

## ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE VIABILIDAD EN SEMILLAS DE ESPECIES FORRAJERAS

### STANDARIZATION OF LABORATORY METHODS FOR THE ANALYSIS OF VIABILITY IN SEEDS OF FORAGE SPECIES

Juan M. Rojo<sup>1</sup>, José O. Sierra<sup>2</sup>, Amparo Gómez<sup>3</sup>, Luis F. Restrepo<sup>4</sup>

#### RESUMEN

Se aplicaron diferentes métodos de escarificación a las semillas de las siguientes especies forrajeras tropicales: guinea (*Panicum maximum* Jacq. c.v. Tanzania), kudzú tropical, (*Pueraria phaseoloides* Roxb. Benth.), lotus (*Lotus corniculatus* L.), matarratón (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud.), angleton (*Dichanthium aristatum* Poiret. C. E. Hubb.), pasto amargo (*Brachiaria decumbens* Stapf.) y carimagua (*Andropogon gayanus* Kunth.), con el objetivo de saber cuál era el mejor método para analizar su viabilidad. Las especies de semillas forrajeras tropicales se sometieron a escarificación mecánica, escarificación química y escarificación física; para verificar la viabilidad del embrión, se utilizó la tinción con ácido 2, 3, 5 trifeniltetrazolio y la prueba de germinación.

Las pruebas se realizaron en el vivero y en el Laboratorio de Sanidad Agropecuaria del convenio Secretaría de Agricultura - Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. El diseño experimental utilizado para evaluar la viabilidad de las semillas al nivel de significancia de ( $P < 0,05$ ), fue diseño de bloques al azar, donde las fuentes de variación fueron tratamientos y especies.

Los mejores tratamientos para escarificar semillas de *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., fueron la escarificación con lija (100%) y la escarificación con hule (73%), que permitieron obtener los mayores porcentajes de viabilidad en las semillas analizadas. El mejor tratamiento de escarificación para semillas de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud., y *Lotus corniculatus* L., que permitió obtener mayores porcentajes de viabilidad, fue el agua a temperatura ambiente por 16 horas de inmersión, con 90% y 89% respectivamente.

El tratamiento con lija fue el mejor para escarificar semillas de *Brachiaria decumbens* Stapf., y *Panicum maximum* Jacq. cv Tanzania, con 88% y 84% de viabilidad respectivamente. Para escarificar semillas de *Dichanthium aristatum* (Poiret.) C. E. Hubb. y *Andropogon gayanus* Kunth., resultó indiferente utilizar lija o hule, no se encontraron diferencias significativas estadísticamente ( $P > 0,05$ ), mostrando buenos resultados con ambos métodos.

**Palabras clave:** Escarificación, germinación, imbibición, latencia, semilla pura, tetrazolio.

<sup>1</sup>Zootecnista, Esp, MSc (c). Profesor de cátedra de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

<sup>2</sup>Zootecnista, MSc. Asesor técnico en nuevos enfoques hacia una ganadería más limpia y sostenible.

<sup>3</sup>Bact, Secretaria de Agricultura de Antioquia.

<sup>4</sup>Estadístico. Profesor Titular de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. E-mail: Jmrb12000@12000.yahoo.es

## ABSTRACT

Different methods of scarification were applied to seeds of the following tropical forages, Guinea grass (*Panicum maximum* Jaq.) c.v. Tanzania, tropical kudzu (*Pueraria phaseoloides* Roxb. Benth.), birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.), mother of cocoa (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud.), bluestem (*Dichantium aristatum* Poiret. C. E. Hubb.), bitter grass (*Brachiaria decumbens* Stapf.), and gamba grass (*Andropogon gayanus* Kunth.), for the purpose of identifying the best method to assess the feasibility. The species of tropical forage seeds were subjected to mechanical, chemical and physical scarification, and in order to verify the viability of the embryo, staining with acid 2, 3, 5 triphenyltetrazolium and the germination test were used.

The tests were conducted in the plant nursery and in the Agricultural Health Laboratory, under the agreement between the Agriculture Secretary and the Faculty of Agricultural Sciences at the University of Antioquia. The experimental design that we used to evaluate the viability of the seeds to a level of significance of ( $P < 0,05$ ) was the random blocks design, where the source of variation was species and treatment.

The best treatments to scarify seeds of *Pueraria phaseoloides* (Roxb) Benth, were the scarification with sandpaper (100%) and the scarification with oilcloth (73%), which allowed us to obtain the highest percentages of viability in the analyzed seeds. The best scarification treatment for seeds of *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud and *Lotus corniculatus* L., that permitted to obtain higher percentages of viability, was the water at room temperature for 16 hours of immersion, with 90% and 89% respectively.

The treatment with sandpaper was the best to scarify seeds of *Brachiaria decumbens* Stapf., and *Panicum maximum* Jaq. c.v. Tanzania with 88% and 84% respectively. For scarifying seeds of *Dichantium aristatum* (Poiret.) C. E. Hubb. y *Andropogon gayanus* Kunth., it was indifferent to use sandpaper or oilcloth; significant differences were not found statistically ( $P < 0,05$ ), but both methods showed good results.

**Key words:** Germination, imbibition, latency, pure seed, scarification, tetrazolio

---

## INTRODUCCIÓN

Es de mucha importancia trabajar los procesos de establecimiento de pasturas y de cultivos forrajeros, con semillas de buena calidad, certificadas; las cuales puedan garantizar en parte el éxito de estos procesos complejos. Es un aspecto que cobra relevancia, al incurrir en altos costos, de allí el valor que tiene el desarrollo de metodologías para verificar la calidad de las semillas que se emplean para el mejoramiento de las pasturas y de los cultivos forrajeros. Actualmente, se cuenta con ciertas dificultades en los métodos de laboratorio para el análisis de viabilidad de ciertos tipos de semillas de especies forrajeras tropicales, de tal manera que estos brinden confianza y seguridad a los distribuidores de semilla y técnicos del sector que demanden este servicio sobre calidad de semillas. Estas dificultades tienen que ver con los métodos utilizados para romper o retirar las cubiertas de las semillas mediante procesos de escarificación, con el fin de favorecer la absorción del ácido cloruro 2, 3, 5 trifeniltetrazolio durante la prueba de viabilidad. Además, la producción de semillas de gramíneas y leguminosas de buena calidad en el país es deficiente, lo que no permite obtener plantas normales y vigorosas, de establecimiento rápido y praderas uni-

formes, para el logro de altos rendimientos en la parte biológica y económica, se ha convertido en uno de los factores más limitantes en el desarrollo de la ganadería colombiana y de América Latina tropical.

