

## Efecto de dos reguladores de crecimiento y condiciones de iluminación en la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea*

Maribel Quintana<sup>1\*</sup>, Amelia Capote<sup>2</sup>, José A. Nápoles<sup>1</sup>, Orquidia Álvarez<sup>1</sup>, Yamilka Ramos<sup>1</sup>, Carlos Bécquer<sup>1</sup>, Yaldreisy Galdo<sup>1</sup>. \*Autora para correspondencia.

<sup>1</sup>UCTB Estación Experimental Pastos y Forrajes de Sancti Spíritus. Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes. Carretera Central km 395, Sancti Spíritus, Cuba. CP 60 100. e-mail: pastosp@enet.cu

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt. Calle 188 No. 38754 e/ 397 y Lindero, Santiago de las Vegas, Boteros, La Habana, Cuba.

### RESUMEN

Pérdidas en la viabilidad de semillas en el banco de germoplasma de leguminosas forrajeras del Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes (IIPF) motivaron el objetivo del trabajo que fue determinar el efecto de dos reguladores de crecimiento vegetal (ácido giberélico; AG<sub>3</sub> y ácido naftalenacético; ANA) y las condiciones de iluminación sobre la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea* SC-136. Se realizó un experimento bifactorial con diseño completamente al azar y cuatro repeticiones donde se evaluaron cinco niveles diferentes de reguladores de crecimiento (factor A) y dos condiciones de iluminación (factor B). Las variables medidas fueron: porcentaje total de germinación (PTG) y su transformación angular, los días hasta el 50% del PTG (G<sub>50</sub>) y los días entre el 10 y 90% del PTG (G<sub>10-90</sub>). Además, se evaluaron variables morfológicas. Se comprobó que la adición de reguladores de crecimiento vegetal (AG<sub>3</sub> y ANA) tuvo efecto en el incremento de la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea* SC-136, no así las condiciones de iluminación probadas. Se recomendó la combinación AG<sub>3</sub> (1 mg l<sup>-1</sup>) y ANA (0.1 mg l<sup>-1</sup>) para estimular su germinación.

Palabras clave: AG<sub>3</sub>, ANA, fotoperíodo, germoplasma, leguminosa.

## Effect of two plant growth regulators and illumination conditions in the germination of conserved seeds of *Clitoria ternatea*

### ABSTRACT

The seeds viability lost in the seed legume bank of Research Institute of Pastures and Forages (IIPF) led to the aim of the work it was to determine the effect of two plant growth regulators (gibberellic acid; GA<sub>3</sub> and naphthalene acetic acid; ANA) and illumination conditions on the germination of *Clitoria ternatea* SC-136 conserved seeds. One experiment was performed with two-factor completely randomized design with four replications. Five different levels of growth regulators (factor A) and two illumination conditions (factor B) were evaluated. The variables measured were: total germination percentage (PTG) and angular transformation, days to 50% PTG (G<sub>50</sub>) and the days between 10 and 90% PTG (G<sub>10-90</sub>). In addition, morphological variables were evaluated. It was found that the addition of plant growth regulators (GA<sub>3</sub> and NAA) was effective in increasing germination of *Clitoria ternatea* SC-136 conserved seeds, but not the illumination conditions tested. Combination GA<sub>3</sub> (1 mg l<sup>-1</sup>) and NAA (0.1 mg l<sup>-1</sup>) to stimulate germination was recommended.

Key words: GA<sub>3</sub>, germplasm, legume, NAA, photoperiod.

### INTRODUCCIÓN

La conservación de la diversidad genética en bancos de germoplasma facilita la utilización de genotipos de interés a mejoradores y productores, de esta manera se evaden los daños provocados por el ambiente y otros factores que coadyuvan a la erosión de muchas especies al transcurrir los años. Los

pastos y forrajes han sido el sustento alimentario fundamental de la masa ganadera en Cuba por sus bondades nutricionales, además de poder contar con un clima adecuado para su cultivo (Lezcano, 2010). La importancia de la presencia de leguminosas en la dieta animal ha motivado la realización de prospecciones a las áreas ganaderas del país para la colecta de

especies, cuya custodia se resguarda en el banco de germoplasma del Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes (IIPF) del Ministerio de la Agricultura de Cuba (MINAG).

Las leguminosas para su almacenado a largo y mediano plazo tienen comportamiento ortodoxo, lo cual facilita esta labor (Weitbrecht *et al.*, 2011). No obstante, mantener la viabilidad de las semillas conservadas en el tiempo se convierte en una de las tareas más engorrosas para la mayoría de los bancos de germoplasma del mundo (Gómez-Campo, 2006).

