

# Comportamiento germinativo de las semillas de *Crotalaria incana* L. (Leguminosae) en relación a la permeabilidad de la cubierta seminal

Carreras, M.E.; A.L. Pascualides y A.M. Planchuelo

## RESUMEN

Se analizó el comportamiento de las semillas de *Crotalaria incana* L. para los procesos de imbibición y germinación. Se realizaron tratamientos según un arreglo factorial de 5 niveles de escarificación y 3 niveles de temperatura de cámaras de germinación para 3 grupos de semillas clasificadas por el color del tegumento seminal. Los resultados fueron evaluados mediante ANAVA y contrastes ortogonales. Las semillas verde-oliváceas y negro-vináceas mostraron un alto nivel de impermeabilidad, lo que contribuye a la longevidad y permanencia de las semillas en el suelo. Las semillas castañas en cambio germinaron sin tratamiento de escarificación, lo cual permitiría la reproducción de la planta en forma inmediata después de la dehiscencia del fruto. La diferente capacidad de imbibición y germinación según el color de tegumento, se interpretó como una estrategia de supervivencia de la especie en un medio natural. Se determinaron los tratamientos de escarificación más adecuados para favorecer la germinación de semillas impermeables.

**Palabras clave:** *Crotalaria incana*, Leguminosae, cubierta seminal, permeabilidad, imbibición, germinación.

Carreras, M. E., A. L. Pascualides and A. M. Planchuelo, 2001. Germination responses of *Crotalaria incana* L. (Leguminosae) in relation to seed coat permeability. Agriscientia XVIII: 45-50

## SUMMARY

The germination of *Crotalaria incana* L. was studied in relation to seed coat color. The experiments had a factorial design of 5 scarification methods and 3 germination chamber temperatures, for 3 seed coat color groups. The results were evaluated using ANOVA and orthogonal contrast. The seed coat impermeability of the olive-green and vinous-black seeds contributed to the permanence of ungerminated seeds in the soil. On the other hand, the seed coat permeability of the

Fecha de recepción: 26/06/01; fecha de aceptación: 06/12/01.

chestnut-brown seeds allowed its germination immediately after fruit dehiscence. The different imbibition and germination responses, by each seed group, were interpreted as a survival strategy in a wild environment. The best scarification method for hard seeds is recommended.

**Key words:** *Crotalaria incana*, Leguminosae, seed coat, permeability, imbibition, germination.

M. E. Carreras, A. L. Pascualides y A. M. Planchuelo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, CC 509, 5000 Córdoba, Argentina . E-mail: mcarrera@agro.uncor.edu

## INTRODUCCIÓN

El género *Crotalaria*, perteneciente a la familia de las leguminosas, incluye cerca de 600 especies tropicales y subtropicales que crecen principalmente en el hemisferio sur (Bernal, 1986). *Crotalaria incana* es frecuente en toda la parte subtropical baja de Argentina (Burkart, 1952), siendo la provincia de Córdoba el límite sur de su distribución natural (Planchuelo, 1999). Si bien es citada como maleza invasora de cultivos estivales (Petetin y Molinari, 1992; Marzocca, 1993, 1994) y posible planta tóxica en estado de fructificación (Ragonese y Milano, 1984), también es señalada como planta medicinal por las propiedades antisépticas de las infusiones de sus hojas (Brandao, 1993; Marzocca, 1997). En el norte argentino esta leguminosa se comporta como pionera, y se ha documentado que las plantas tiernas son ramoneadas por caballos, al constituir el único forraje disponible en cauces de ríos secos (Planchuelo, observación personal, 1999). Ensayos experimentales conducidos por la Cátedra de Forrajes y Manejo de Pasturas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba, la identifican como una forrajera de mediana calidad si se la compara con las leguminosas tradicionalmente cultivadas, aunque puede resultar muy útil en consociaciones con gramíneas, para lograr dietas más equilibradas (Coraglio, comunicación personal, 2000). Esta especie nativa, de características polimórficas (Carreras *et al.*, 1997), forma parte de un plan de investigación multidisciplinario para evaluar su potencial de cultivo en áreas agrícolas marginales y degradadas.

### Antecedentes sobre las características de las semillas de *Crotalaria* y su capacidad de germinación

Las semillas de *Crotalaria*, al igual que las de muchas leguminosas, presentan tegumentos impermeables que constituyen una barrera para la germinación

(Saha & Takahasi, 1981; Antonioli *et al.*, 1993). Estas características influyen en la calidad de las semillas y en el comportamiento de las poblaciones en ambientes naturales (Harper, 1977), siendo uno de los mecanismos de supervivencia más efectivos ante la ausencia temporal de producción de semillas (Cocks *et al.*, 1980). Por otro lado, el patrón de germinación es un elemento clave dentro de las estrategias de perpetuación de las especies (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989) y de la vulnerabilidad de su conservación (Yang *et al.*, 1999).