Gran parte de la producción de semillas en este medio se hace en forma empírica, lo cual consiste en dejar semillar las praderas que normalmente se utilizan para pastoreo y cosechar a mano o a máquina las panículas maduras, recogiendo del suelo la semilla madura que ha caído naturalmente, la cual se seca y se empaca sin ningún tipo de procesamiento. La semilla que cae al suelo es casi siempre recogida por el sistema de barrido o succión con aspiradora, lo que hace difícil la labor de limpieza durante su beneficio y procesamiento; por consiguiente la mayor parte de la semilla que se comercializa es de baja calidad, principalmente en los aspectos de pureza física y viabilidad. Razones por las cuales se tiene dependencia casi completa de la importación de semillas de calidad; en el caso de especies de trópico bajo, estas se importan casi en su totalidad del Brasil y, en el caso de especies de trópico alto, de países de zona templada (Bernal, 2008).

La viabilidad de las semillas es el periodo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Una semilla viable es aquella que presen-

ta viable los tejidos necesarios para dar una plántula normal (Hernández, 2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Centro de Sanidad Agropecuaria, ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, localizada en la Ciudadela de Robledo, municipio de Medellín, departamento de Antioquia, al occidente de la ciudad y a una altura de 1450 msnm, humedad relativa del 70% y temperatura promedio de 23°C. Se utilizó un gabinete de temperatura controlada (Velp Científica FTC 90E), estereomicroscopio (Ura Technic), cajas trilladoras y raspadoras, ácido sulfúrico al 50% de concentración, agua a 55°C y temperatura ambiente, ácido 2, 3, 5 trifeniltetrazolio, bandejas de icopor, turba canadiense, bolsas plásticas negras y transparentes y semillas de especies forrajeras tropicales.

### Tipo de estudio

Con este trabajo se pretendió estandarizar el mejor método de escarificación, de tal manera que no comprometiera la integridad física del embrión y permitiera retirar así las cubiertas externas de la semilla de acuerdo con el tipo y especie de ésta, para que pudiera darse el fenómeno de imbibición y respiración.

### Selección de la semilla

Para el estudio, se eligieron muestras de lotes de semilla que se comercializan en el mercado en la ciudad de Medellín, según su disponibilidad y demanda actual. Se trabajó con cuatro especies de gramíneas, dos con semillas limpias: brachiaria (*Brachiaria decumbens*, Stapf), guinea (*Panicum máximum*, Jacq) C.V. tanzania y dos con semillas brozosas: angleton (*Dichanthium aristatum*, Poiret, C.E., Hubb), y carimagua (*Andropogon gayanus*, Kunth), y tres especies de leguminosas que fueron: kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*, Roxb, Benth), lotus (*Lotus corniculatus*) y matarratón (*Gliricidia sepium*, Jacq, Steud). Las muestras de trabajo para estas semillas se seleccionaron a través del método del cuarteo. De la muestra seleccionada se obtuvieron cuatro submuestras de 25 semillas escarificadas, cada una para las especies limpias, y las semillas escarificadas obtenidas de cuatro submuestras de un gramo para cada una de las especies brozosas para las

pruebas de viabilidad en ácido 2, 3, 5 trifeniltetrazolio, según recomendación de la ISTA (International Seed Testing Association) (Sierra, 2002).

### Calidad de semilla

Al evaluar las semillas en el laboratorio, generalmente se determina: la pureza física, la pureza genética y la viabilidad. La pureza física se obtiene mediante la determinación del porcentaje, en peso, de semillas puras en una muestra mediante la separación de: semillas puras de la semilla analizada, semillas de otras especies y otros materiales (piedras, arena, tierra y otras basuras). Correa (1997) afirma que hay otras pruebas como la resistencia a las bajas temperaturas, análisis de peso, color de las semillas, vigor, etc., que ayudan a definir la calidad de una semilla.

El vigor *per se*, se refleja en la rapidez y fuerza de germinación, en crecimiento y en la uniformidad de las plántulas. No tiene en cuenta el daño mecánico, ni semillas con corto período de reposo después de la cosecha. Pone el énfasis en la semilla misma y no en los factores adversos del medio, es una expresión directa de las condiciones físicas y fisiológicas de las semillas (Correa, 1997). La ISTA (2005) define el vigor como las propiedades de la semilla que determinan el potencial para una emergencia rápida y uniforme, bajo un amplio rango de condiciones de campo.

### Latencia

La dormancia o latencia es un fenómeno que se presenta normalmente en todos los grupos de gramíneas y en muchos de leguminosas que han sido domesticadas en las pasturas tropicales (Bernal, 1976). Una semilla latente es una semilla que esta viva, pero que no germina bajo ciertas condiciones favorables donde si lo hacen otras semillas no latentes de la misma especie (Sierra, 2002).

Según Hernández (2010), dentro de los tipos de latencia, dormancia, dormición o de vida latente, se tiene una dormancia física, ésta se manifiesta cuando queda una cantidad de semillas cuyo volumen y

dureza no se modifican al final de la prueba de germinación; dormancia química, se debe a que la germinación es bloqueada por sustancias inhibitoras del crecimiento que se encuentran en la testa de la semilla; dormancia mecánica, es causada por la dureza de la cubierta y el endospermo, cuyos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión; dormancia fisiológica, se debe al bloqueo metabólico en el embrión por la baja permeabilidad de la cubierta a los gases, baja actividad enzimática, producción de coenzimas y ácidos nucleicos y por último, está la dormancia morfológica, que es ocasionada por la presencia de embriones rudimentarios, embriones que no se han desarrollado completamente.

