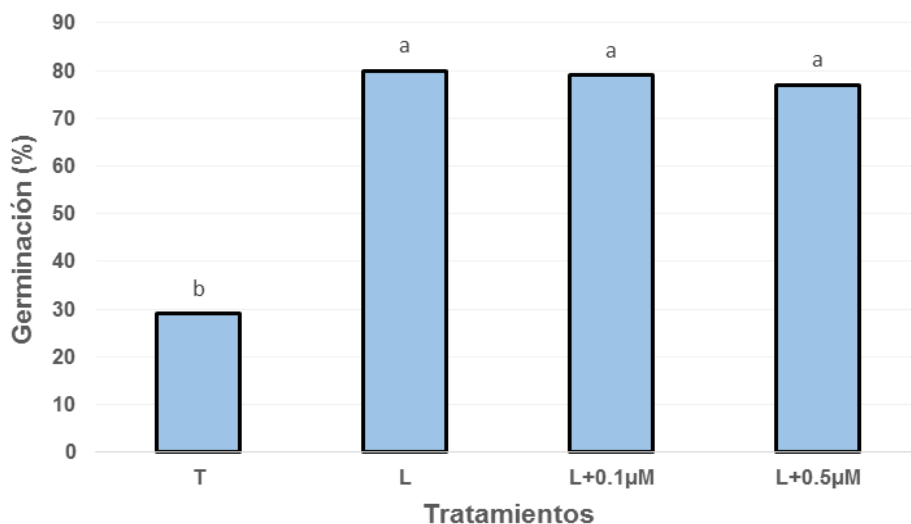
Gráfica 8: Germinación en semilla *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” lavadas con abundante agua. Letras desiguales indican diferencias significativas, ANOVA de un factor, Tukey, $P \leq 0.05$, $n=4$. E.E.= 4.57.

4.2.6 Abrasión + AG₃.

La abrasión o mellado de la semilla, es quizás el método más efectivo para romper la dormancia física (PY) de una semilla y unido a la acción de un promotor de la germinación, puede brindar información indispensable para diferenciar con exactitud el tipo de dormancia en una semilla (Baskin *et al.*, 2006). En el grafica 9 se muestra la germinación de semillas de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar “Semilla Oscura” bajo la combinación de dos tratamientos de escarificación combinados. El tratamiento testigo alcanzó un porcentaje de germinación de 29% y se evidenciaron diferencias significativas notables con respecto al tratamiento de abrasión (80%) y abrasión más AG₃ (79 y 77%). Por otro lado, entre el tratamiento de abrasión y abrasión más AG₃, no se encontraron diferencias significativas, este resultado sugiere que las semillas no presentan dormancia combinada (PY+PD).

Teniendo en consideración los resultados que se alcanzaron en cada uno de los experimentos realizados, se puede decir que no se evidenció, en las semillas de la especie objeto de estudio, la presencia de dormancia fisiológica (PD) causada por acumulación de algún inhibidor de la germinación, tampoco fue evidente la presencia de restricción mecánica a la protuberancia de la radícula, una forma de dormancia fisiológica (PD), ni la presencia de sustancias hidrofóbicas en la testa de la semilla, una

forma de dormancia fisiológica (PD). Para el caso de las semillas de *T. labialis*, los resultados obtenidos demuestran la presencia de dormancia física (PY) y no así de dormancia combinacional (PY+PD).



Gráfica 9: Germinación con tratamientos de lijado y lijado más diferentes concentraciones de AG_3 en las semillas de *T. labialis* (L.f.) Spreng, cultivar "Semilla Oscura". Letras desiguales indican diferencias significativas, ANOVA de un factor, Tukey, $P \leq 0.05$, $n=4$. E.E.= 3.16.

5. Conclusiones

El porcentaje de germinación de las semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng cultivar "Semilla Oscura" es de 35%, con una alta Viabilidad (90%) y Vigor (76%)

La dormancia presente en las semillas de la especie *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng cultivar "Semilla Oscura" se clasifica como dormancia física (PY).

6. Recomendaciones.

Realizar un estudio histológico en las semillas de esta especie para determinar con exactitud la presencia o no de una o más capas de células en empalizadas

Realizar investigaciones con métodos de ruptura de dormancia, diferentes a los utilizados en esta investigación en esta especie, que sean más prácticos y permitan obtener igual o mayor porcentaje de germinación.