La forma, el color y la superficie del episperma de las semillas de *Crotalaria* spp. son consideradas por Bisby (1970) caracteres morfológicos importantes que contribuyen a reafirmar la clasificación taxonómica propuesta por Polhill (1968). Al estudiar la estructura superficial y anatómica de la cubierta seminal en 8 especies de este género, Buth y Narayan (1986) encuentran que los colores del episperma, en la mayoría de las especies, varía entre el amarillo y el marrón, mientras que *C. incana* presenta múltiples colores, lo que fue constatado por Carreras *et al.* (1997). En una evaluación sobre la calidad de semillas de *C. zanzibarica* Benth., Rodrigues Vidal *et al.* (1990) afirman que las semillas que se encuentran sueltas dentro de frutos totalmente maduros son de color oscuro casi negro, mientras que las de frutos también considerados maduros pero que aún no se han desprendido de la placenta, presentan tonalidades que varían entre el verde amarillento y el marrón claro. Egley (1979) relaciona el color de las semillas de *C. spectabilis* Roth con el grado de maduración de éstas, la permeabilidad de su cubierta y la capacidad de germinar. Para *C. sericea* Retz., Saha y Takahashi (1981) relacionan los grados de dormición con el color, tamaño y arquitectura de la semilla, seleccionando los mejores métodos de escarificación física y química a través de patrones de imbibición. Por otro lado, las semillas de *C. pallida* Aitón y *C. zanzibarica* sin tratamiento de escarificación poseen un porcentaje de germinación

que no supera el 28,5 % mientras que con distintos métodos de escarificación el porcentaje de germinación se eleva hasta un 97 % según los tratamientos (Kuo and Chen, 1992).

Este trabajo es una contribución al conocimiento del ciclo biológico de *C. incana*, mediante el estudio del comportamiento germinativo de semillas provenientes de frutos maduros ya sea para lograr su introducción como mejoradora de suelos y forraje de emergencia en sistemas productivos silvo-pastoriles o para establecer su control si se difunde como maleza de cultivos estivales. El objetivo fue investigar si los diferentes grados de coloración de las semillas de *C. incana* están relacionados con la permeabilidad de la cubierta seminal. Se planteó, por lo tanto, evaluar la capacidad de imbibición como desencadenante del proceso de germinación, y determinar los tratamientos de escarificación más adecuados para favorecer la germinación de las semillas impermeables.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material analizado pertenece a una población natural de *C. incana* de la zona de Argüello (Córdoba, Argentina), a 31° 19' S, 64° 13' W y 474 m.s.m., recolectado en abril de 1996, cuyas muestras se encuentran depositadas en el herbario ACOR (Planchuelo 1130), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

Se trabajó con frutos maduros que presentaban las semillas desprendidas de la placenta, siguiendo el criterio de Rodrigues Vidal *et al.* (1990). Las semillas se clasificaron en 3 grupos de acuerdo al color predominante de la cubierta seminal, siguiendo la escala de colores de Stearn (1966). Las categorías de trabajo fueron: semillas castañas, semillas verde-oliváceas y semillas negro-vináceas. Cada grupo de semillas fue sometido a un conjunto de tratamientos que surgieron de un arreglo factorial de los factores tipo de escarificación y temperatura de las cámaras de germinación.

El factor escarificación contó con 5 niveles: un testigo, 2 tipos de escarificación mecánica (perforado y lijado de la cubierta seminal) y 2 formas de escarificación por inmersión en agua (a 20 °C durante 24 hs y a 70°C durante 10 minutos) como propuso Egley (1979) para *C. spectabilis*. El factor temperatura de las cámaras de germinación contó con 3 niveles: temperatura constante de 20 °C; temperatura constante de 30 °C, ambas con 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad y temperaturas alternadas de 20 °C con 16 horas de oscuridad y 30 °C con 8 horas de luz (ISTA, 1999).