Para romper la latencia, se utilizan métodos mecánicos, químicos y físicos, de acuerdo con el tipo de la semilla. La mayoría de éstos, están encaminados a superar la dureza de ésta y consisten en producir alteración de la integridad física del pericarpio a través de: uso de solventes como agua a temperatura ambiente o caliente, solventes orgánicos que reblandecen los tegumentos, presionando las semillas entre dos superficies duras causando fracturas en el pericarpio (trilla), escarificación contra una superficie dura y rugosa; generalmente papel lija (raspado) que debilita los tegumentos y disminuye la impermeabilidad, escarificación con ácido sulfúrico concentrado por períodos variables según la especie, entre 10 y 60 minutos para la disolución de la lema y la palea de la cariósida por el ácido, que además agrieta, debilita y adelgaza los tegumentos destruyendo la impermeabilidad (Marroquín, 1997b).

Algunas ventajas de la latencia, es que le permite a la planta superar condiciones adversas que se pueden presentar durante algunos períodos, como sequías prolongadas, distribuye la germinación en el tiempo y evita que el embrión germine aún estando en el campo. Entre las desventajas de la latencia está la desuniformidad en la germinación, el no germinar a tiempo, lo cual interfiere en las labores de siembra, aparición de plántulas esporádicas en el campo y problemas en el análisis de semillas (Marroquín, 1997a).

### Proceso de escarificación

**Escarificación mecánica.** Consiste en raspar, partir o perforar las cubiertas de la semilla, ya sea en forma manual o con artefactos, es un método efectivo y sencillo, pero después quedan las semillas expuestas al ataque

de patógenos (Hernández, 2010). Para este proceso se utilizaron cajas recubiertas con hule (trilladoras) y con lija (raspadoras). Las siete especies de forrajeras tropicales fueron sometidas a este proceso.

**Escarificación química.** El ácido sulfúrico es uno de los métodos químicos más usados en especies forrajeras tropicales, ya que, disuelve, resquebraja y debilita las cubiertas de la semilla, lo que permite la imbibición y el intercambio gaseoso, facilita la división y expansión de la plúmula y la radícula del embrión (Hernández, 2010). Se sometieron las semillas de las leguminosas forrajeras al contacto con ácido sulfúrico a una concentración del 50%, agitando continuamente, durante diferentes tiempos (10, 15, 20 y 25 minutos), luego se enjuagaban con abundante agua a temperatura ambiente. A este procedimiento fueron sometidas únicamente las semillas de las tres leguminosas.

**Escarificación con agua.** El objetivo de remojar las semillas en agua es modificar las cubiertas duras, remover los inhibidores de germinación, suavizar y reducir el tiempo de germinación (Sierra, 2002). Las semillas de las leguminosas forrajeras, se sumergieron en agua caliente a temperatura constante de 55°C, durante diferentes tiempos (0, 10, 20 y 30 minutos), cero minutos consistió en introducir y retirar inmediatamente las semillas y en agua a temperatura ambiente por períodos de 8 y 16 horas de inmersión.

### Prueba de tetrazolio

La viabilidad es una prueba bioquímica de aplicación rápida, cuyo resultado valora la viabilidad de la semilla (Hernández, 2010), o de una prueba de germinación en forma lenta, ambas pruebas son complementarias, puesto que una semilla que está viva o viable puede no germinar debido a la presencia de letargo o latencia, que es una característica muy común en las gramíneas tropicales (Sierra, 2002).

Para esta prueba, se tomaron cuatro repeticiones de 25 semillas de cada gramínea limpia y de cada leguminosa previamente escarificadas por métodos mecánicos, químicos y físicos. En semillas brozosas, se hizo para las semillas obtenidas al someter a trilla o raspado cuatro submuestras de un gramo, cada una obtenida de la muestra seleccionada por cuarteo.

Una vez escarificadas las semillas, la viabilidad se determinó con ácido 2, 3, 5 trifeniltetrazolio al 0,5%

(0,5 g/100 ml). El tiempo de incubación de las semillas en la solución fue de aproximadamente 24 horas, en completa oscuridad y a 26°C, en un gabinete de temperatura controlada (Velp Scientifica FTC 90E). El tetrazolio durante este período es absorbido por las células, donde es transformado enzimáticamente en un compuesto insoluble de color rojo. El tejido que está vivo se tiñe de rojo, el tejido que está muerto queda incoloro. Luego se cortaron las semillas longitudinalmente a través del embrión y mediante la observación con un estereomicroscopio (Ura Technic), con iluminación incidente y transmitida, con resolución 10X, se clasificaron en viables y no viables, según hayan teñido o no su embrión (adaptado de Choy-Sánchez *et al.*, 1999). Esta prueba indica en forma rápida si una semilla está viva o muerta (Sierra, 2002).

### Porcentaje de germinación

La germinación es la reactivación de los procesos fisiológicos del embrión, mediante una serie de reacciones metabólicas que sufren las semillas después de los procesos de imbibición (absorción de agua o etapa física de la germinación) (Copeland y McDonald, 1992). Se determinó utilizando como medio la turba canadiense (material orgánico especial utilizado para este tipo de pruebas), en bandejas de icopor, recubiertas por bolsas plásticas para evitar la deshidratación excesiva del medio, durante un período de 28 días, realizando evaluaciones cada siete días según la recomendación de la ISTA. El ensayo se ubicó en el vivero del Centro de Sanidad Agropecuaria, a temperatura ambiente.

Las semillas para estas pruebas se escogieron por el método del cuarteo, utilizando cuatro repeticiones de 100 semillas cada una para todas las especies estudiadas. Inicialmente, se aplicó agua destilada con un producto antifúngico (benlate) a razón de 0,5 g/L para humedecer los medios donde fueron colocadas las semillas, con el fin de preservarlas durante el ensayo. Se emplearon bolsas negras para cubrir las bandejas durante las 48 horas iniciales, para estimular la emergencia de la radícula y la plúmula del embrión; luego se cambió a bolsas transparentes para permitir el paso de la luz y favorecer el desarrollo del aparato fotosintético y para evitar la deshidratación del medio (Sierra, 2002). Los resultados se expresaron en porcentaje de semillas germinadas normales.