7. Bibliografía

- Acharya SN, Stout DG, Brooke B, Thompson, D. 1999. Cultivar and storage effects on germination and hard seed content of *alfalfa*. Can. J. Plant Sci. 79, 201-208.
- Acosta, Y. Hernández L. Mazorra, C. Quintan, N. Zevallos, B. Ceja, I. Serphen, N.Lorenzo, C. Martínez-Montero, M y Fontes, D. 2019. Seed cryostorage enhances subsequent plant productivity in the forage species *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng. CryoLetters 40 (1), 36-44.
- Alagumanivasagam G, Kottai A, Manavalan R. 2012. In vivo Antioxidant and Lipid Peroxidation Effect of Methanolic Extract of whole plant of *Teramnus labialis* (Linn.) in Rat fed with high Fat Diet. International Journal of PharmTech Research. Vol.4, No.3, 1233-1237
- Angelovici, R. Galili, G. Fernie, A. y Fait, A. 2010. "Seed desiccation: a bridge between maturation and germination", en Trends in Plant Science, vol. 15, núm, 4, pp. 211-218
- Bacchetta, G. Orru, M. Mattana, E. Pritchard, H. 2012. Thermal thresholds as predictors of seed dormancy release and germination timing: altitude -related risks from climate warming for the wild grapevine. Annals of botany, vol 110, Issue 8, pages 1651- 1660.
- Barreto, Adelaida; Catasús, L. & Acosta, Zoe. 1995. Gramíneas leguminosas naturales y/o naturalizadas de la provincia de Camagüey. 1er taller internacional sobre colecta y evaluación de recursos fitogenéticos nativos. Sancti Spiritus, Cuba. P. 2.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. Seeds: Ecology, Biogeography, and evolution of Dormancy and Germination, 2nd Edition, Academic Press, New York, USA.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 2005. Seed dormancy in wild flowers. En Flower Seeds: Biology and technology (M. B. McDonald y F. Kwong, Eds.). CABI Wallingford, UK. p.163.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 2015. Classification, Biogeography, and Phylogenetic Relationships of Seed Dormancy. Seed conservation Turning Science into Practice. CHAPTER 28, pp.521.

- Baskin, C.C., Baskin, J.M., Chester, E.W. 2000. Effect of flooding on the annual dormancy cycle and on germination of seeds of the summer annual *Schoenoplectus purshianus* (Cyperaceae). *Aquat. Bot.* 67, 109-116.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M., Van Auken, O.W. 1998. Role of temperature in dormancy break and/or germination of autumn-maturing achenes of eight perennial Asteraceae from Texas, U.S.A. *Plant Species Biol.* 13, 13-20.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14, 1-16.
- Baskin, J.M., Hidayati, S.N., Baskin, C.C., Walck, J.L., Huang, Z.-Y., Chien, C.-T. 2006. Evolutionary considerations of presence of both morphophysiological and physiological seed dormancy in the highly-advanced euasterids II order Dipsacales. *Seed Sci. Res.* 16, 233-242.
- Bewley, D. 1997. "Seed germination and dormancy". *The Plant Cell*, vol. 9, pp.1055-1066.
- Bianco, C.A., Kraus, T.A. 2005. Desarrollo y estructura de la semilla y el fruto de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. (*Fabaceae*). *Phyton* (Buenos Aires 2005, 71-77).
- Camacho, F. 1994. Dormición de semillas: causas y tratamientos. México, DF: Editorial Trillas, p 128.
- CIDICCO. 2004. El uso de coberturas en plantaciones de frutales tropicales. Disponible en: http://www.cidicco.hn/especies_av_cc.htm. Consultado el 20 de noviembre del 2012.
- Clavel, N. 2004. Contribución de la cobertura con leguminosas forrajeras a la conversión a orgánico de un agroecosistema citrícola. Tesis en opción al título de Master en Pastos y Forrajes. 82p.
- Cohn, M.A. 2006. Dormancy: an overview. En: *The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology and Uses* (J.D. Bewley, M. Black y P. Halmer, Eds.). CABI Publishing. Wallingford, UK.
- Corner, E.J.H. 1976. *The Seeds of Dicotyledons*, Volumes I, II. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crews TE, Blesh J, Culman SW, Hayes RC, Jensen ES, Mack MC, Peoples MB, Schipanski ME. 2016. Going where no grains have gone before: From early to mid-succession. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 223, 223-238.
- Crocker, W. 1916. Mechanics of dormancy in seeds. *Amer. J. Bot.* 3, p 99 120.