Se realizaron pruebas de germinación para cada grupo de semillas y cada tratamiento, siguiendo un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones, con los factores tipo de escarificación y temperatura anidados en los grupos de color. En todos los casos se sembraron 20 semillas (unidad experimental) en cajas de Petri, de 9 cm de diámetro y 1,2 cm de profundidad, sobre papel de germinación previamente humedecido con agua destilada. Cada semilla fue medida e identificada con un número para poder determinar los cambios de volumen durante el proceso de imbibición. Cada 24 horas, el papel de filtro fue rehidratado y las cajas de Petri fueron redistribuidas dentro de la cámara de germinación para asegurar que no se produzcan efectos sistemáticos por el lugar que ocupaban.

Se consideró el porcentaje de semillas embebidas y el porcentaje de semillas germinadas, tomando como indicador de imbibición el aumento de volumen que fue registrado cuando el largo aumentó el doble del tamaño original, y como indicador de germinación, la aparición del extremo apical de la radícula (2 mm) a través de la cubierta seminal. Las semillas germinadas fueron removidas después de cada recuento y el ensayo de germinación fue conducido hasta el día 10 (ISTA, 1999), momento en que se dio por finalizado el ensayo, al considerar que todas las semillas con capacidad germinativa habían germinado.

Los datos de imbibición y germinación para cada grupo de color de semillas, considerando todos los tratamientos, se evaluaron estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANAVA) y se compararon las medias con la prueba de Tukey (nivel de significancia 0,01), utilizando el paquete estadístico InfoStat(2001). Por otro lado, se realizaron contrastes ortogonales, es decir comparaciones independientes de medias, y se determinó el valor de probabilidad ( $p$ ).

## RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los valores promedios y el error estándar de los porcentajes de imbibición y germinación para cada tratamiento y grupo de color de tegumento seminal.

En el tratamiento testigo sólo las semillas castañas embebieron en un porcentaje que supera el 60 %, mientras que las verde-oliváceas alcanzaron el 16 % y las negro-vináceas no superaron el 5 %. Los resultados de tratamientos de escarificación por inmersión en agua no variaron significativamente de los valores testigos, en cambio, los dos tratamientos de escarificación mecánica elevaron los porcen-

**Tabla 1.** Porcentajes medios y error estándar de imbibición y de germinación de semillas de *C. incana* según color de cubierta seminal y tratamiento de escarificación.

Coloración Tratamiento	Porcentajes de Imbibición			Porcentajes de Germinación		
	Castañas	Verde- oliváceas	Negro- vináceas	Castañas	Verde- oliváceas	Negro- vináceas
Testigo	66,1 ± 7,2 b	16,7 ± 10,0 a	4,4 ± 1,3 a	22,8 ± 3,7 b	5,6 ± 1,5 a	2,8 ± 1,5 a
Agua 20 °C	61,1 ± 11,5 b	7,2 ± 2,2 a	5,6 ± 1,5 a	12,2 ± 2,6 ab	4,4 ± 2,3 a	2,8 ± 1,2 a
Agua 70 °C	70,6 ± 9,4 b	11,1 ± 9,3 a	6,1 ± 2,0 a	21,1 ± 4,4 b	2,8 ± 1,7 a	4,4 ± 1,0 a
Lijado	98,3 ± 1,2 c	100,0 ± 0,0 c	98,3 ± 1,7 c	78,9 ± 7,0 c	96,7 ± 1,7 d	95,6 ± 2,0 d
Perforado	97,2 ± 1,7 c	98,9 ± 1,1 c	97,2 ± 2,2 c	37,8 ± 6,2 bc	98,9 ± 1,1 d	95,6 ± 2,7 d

Letras iguales, obtenidas por prueba de Tukey, indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias involucradas ( $\alpha=0,01$ ).

**Tabla 2.** Resultados de los contrastes ortogonales entre los tipos de escarificación para cada grupo de semillas, con su valor de probabilidad ( $p$ ).

Grupo de semillas	Contrastes ortogonales	Valor p
Castañas (Porcentaje de imbibición)	Testigo vs. Inmersión	0,9758
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,9160
Castañas (Porcentaje de germinación)	Testigo vs. Inmersión	0,3240
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,0000
Verde- oliváceas (Porcentaje de imbibición)	Testigo vs. Inmersión	0,3274
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,8990
Verde-oliváceas (Porcentaje de germinación)	Testigo vs. Inmersión	0,3560
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,3610
Negro-vináceas (Porcentaje de imbibición)	Testigo vs. Inmersión	0,5274
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,6610
Negro-vináceas (Porcentaje de germinación)	Testigo vs. Inmersión	0,7030
	Testigo vs. Mecánicos	0,0000
	Inmersión vs. Mecánicos	0,0000
	Lijado vs. Perforado	0,9800

Nivel de significación  $\alpha=0,01$

tajes de imbibición de todos los grupos de color de semillas hasta un 100 % (Tabla 1).