En el caso de las semillas brozosas, se pesó un gramo del material botánico tal como se consigue en el

mercado y se realizó el mismo procedimiento de las semillas limpias; en este último caso los resultados se expresaron en semillas germinables por gramo.

### Análisis Estadístico

Se aplicó el diseño de estructuras denominado bloques al azar, donde el factor bloque estuvo constituido por los diferentes tipos de semillas a las que se les aplicaron los tratamientos. Se convalidaron los supuestos estadísticos relacionados con el análisis de varianza (ANAVA), debiéndose transformar las variables debido a que se ajustaban a una distribución de Poisson. La transformación utilizada para los datos de conteo fue raíz cuadrada más 0,5; se efectuaron pruebas de comparación entre efectos promedios de tratamientos y entre especies mediante el método de Tukey, con 95% de confiabilidad.

**Diseño experimental.** Diseño en bloques al azar, diferentes repeticiones; donde los factores de variación fueron tratamiento y especie. El modelo aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  : Es la respuesta esperada en la unidad experimental sometida al  $i$ -ésimo tratamiento y en el  $j$ -ésimo bloque.

$\mu$  : Es la media general.

$\tau_i$  : Es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$\beta_j$  : Es el efecto del  $j$ -ésimo bloque.

$\varepsilon_{ij}$  : Es el error experimental del tratamiento  $i$  en el bloque  $j$ .

Los tratamientos de escarificación que se emplearon fueron:

- Escarificación mecánica: Se utilizó cajas recubiertas con hule (trilladoras) y con lija (raspadoras).
- Escarificación química: Se empleó ácido sulfúrico al 50% durante 10, 15, 20 y 25 minutos.
- Escarificación física: Se empleó agua a temperatura ambiente durante 8 y 16 horas, y agua temperatura constante de 55°C durante 0, 10, 20 y 30 minutos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la escarificación de las tres leguminosas, el tratamiento con hule fue más efectivo que la escarificación con agua a 55°C en los tiempos de 0, 10 y 20 minutos, mostrando diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentaje de viabilidad de las semillas de leguminosas, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.

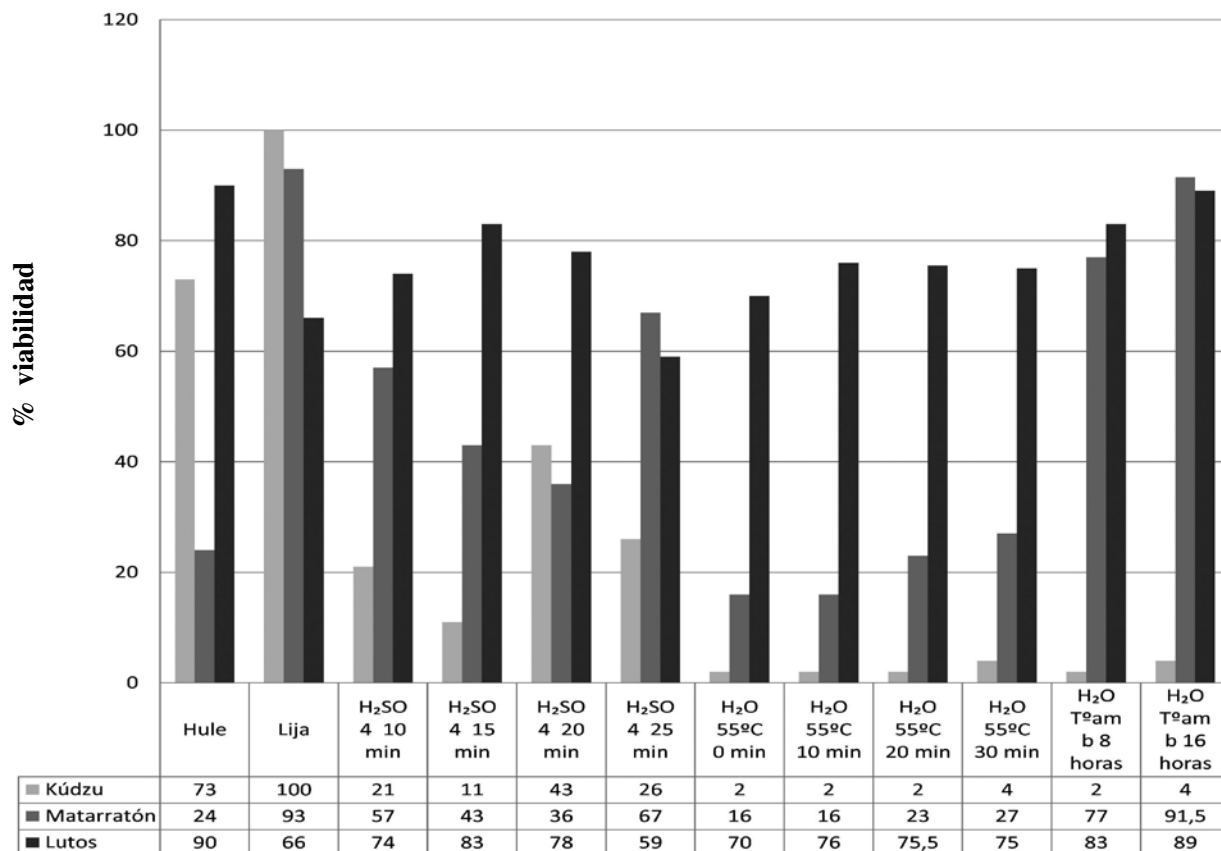
Especie	Tratamiento	Repeticiones (%)				% Promedio de *
<b>Kudzú</b>	Escarificación mecánica con hule	64	80	60	88	73,0 a,c, e, g,i, k
	Escarificación mecánica con lija	10	10	10	100	100,0 a, c, e, g, i,
	Escarificación química H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 50%					
	10 minutos	24	20	16	24	21,0 a, d, e, g, i,
	15 minutos	16	16	4	8	11,0 a, d, e, g, i,
	20 minutos	32	40	60	40	43,0a, c, e, g, i, k
	25 mminutos	28	24	32	20	26,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a 55°C					
	0 minutos	4	0	0	4	2,0 b, d, f, h, j, l
	10 minutos	0	8	0	0	2,0 b, d, e, h, i, l
	20 minutos	0	0	4	4	2,0 b, d, e, g, i, k
	30 minutos	4	0	4	8	4,0 a, b, e, g, i, k
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a T°					
	8 horas	0	4	4	0	2,0 a, d, e, g, i, k
	16 horas	0	4	4	8	4,0 a, c, e, g, i, k
	Promedio por especie					24,17 a
<b>Matarratón</b>	Escarificación mecánica con hule	20	24	32	20	23,0 a,c, e, g,i, k
	Escarificación mecánica con lija	92	10	84	96	93,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación química H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 50%					
	10 minutos	64	48	68	48	57,0 a, d, e, g, i, k
	15 minutos	32	48	56	36	43,0 a, d, e, g, i, k
	20 minutos	52	36	36	20	36,0 a, c, e, g, i, k
	25 mminutos	52	72	64	80	67,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a 55°C					
	0 minutos	16	12	16	20	16,0 b, d, f, h, j, l
	10 minutos	28	20	8	8	16,0 b, d, e, h, i, l
	20 minutos	28	24	12	28	17,0 b, d, e, g, i, k
	30 minutos	24	32	16	36	27,0 a, d, e, g, i,
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a T° ambiente					
	8 horas	84	72	72	80	77,0 a, d, e, g, i, k
	16 horas	86	84	10	96	90,0 a, c, e, g, i, k
	Promedio por especie					46,75 b
<b>Lotus</b>	Escarificación mecánica con hule	84	96	80	100	90,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación mecánica con lija	64	80	72	48	66,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación química H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 50%					
	10 minutos	76	76	72	72	74,0a, d, e, g, i, k
	15 minutos	92	76	88	76	83,0 a, d, e, g, i, k
	20 minutos	72	80	84	76	78,0 a, c, e, g, i, k,
	25 mminutos	56	64	40	76	59,0 a, c, e, g, i, k
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a 55°C					
	0 minutos	88	72	60	60	65,0 b, d, f, h, j,l
	10 minutos	88	64	76	76	76,0 b, d, e, h, i, l
	20 minutos	86	84	60	72	76,0 b, d, e, g, i, k
	30 minutos	76	72	80	72	75,0 a, d, e, g, i, k
	Escarificación física con H <sub>2</sub> O a T° ambiente					
	8 horas	80	88	88	76	83,0 a, d, e, g, i, k
	16 horas	84	88	88	96	89,0 a, c, e, g, i, k
	Promedio por especie					76,16 c