- Díaz A, Martín PC, Castillo E, Hernández JL. 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, 249-252.
- Doria, T. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* vol. 31.no 1. p 74-81.
- Doyle, J. 2013. Advances in legume systematics in a post-genomic world. Sixth International Legume conference 2013. Johannesburg, South Africa. p 53.
- Evenari, M. 1949. Germination inhibitors. *Bot. Rev.* 15, 153-194.
- Eynard I 1958. Effect of very low temperatures on germination of hard seeds. *Herb. Abst.* 28, 10-27.
- Foley, M.E. y Fennimore, S.A. 1998. Genetic basis for seed dormancy. *SeedSci. Res.* 8:173-182.
- Fontes D, Mazorra C, Pulido L, Cubillas N, Hernández N, Lazo M, Rodríguez LA, Rodríguez W. 2008. *Teramnus labialis*: leguminosa promisorio para la producción diversificada en fincas citrícolas. *Zootecnia Tropical*. 26(3): 351-354.
- Funes F, Perez C. 1976. Agronomical studies on perennial soybean. I. Comparison between *Glycine wightii* and *Teramnus labialis* under cutting and grazing conditions. *Cuban J AgricSci* 10:199–209.
- Geneve, R. L. 2003. Impact of temperature on seed dormancy. *Hort Science*.38:336-341.
- González Y, Mendoza F. 1991. Comportamiento de la germinación de *Teramnus labialis* cv. Semilla clara. II. Tratamientos antes de almacenar. *Pastos y Forrajes (Cuba)*, 14, 227-234.
- Grusak MA. 2008. Genetic Diversity for Seed Mineral Composition in the Wild Legume *Teramnus labialis* .*Plant Foods Hum Nutr* 63:105–109
- Harper, J.L. 1957. The ecological significance of dormancy and its importance in weed control. *Proc. Int. Cong. Crop Prot. (Hamburg)*. 4, 415_420.
- Harper, J.L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- Hilhorst, H.W.M. y Toorop, P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Advances in Agronomy*. 61:111-165.
- Hill, A.W. 1933. The method of germination of seeds enclosed in a stony endocarp. *Ann. Bot.* 47, 873-887.

- Hu XW, Wang YR, Wu YP, Baskin CC. 2009. Role of the lens in controlling water uptake in seeds of two *Fabaceae* (*Papilionoideae*) species treated with sulphuric acid and hot water. *Seed Sci. Res.* 19, 73-80.
- ISTA. 2010. International rules for seed testing, Bassersdorf. International Seed Testing Association.
- Jayasuriya, K.M.G.G., Baskin, J.M., Baskin, C.C. 2008. Cycling of sensitivity to physical dormancy-break in seeds of *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae) and ecological significance. *Ann. Bot.* 101, 341-352.
- Ketring, D.L. 1973. Germination inhibitors. *Seed Sci. Technol.* 1, 305-324.
- Khan, A.A., Samimy, C. 1982. Hormones in relation to primary and secondary seed dormancy. In: Khan, A.A. (Ed.), *The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination*. Elsevier, Amsterdam, pp. 203-241.
- Lang, G.A., 1987. Dormancy: a new universal terminology. *HortScience* 22, 817-820.
- Lang, G.A., Early, J.D., Arroyave, N.J., Darnell, R.L., Martin, G.C., Stutte, G.W. 1985. Dormancy: toward a reduced, universal terminology. *Hort Science* 20, 809-812. pp. 162-178.
- Li, B. y Foley, M.E. 1997. Genetic and molecular control of seed dormancy. *Trends in Plant Science.* 2: 384-389.
- Lyshede, O.B. 1992. Studies on mature seeds of *Cuscuta pedicellata* and *C. campestris* by electron microscopy. *Ann. Bot.* 69, 365-371.
- Martín. 2018. Influencia de la temperatura y la luz en la germinación de semillas de dos especies de leguminosas herbáceas tropicales. Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo, pp 18.
- Martín, G. Suárez, B. Labrada, A. Méndez, M y Pérez, S. 1991. Estudio de la estratificación de las semillas sobre la radio sensibilidad en *Teramnus labialis* cv. Semilla Clara. *Pastos y Forrajes*, Vol. 14, No. 2.
- Matilla, A. 2003. Ecofisiología de la germinación de semillas. En: M. J. Reigosa, N. Mazorra CA, Fontes-Marrero D, Donis LH, Martínez J, Acosta Y, Espinosa I, Lavinge C, Fernandes P, González A. 2016. Technological and socioeconomic diagnosis of the establishment of *Psidiumguajava* L. and *Teramnus labialis* in Ciego de Ávila, Cuba. *Pastos y Forrajes*, Vol. 39, No. 4, 259-264.
- Menéndez, J. 1982. Características botánicas de la familia Leguminosa. Conferencia de Postgrado. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas. Cuba: 12p.