Por otro lado, las semillas verde-oliváceas y negro-vináceas presentan porcentajes de germinación similares a los de imbibición, en cambio, la germinación en las semillas castañas disminuyó entre un 60 y un 80 % respecto a las embebidas, excepto en el tratamiento mecánico de lijado donde la disminución en la germinación fue sólo del 20 % (Tabla 1).

El factor temperatura de la cámara de germinación no afectó significativamente el porcentaje de imbibición ( $p=0.3318$ ) ni el porcentaje de germinación ( $p=0.2251$ ), mientras que, el factor escarificación determinó diferencias significativas tanto para el porcentaje de imbibición ( $p=0.0229$ ) como para el porcentaje de germinación ( $p=0.0375$ ), en cada grupo de color.

El análisis de los contrastes ortogonales de los tipos de escarificación para cada grupo de semillas y para todos los tratamientos de temperatura de cámara (Tabla 2), muestra que las mayores diferencias, tanto para el proceso de imbibición como para el proceso de germinación, se presentan entre los métodos de escarificación mecánica versus los testigos ( $p<0,01$ ) y entre los primeros versus los tratamientos de escarificación por inmersión en agua ( $p<0,01$ ). Por otro lado, se pone en evidencia que el comportamiento de las semillas tratadas con agua no presenta diferencias significativas con los tratamientos testigos ( $p>0,01$ ), tanto en imbibición como en germinación. Los dos tipos de escarificación mecánica difieren entre sí sólo en la germinación de las semillas castañas.

## DISCUSIÓN

Las semillas de *C. incana* presentan diferentes colores de tegumentos que, además de ser un carácter morfológico y taxonómico importante (Bisby, 1970; Polhill, 1968), está relacionado con el grado de dureza del tegumento seminal, coincidiendo con lo descrito por Antonioli *et al.* (1993), Egley (1979) y Saha & Takahasi (1981) para el género *Crotalaria*. Las semillas negro-vináceas presentan tegumentos impermeables, dado que sólo las semillas escarificadas mecánicamente lograron la imbibición y en consecuencia la germinación. Las semillas verde-oliváceas se comportan de manera similar a las negro-vináceas, aunque con porcentajes más elevados para el proceso de imbibición, en las muestras testigos y en el tratamiento de escarificación con agua a 70 °C; este resultado coincide con lo demostrado por Kuo & Chen (1992) en *C. spectabilis*. Por otro lado, las semillas castañas presentan cubiertas

seminales con cierto grado de permeabilidad, dado que permiten la entrada de agua por imbibición aún en las muestras que no fueron escarificadas. Si bien en este grupo de semillas la escarificación mecánica favorece la imbibición, disminuye el porcentaje de germinación, especialmente en la escarificación mecánica por perforación, debido probablemente a daños causados por este procedimiento.

Los resultados confirman que los distintos colores de semillas que se encuentran en frutos maduros y su diferente capacidad de imbibición y germinación son estrategias de supervivencia de la planta en su medio natural (Harper, 1977; Cocks *et al.*, 1980). La impermeabilidad de los tegumentos, que presentan las semillas verde-oliváceas y negro-vináceas, contribuye a la longevidad de la semilla, a la permanencia de la especie en el banco de semillas del suelo y a la regulación de la germinación. Por otro lado, la facilidad de germinación sin necesidad de escarificación de las semillas castañas, permitiría la reproducción de la planta en forma inmediata después de la dehiscencia del fruto y apenas se den las condiciones de humedad suficiente para que la semilla pueda embeber y germinar. Esto se puede interpretar como un caso de germinación escalonada que contribuye a la consolidación de la población, permitiendo plantas en distintas etapas de desarrollo que prolongan el ciclo total de la misma (Mayer & Pojarkoff-Mayber, 1989; Yang *et al.*, 1999).

Como conclusión se puede afirmar que, para obtener buenos niveles de germinación de semillas de *C. incana*, es necesario realizar, como práctica de manejo, algún tipo de escarificación mecánica, siendo el lijado el procedimiento más rápido, sencillo y seguro.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue subsidiado por CONICOR y SECYT (Universidad Nacional de Córdoba). Los autores agradecen a los Ings. Agrs. Laura González y Fernando Casanoves por el apoyo y las sugerencias brindadas en el análisis estadístico, al Ing. Agr. (M. Sc.) Roberto Zanvettor por su colaboración en distintas etapas del trabajo y al Laboratorio de Análisis de Semillas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por facilitar las instalaciones, materiales y cámaras de germinación.