\* Promedios con idéntica letra no son diferentes estadísticamente ( $P < 0,05$ )

De igual manera, la escarificación con lija fue más efectiva para la escarificación de las tres leguminosas que el ácido sulfúrico al 50 % en los tiempos de inmersión de 10 y 15 minutos, más efectivo que el agua a 55°C en todos los tiempos de inmersión y más efectivo que el agua a temperatura ambiente en el tiempo de inmersión de ocho horas, mostrando diferencias estadísticas significativas ( $P<0,05$ ) (Tabla 1). La escarificación con ácido sulfúrico al 50% durante 10 minutos, resultó ser significativa-

mente ( $P<0,05$ ) más efectiva para las tres leguminosas que el tratamiento con agua a 55°C por cero minutos (sumergiendo y retirando rápidamente las semillas) (Tabla 1).

El tratamiento con ácido sulfúrico al 50% durante 20 minutos resultó significativamente ( $P<0,05$ ) más efectivo que el tratamiento con agua a 55°C por 0 y 10 minutos (Tabla 1).



**Figura 1. Porcentaje de viabilidad de las semillas de leguminosas, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.**

El tratamiento con ácido sulfúrico al 50% por 25 minutos, resultó significativamente ( $P<0,05$ ) más efectivo que el tratamiento con agua a 55°C durante cero minutos, en las tres leguminosas evaluadas (Tabla 1).

El tratamiento con agua a temperatura ambiente por 16 horas, fue significativamente ( $P<0,05$ ) más efectivo que el agua a 55°C por 0 y 10 minutos, para escarificar las semillas de las tres leguminosas.

Es de anotar que existieron diferencias significativas ( $P<0,05$ ), para la viabilidad entre las tres especies de leguminosas estudiadas, con valores promedios de 24,17% para *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth de 76,16% para *Lotus corniculatus* L., y de 46,75 % para *Gliricidia sepium* Lam de Wit. Entre *Gliricidia sepium*

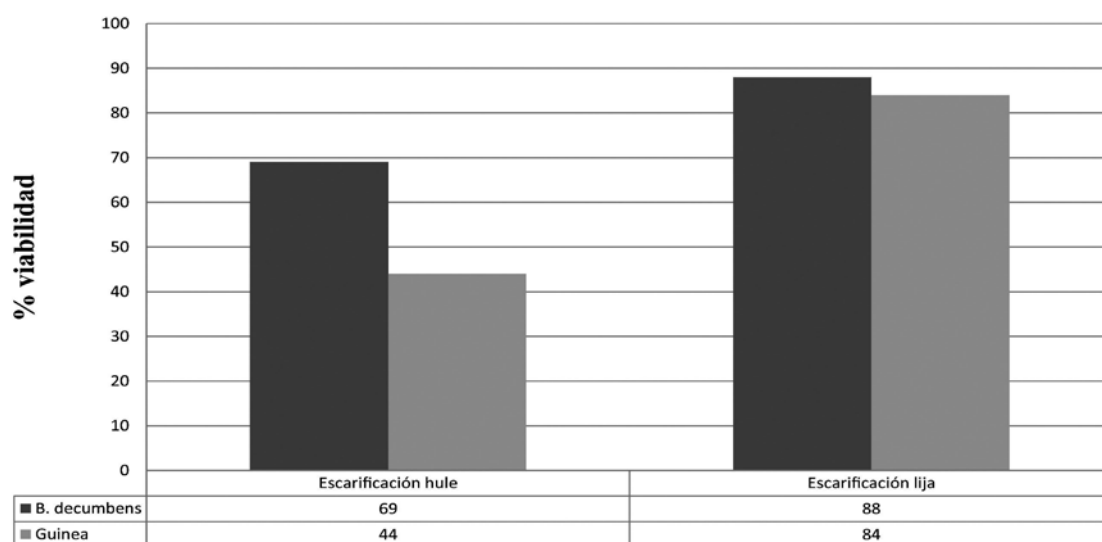
(Jacq.) Steud. y *Lotus pedunculatus* L. se presentaron diferencias significativas ( $P<0,05$ ), en viabilidad con respecto de *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., a su vez *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud., presentó diferencia significativa ( $P<0,05$ ) en su viabilidad con respecto de *Lotus corniculatus* L (Tabla 1).