- Monroy-Vázquez M, Peña-Valdivia C, García-Nava J, Solano-Camacho E, Campos H, García-Villanueva E. 2017. Imbibición, viabilidad y vigor de semillas de cuatro especies de *Opuntia* con grado distinto de domesticación. *Agrociencia* 51: 27-42.
- Morrison, D.A., McClay, K., Porter, C., Rish, S. 1998. The role of the lens in controlling heat-induced breakdown of testa-imposed dormancy in native Australian legumes. *Ann. Bot.* 82, 35-40.
- Navia, Y. 2005. Uso de la leguminosa herbácea (*Teramnus labialis*) como cobertura en el cultivo de la guayaba. Tesis presentada en opción al título académico de Master en Ciencias Agrícolas. UNICA. 62p.
- Nikolaeva, M.G. 1969. *Physiology of Deep Dormancy in Seeds*. Izdatel'stvo. Nauka, Leningrad. Translated from Russian by Z. Shapiro, NSF, Washington, DC.
- Nikolaeva, M.G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In: Khan, A.A. (Ed.), *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. North-Holland Publ. Co., Amsterdam, pp. 51-74.
- Nikolaeva, M.G. 2001. Ekologo-fiziologicheskie osobennosti pokoya i prorstaniya semyan (itogi issledovantii zaistekshee stoletie) [Ecological and physiological aspects of seed dormancy and germination (review of investigations for the last century)]. *Botanicheskii Zhurnal* 86, 1-14.
- Ortega, A. 2006. Estudios en fisiología de semillas de *Passiflora rubra* L. en dos épocas de colecta en el Jardín Botánico del Quindío [trabajo de grado], Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera de Biología
- Pedrol y A. Sánchez-Moreiras, Eds. *La Ecofisiología Vegetal. Una ciencia de síntesis*. 29:901-922. Paraninfo S.A., Madrid.
- Perez, S.C.J.G.A, Fanti, S.C., Casali, C.A. 1999. Dormancy break and light quality effects on seed germination of *Peltophorum dubium* Taub. *Rev. Arv. Vicosa-MG.* 23, 131 137.
- Rajjou, L.; M. Duval; K. Gallardo; J. Catusse; J. Bally; C. Job; D. Job. 2012. Seed germination and vigor. *Annual Review of Plant Biology* 63: 507-533.
- Ramirez, C. Hilhorst, H. & E, Hodson. 2008. Viability and seed germination of *Passiflora mollissima* (H.B.K) Bailey according to provenance and fruit ripening stage. *Red Alfa. Lagrotech.* 146-190p. Disponible en: http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/claudia_ramirez.pdf.

- Rodríguez, O. 2005. Efectos de una cobertura de *Teramnus labialis* en una plantación de naranja Valencia late. Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo. UNICA. 56p.
- Rolston, M.P. 1978. Water impermeable seed dormancy. Bot. Rev.44, 365-396.
- Sahai, K., Pal, A. 1995. Studies on seed treatments and histochemical characters of water barrier in seed coat of *Leucaena glauca* (L.) Benth. J. Phytol. Res. 8, 97-100.
- Skerman, P. J.; Cameron, D. G. y Riveros, F. 1991. Leguminosas forrajeras tropicales. Colección FAO, Producción y Protección Vegetal. Italia. Roma. No. 2. 707p.
- Smykal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. Frontiers in Plant Science, 5, 206-219.
- Valdovinos-Ponce, G., Ponce-Salazar, R.M., Marquez-Guzman, J. 1994. Histoquímica del desarrollo de la testa de *Ipomoea aquatica* Forsk. (*Convolvulaceae*) en relación con la permeabilidad al agua. Phytol (Buenos Aires). 55, 107-114.
- Vazquez-Yanes, C., Perez-Garcia, B. 1976. Notas sobre la morfología y la anatomía de la testa de las semillas de *Ochroma lagopus* Sw. Turrialba. 26, 310-311.
- Werker, E. 1981. Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes. Israel J. Bot. 29, 22-44.
- Werker, E. 1997. Seed Anatomy. Gebruder Borntraeger, Berlin.
- Yepes, S. 1971. Observaciones sobre la evaluación de las leguminosas serie1. Ing. Agrónomo. 7. Univ. De La Habana.