## BIBLIOGRAFÍA

Antonioli, Z. I.; R. A. Bellé; E. Nunes Giracca and P. S. Thomas, 1993. Dormancy break of *Crotalaria* seeds. *Ciën-*

- cía Rural, Santa María, 23 (2): 165-168.
- Bernal, H. Y., 1986. *Crotalaria* (Fabaceae - Faboideae) Monografía N° 4. En P. Pinto and P. M. Ruiz, Flora de Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, pp. 1-119.
- Bisby, F. A., 1970. The evaluation and selection of characters in Angiosperm taxonomy: an example from *Crotalaria*. *New Phytol.* 69: 1149-1160.
- Brandao, M., 1993. Plantas Daninhas. Novo Enfoque: Comestíveis e Medicinais. Ciencia das Plantas Daninhas. 1(2): 3-10. Londrina.
- Buth, G. M. and A. Narayan, 1986. Seed and seed coat anatomy of some members of *Crotalaria* (Papilionaceae). *J. Indian Bot. Soc.* 66: 317-324.
- Burkart, A., 1952. Las Leguminosas Argentinas Silvestres y Cultivadas. 2<sup>da</sup> ed. Acme Agency, Buenos Aires, pp. 326-329.
- Carreras, M. E., E. Fuentes y A. L. Pascualides, 1997. Evaluación del valor forrajero y contenido de fibra de *Crotalaria incana* L. (Leguminosae). Resúmenes II Congreso Internacional de Etnobotánica. Mérida, Yucatán, México.
- Cocks, P. S., M. J. Mathison and E. J. Crawford, 1980. From wild plants to pasture cultivars: Annual medics and subterranean clover in Southern Australia. In, R. J. Summerfield and A. H. Bunting, *Advances in Legume Science*. Ed. Royal Botanic Gardens, Kew, 1: 569-596.
- Egley, G. H., 1979. Seed coat impermeability and germination of showy *Crotalaria* (*Crotalaria spectabilis*) seeds. *Weed Science* 27 (4): 355-361.
- Harper, J. L., 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, New York.
- InfoStat, 2001. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.
- International Seed Testing Association. 1999. International Rules for Seed Testing. *Seed Sc. and Technol.* Vol 27, suppl.
- Kuo, W. H. J. and P. H. Chen, 1992. Effects of dormancy breaking methods on the germination and permeability of the hard seeds of *Crotalaria pallida* and *C. zanzibarica*. *Memoirs of the College of Agriculture National Taiwan University*. Taipei, Taiwan 32 (4): 346-357.
- Marzocca, A., 1993. *Manual de Malezas*. 4ta ed. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 684pp.
- Marzocca, A., 1994. *Guía Descriptiva de Malezas del Cono Sur*. INTA, Buenos Aires, 295 pp.
- Marzocca, A., 1997. *Vademécum de Malezas Medicinales de la Argentina, Indígenas y Exóticas*. Ed. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires, 363 pp.
- Mayer, A. M. and A. Pojarkoff-Mayber, 1989. *The Germination of Seeds*. Pergamon Press, New York, 192 pp.
- Petetin, C. A. y E. P. Molinari, 1992. Reconocimiento de las malezas de la República Argentina. Clave para su determinación en base al color de las flores. Ed. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires, 231 pp.
- Planchuelo, A. M., 1999. *Crotalaria*. En Zuloaga, F. & O. Morrone (Edit.) *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina*. Missouri Botanical Garden, U.S.A., pp. 668-669.
- Polhill, R. M., 1968. Miscellaneous notes on African species of *Crotalaria* L: II. *Kew Bulletin* 22 (2): 169-348.
- Ragonese, A. E. y V. A. Milano, 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la Flora Argentina. 2da ed. En Dimitri, M. J., *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Ed. Acme, Buenos Aires, 2(1): 1-413.
- Rodrigues Vidal, M. R., W. Nunes Vidal and R. M. A. Musury, 1990. Germinação e desenvolvimento da plântula de *Crotalaria zanzibarica* BENTH. *Revista Ceres* 37 (211): 185-198.
- Saha, P. K. and N. Takahashi, 1981. Seed dormancy and water uptake in *Crotalaria sericea*. *Retz. Ann. Bot.* 47: 423-425.
- Stearn, W. T., 1966. *Botanical Latin*. Hafner Publishing Company, New York, 566 pp.
- Yang, J. J. Lovett-Doust and L. Lovett-Doust, 1999. Seed germination patterns in green dragon (*Arisaema dracontium*, Araceae). *American J. Botany* 86(8): 1160-1167.