En el trabajo con las gramíneas limpias *Brachiaria decumbens* Stapf. y *Panicum maximum* Jacq. c.v. Tanzania, respondieron mejor a la escarificación con lija, registrando mayores valores de viabilidad; 88% y 84% respectivamente, corroborado con la escarificación en hule, cuyos valores fueron de 69% y 44% respectivamente, con diferencia estadísticamente significativa ( $P<0,05$ ), (Tabla 2).

**Tabla 2. Porcentaje de viabilidad de las semillas de gramíneas limpias, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.**

Especie	Tratamiento	Repeticiones (%)				% Promedio de * viabilidad por especie
Tanzania	Escarificación mecánica con hule	44	40	48	44	44,0 b
	Escarificación mecánica con lija	80	84	88	84	84,0 a
	Promedio					64,0
B. Decumbens	Escarificación mecánica con hule	64	60	72	80	69,0 b
	Escarificación mecánica con lija	92	84	88	92	88,0 a
	Promedio					78,5

\* Promedios con idéntica letra no son diferentes estadísticamente (P<0,05)



**Figura 2. Porcentaje de viabilidad de las semillas de gramíneas limpias, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.**

En cuanto a las gramíneas brozosas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre los tratamientos con hule y lija, además de los bajos resultados en la prueba de viabilidad para las dos especies estudiadas *Andropogon gayanus* Kunth., y *Dichanthium aristatum* (Poiret) C. E. Hubb, lo cual indica

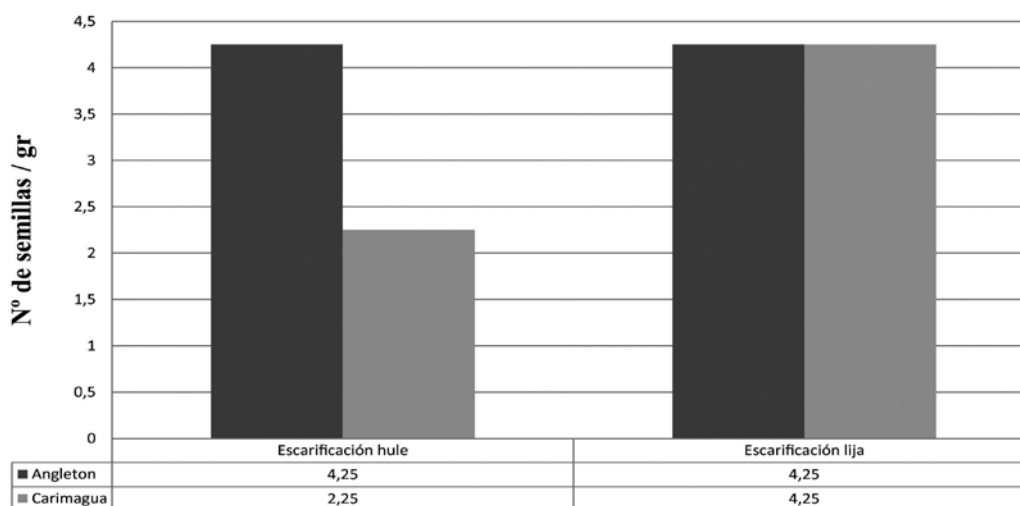
que es indiferente utilizar cualquiera de los métodos de escarificación mecánica (Tabla 3). Sin embargo, se observó que el número de semillas partidas y embriones destruidos era menor cuando se escarificaba con hule, lo cual permite sugerir que la escarificación de gramíneas brozosas se debe realizar por este sistema.

**Tabla 3. Porcentaje de viabilidad de las semillas de gramíneas brozosas, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.**

Especie	Tratamiento	Repeticiones por gr de semilla C/U				Semillas viables por gramo *
Angletón	Escarificación mecánica con hule	5	3	4	5	4,25 a
	Escarificación mecánica con lija	1	7	4	5	4,25 a
	Promedio					4,25
Carimagua	Escarificación mecánica con hule	2	2	2	3	2,25 a
	Escarificación mecánica con lija	6	5	2	4	4,25 a
	Promedio					3,25

\* Promedios con idéntica letra no son diferentes estadísticamente (P<0,05)





**Figura 3. Porcentaje de viabilidad de las semillas de gramíneas brozosas, sometidas a los diferentes tratamientos de escarificación.**

Los resultados de la germinación de todas las semillas de las especies forrajeras utilizadas en el ensayo, tuvieron significancia estadística ( $P < 0,05$ ). La germinación de las gramíneas limpias (*Brachiaria decumbens* Stapf. y *Panicum maximum* Jacq. c.v. Tanzania), en conjunto

fue más alta con un 34,25% con respecto de la germinación de las gramíneas brozosas (*Dichanthium aristatum* Poiret, C. E. Hubb, *Andropogon gayanus*, Kunth), que fue de un 5% (Tabla 4).

**Tabla 4. Porcentaje de germinación de las semillas de forrajeras tropicales.**

Familia Gramíneas	Especie	Repeticiones (%)				% Promedio* de germinación
<b>Brozosas</b>	Angletón	10	12	5	3	7,5 b,d,f,h,j
	Carimagua	3	3	1	3	2,5 b,d,f,h,j
	Promedio					5,0
<b>Limpias</b>	B. decumbens	42	49	37	35	40,75 a,c,e,h,j
	Tanzania	25	34	28	24	27,75 a,c,e,h,j
	Promedio					34,25
<b>Leguminosas</b>	Matarratón	91	94	92	92	92,25 a,c,e,g,i
	Kudzú	22	33	15	35	26,25 a,d,e,h,j
	Lotus	83	89	85	91	87,0 a,c,e,g,i
	Promedio					68,5

\* Promedios con idéntica letra no son diferentes estadísticamente ( $P < 0,05$ )

Se encontró diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre el valor alcanzado para la germinación de *Panicum maximum* Jacq. c.v. Tanzania (27,75%), con los valores alcanzados por *Dichanthium aristatum* (Poiret.) C. E. Hubb. (7,75%) y *Andropogon gayanus* Kunth. con (2,5%). Y entre los valores alcanzados por *Brachiaria decumbens* Stapf. (40,75%) con respecto de *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. (26,25%) y a *Dichanthium aristatum* (Poiret) C. E. Hubb., y *Andropogon gayanus*, Kunth.

También se encontró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., y *Andropogon gayanus* Kunth., y *Dichanthium aristatum* (Poiret.) C. E. Hubb.

Entre los valores alcanzados por *Lotus corniculatus* L. (87,0%) y *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. (92,25%), no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ), pero si hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre cada una de éstas con las demás especies (Tabla 4).

El *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., escarificada en medio acuoso (agua fría, agua caliente a 55°C y ácido sulfúrico al 50% durante diferentes tiempos de inmersión de las semillas, no presentó resultados satisfactorios comparados con los obtenidos en la escarificación mecánica (hule y lija). Además, se tienen reportes de ensayos realizados en Brasil en esta misma especie; en los cuales se utilizó agua caliente a 80 y 90°C y ácido sulfúrico concentrado para romper los tegumentos de esta semilla que son particularmente duros e impermeables al agua, esto se pudo constatar en este trabajo puesto que muchas semillas después de recibir los tratamientos permanecieron duras y no presentaron imbibición después de 24 horas. Las semillas de esta especie presentaron también problemas de germinación, debido posiblemente a la existencia de dormancia que es muy notoria en esta leguminosa forrajera (Souza *et al.*, 1998). Además, las semillas que se colocaron a germinar no tuvieron ningún tratamiento previo a la prueba, por esto el porcentaje tan bajo de germinación (26,25%), que no corresponde a la viabilidad obtenida a través de la escarificación con hule (73%) y con lija (100%). Con estos resultados se puede afirmar que, el mejor método de escarificación que permite remover los duros tegumentos de estas semillas fue la escarificación mecánica (hule y lija).

En cuanto a *Gliricidia sepium* (Jacq, Steud) y *Lotus corniculatus* L., tuvieron valores altos en viabilidad para los diferentes tratamientos de escarificación, sin embargo, el método más efectivo, sencillo y barato para escarificar este tipo de semillas es el agua a temperatura ambiente por 8 y 16 horas, según los resultados de este ensayo (Tabla 1). La germinación de estas dos especies fue muy buena y pareja; esto se pudo observar con la velocidad de germinación en la primera semana del estudio, en las cuales se presentaron los mayores porcentajes de germinación; esto se debió a la poca dureza y a la buena calidad de semillas que se encontraron en el mercado en ese momento.

Las semillas de las gramíneas brozosas tienen un tratamiento particular para las pruebas de viabilidad (tetrazolio y germinación) en el laboratorio, debido a la gran cantidad de basura, tierra, piedras y otros

materiales que tienen éstas, indicando que fue posiblemente barrida o succionada del suelo y de esta manera la consiguen los ganaderos para su utilización a nivel de finca; por esta razón, se hace prudente realizar estas pruebas pesando un gramo del material tal como se consigue en el mercado y expresar luego los resultados en semillas por gramo para las pruebas de viabilidad. El número promedio de semillas por gramo encontrada en este trabajo para las muestras utilizadas de *Andropogon gayanus* Kunth., fue de 37 semillas y para *Dichanthium aristatum* (Poiret.) C. E. Hubb., de 41 semillas después del proceso de escarificación mecánica. En su producción, esta clase de semillas no sufre ningún tipo de procesamiento, sólo se seca al sol, en gavillas demasiado grandes en las cuales las temperaturas alcanzadas son altas (a veces superiores a los 42°C), que pueden afectar la calidad debido al deterioro de la semilla o del embrión (Bernal, 1994). A esto se debió presumiblemente los resultados tan bajos, tanto en la prueba del tetrazolio como en la de germinación. Estas semillas que han sido afectadas, se reconocen por la aparición de manchas oscuras alrededor del eje embrionario (Bernal, 1994); esta mancha se observó en la mayoría de las semillas de las dos especies brozosas que fueron estudiadas.

Para las gramíneas limpias *Brachiara decumbens* Stapf. y *Panicum maximum* Jacq. c.v. Tanzania, por el tamaño y la morfología de dichas semillas el método de escarificación que ofrece los mejores resultados para la prueba del tetrazolio fue la escarificación mecánica con lija (88% y 84%), respectivamente. La prueba de germinación de estas especies, arrojó resultados más bajos que en el tetrazolio, esto se debió al efecto de dormancia de las semillas, ya que estas especies no fueron certificadas antes del ensayo.

La prueba del ácido tetrazolio por ser una prueba rápida y contundente para determinar la viabilidad de las semillas, se constituye en un método muy útil para evaluar su calidad, ya que permite conocer la calidad de las mismas con anterioridad a la siembra y al establecimiento de pasturas, lo cual se convierte en una herramienta importante para los dueños de finca y técnicos involucrados en el sector.

## AGRADECIMIENTOS

El primer autor expresa sus agradecimientos a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, en especial al ex profesor José Oscar Sierra Posada, por su paciencia, colaboración y asesoría. A la Secretaria de

Agricultura de Antioquia. Al profesor Luis Fernando Restrepo por su valiosa colaboración en el análisis e interpretación estadística de los resultados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguila, H. 1966. Germinación de las semillas. En: Producción de semillas forrajeras. Santiago de Chile: Editorial Universitaria. pp: 30-40.
- Benítez, R. 1976. Pruebas de pureza y viabilidad en un grupo de especies forrajeras. En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Maracay Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones, No. 99. pp. 93-105. Junio 16-18.
- Bernal, E J. 1976a. Algunos aspectos de fisiología de semillas forrajeras. En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Maracay Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 25-37 junio 16-18.
- Bernal, E J. 1976b. Consideraciones para el establecimiento de un programa de producción de semillas de forrajeras. En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Maracay Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 58-65.
- Bernal, E J. 2008. Uso de semillas de buena calidad. En pastos y forrajes tropicales producción y manejo. 5ª ed. Bogotá, Colombia. pp. 427 – 435.
- Berna L, E J. 1975. Zonificación para la producción de semilla forrajeras en Colombia. En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Bogotá Colombia: Serie: Informes de reuniones, cursos y conferencias. No. 79. pp. 3-14 junio 16-18.
- Cardozo, A. 1975. La Producción de semillas forrajeras en la zona andina. En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Bogotá Colombia: Serie: Informes de reuniones, cursos y conferencias. No.79. pp. 32-39 junio 16-18.
- Copeland, L. O. and McDonald, M. E. 1992. Principles of seed science and tecnology. 2nd ed. Minneapolis, Minnesota: Burgerss publishing company. 50 p.
- Choy – Sanchez, J. G.; Vela, J. W. y Vara, E. C. 1999. Época de corte y fertilización con fósforo sobre la producción de semillas de brachiaria humidícola: Efecto sobre la viabilidad y la dormancia de la semilla en pasturas tropicales. 21(3): 43 – 45.
- Correa, V. J. 1976. algunos aspectos importantes para la producción de semillas de pastos en zonas tropicales. En: Curso de pastos y forrajes. ICA. Compendio No. 11. pp. 283-304.
- Correa, V. J. 1997a. El proceso de la germinación. En: Curso tecnología y fisiología de semillas. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Secretaria de Agricultura de Antioquia. UDEA. pp.1-5.
- Correa, V. J. 1997b. Parámetros de calidad en semillas. En: Curso tecnología y fisiología de semillas. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Laboratorio de la Secretaria de Agricultura de Antioquia. UDEA.
- Cruz, E. D.; Carvalho, J. E. U. e Oliveira, R. P. 1997. Variabilidade na germinação e dormencia em sementes de *Centrosema pubescens* Benth. En: Pasturas Tropicales. CIAT. 19(1): 37 – 41.

Días, C. H. J. y Sánchez, M. 1992. Semillas de especies mejoradas para un fondo ganadero: caso del fondo ganadero del Meta Colombia. En: Semilla de especies forrajeras tropicales: Concepto, casos y enfoque de la investigación. Cali, Colombia: CIAT. pp.130-141.

Delouche, J. C. 1980. Environmental effect on seed development and seed quality. Hortscience. 15: 775-780.

Enríquez, Q. F. J. y Quero, C. A. R. 2006. Producción de semillas de gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales. Veracruz, México: INIFAP. CIRGOC. Campo experimental Cotaxtia. Libro técnico No. 11. 109 p.

García, D. A. y Ferguson, J. E. 1984. Métodos de cosecha. En: Cosecha de semilla de *Andropogon gayanus*. Cali, Colombia: CIAT. Serie: 04 sp-05.01. pp. 10-17. Marzo.

Hernández, F. E. 2010. Métodos de escarificación y prueba de envejecimiento acelerado en semillas de *Brachiaria brizantha* c.v. insurgente. Tesis Maestro en Ciencias. Montecillo, México: Colegio de posgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. 59 p.

Hopkinson, J. M.; de Souza, F. H. D.; Diulgheroff, S.; Ortíz, A. y Sánchez, M. 1998. Fisiología reproductiva, producción de semilla y calidad de la semilla en el género *Brachiaria*. En: *Brachiaria: Fisiología, agronomía y mejoramiento*. Colombia: CIAT. pp. 156-162.

International Seed Testing Association (ISTA). 2005. International rules for seed testing. Bassersdorf, CH- Switzerland.

Marquéz, C. y Uropeza, H. 1976. Problemas relacionados con el procesamiento de semillas de forrajeras. Maracay, Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 171-180.

Marroquín, A. 1997a. Que es una semilla. En: Curso tecnología y fisiología de semillas. Facultad de medicina veterinaria y de zootecnia. Laboratorio de la secretaria de agricultura de Antioquia. UDEA. pp. 5-8.

Marroquín, A. 1997b. Latencia o periodo de reposo de la semilla. En: Curso tecnología y fisiología de semillas. Facultad de medicina veterinaria y de zootecnia. Laboratorio de la secretaria de agricultura de Antioquia. UDEA.

Mayorca, B. 1976. Pureza y germinación en pastos. En Seminario sobre producción de semillas de forrajeras. Maracay, Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 181-195

Ramos, A. N. y Romero, C. E. 1976a. Efecto del almacenamiento y la escarificación en la germinación del pasto *brachiaria* (*Brachiaria decumbens* Stapf). En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Maracay, Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 58-65, junio 16-18.

Ramos, A. N. y Romero, C. E. 1976b. El pasto *brachiaria* (*Brachiaria decumbens* Stapf). En: Seminario sobre producción de semillas forrajeras. Maracay, Venezuela: Serie: Informes de conferencias, cursos y reuniones. No. 99. pp. 38-57, junio 16-18.

Ramos, G. N. 1992. Producción y mercadeo de semillas de forrajeras en Semillano Ltda, Colombia. En: Semillas de especies forrajeras tropicales: Concepto, casos y enfoque de la investigación y la producción. Cali, Colombia: CIAT. pp. 285-290.

Salazar, J. J. y Camacho, D. R. 1976. Necesidades y prioridades en la producción de semillas. En Seminario sobre producción de semillas de forrajeras. Maracay, Venezuela: Serie: Informes de reuniones, cursos y conferencias. No. 79. pp. 22-31, junio 16-18.

Santos, F. L. F. 1998. Producción de semillas: El punto de vista del sector privado Brasileño. En: Braquiaria: Biología, agronomía y mejoramiento. Colombia: CIAT. pp. 156-162.

Sierra, P. J. 2002. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. Editorial Universidad de Antioquia. 300 p. Medellín.

Villalobos, E.; Flores, J. y Francesa, A. 1987. Un procedimiento para escarificar semillas de kúdzu (*Pueraria phaseoloides*). En: Agronomía costarricense. 11 (2): 251 – 253.