Diversos han sido los estudios realizados para controlar aquellos factores de incidencia directa sobre la viabilidad de las semillas almacenadas tales como: humedad, temperatura, secado, recipientes de envasado, etc. (Gómez-Campo, 2006; Pérez-García *et al.*, 2007). De igual modo, factores físicos y químicos han sido objetivo de otras investigaciones. Se conoce la dormancia como uno de los principales problemas que afecta la regeneración de semillas conservadas y para romperla varias han sido las sustancias químicas probadas. Dentro de estas se encuentran los reguladores de crecimiento conocidos por su importante rol durante el crecimiento y desarrollo de las plantas (Taiz y Zeiger, 2006). En leguminosas Ellis *et al.* (1995) describieron el uso de diversas concentraciones de auxinas y giberelinas de acuerdo con el género y especie, para favorecer el potencial fisiológico en la germinación de semillas conservadas en bancos de germoplasma.

Las auxinas juegan un destacado papel en casi todos los aspectos relacionados con el desarrollo de las plantas, incluyendo la germinación de las semillas. También se reconoce su importancia para la elongación y división celular, así como en la formación del embrión y su desarrollo (Hopkins y Hüner, 2009).

Por otra parte, el incremento de la germinación en semillas de varios cultivos de importancia económica ante la aplicación de ácido giberélico ( $AG_3$ ) ha sido expuesto por Capote *et al.* (2012). Este resultado se corroboró por Asrar (2012) al demostrar que la aplicación exógena de  $AG_3$  facilita la ruptura de la dormancia y el comienzo de la germinación en semillas de *Fagus sylvatica* L.

La pérdida en la viabilidad de los genotipos conservados en el banco de germoplasma del IIPF observada al aplicar los métodos convencionales establecidos por las reglas internacionales para la evaluación de semillas (ISTA, 1993) motivó el estudio de algunos factores que pudieran incrementar el potencial fisiológico de las semillas y recuperar así su utilidad. Por recomendaciones del Departamento de Recursos Fitogenéticos se seleccionó la especie conchita azul (*Clitoria ternatea* SC-136) con severas pérdidas en el porcentaje de germinación (sólo un 8% inicial), y ser la de germinación más tardía dentro de la colección conservada por 20 años.

Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de reguladores de crecimiento vegetal ( $AG_3$ : ácido giberélico y ANA: ácido naftalenacético) y las condiciones de iluminación sobre la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea* SC-136.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Unidad de Ciencia y Técnica de Base (UCTB) Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus, Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes (IIPF) del Ministerio de la Agricultura de Cuba.

### *Material vegetal*

Se emplearon semillas conservadas por 20 años de la leguminosa forrajera denominada conchita azul (*Clitoria ternatea* L. accesión SC-136) de flores blancas, procedentes del banco de germoplasma del IIPF. Las condiciones de conservación fueron las estándar de acuerdo con lo descrito para el almacenamiento de semillas ortodoxas en el manual sobre tecnología de semilla para bancos de germoplasma (Ellis *et al.*, 1985).

Las semillas fueron lavadas con agua y detergente comercial, seguido de reiterados enjuagues en agua corriente hasta eliminar los restos del detergente. Para romper la latencia se aplicó escarificación térmica con agua a 80°C por dos minutos (González y Mendoza, 2008). En la desinfección se utilizó etanol 70% (1 minuto) con una gota de Triton X-100. Posteriormente, se sumergieron en una

solución de hipoclorito de sodio al 2.5% de cloro activo durante 10 minutos y finalmente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

Se realizó un experimento bifactorial con diseño completamente al azar y cuatro repeticiones con el objetivo de evaluar cinco niveles diferentes de reguladores de crecimiento (factor A) y dos condiciones de iluminación (factor B).

Las combinaciones de reguladores de crecimiento fueron: Control (sin reguladores del crecimiento), 0.5 mg l<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>, 1 mg l<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>, 1 mg l<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub> + 0.1 mg l<sup>-1</sup> ANA y 0.1 mg l<sup>-1</sup> ANA.

Las condiciones de iluminación fueron: fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad y período inicial de seis días de oscuridad, seguido de similar fotoperíodo.

En todos los casos se colocaron 25 semillas por placa Petri sobre papel de filtro humedecido con agua destilada (control) y el resto atendiendo a los niveles de reguladores de crecimiento probados. La temperatura de incubación se mantuvo en 27 ± 2°C.

Se realizaron evaluaciones diarias, con cortes a los 10 y 21 días.

Las variables medidas fueron el porcentaje total de germinación (PTG) por la ecuación  $PTG = (\text{número de semillas germinadas} \times \text{número de semillas totales}) \times 100$  (Sánchez y Ramírez, 2006) y su transformación angular por:

$$X' = 2 \arcsen \sqrt{P},$$

donde  $P$  es la proporción (Ruesga *et al.*, 2005). Se calcularon los días hasta el 50% del PTG, y así también, los días entre el 10 y 90% del PTG (Murray *et al.*, 1993). El período hasta el 50% del PTG ( $G_{50}$ ) es una medición inversa de la tasa de germinación, mientras que el período entre 10 y 90% del PTG ( $G_{10-90}$ ) se considera como un estimado de la extensión de la germinación, lo inverso a la sincronía de germinación (Tiryaki *et al.*, 2006).

A los 21 días se evaluaron además las variables, porcentaje de plantas con características morfológicas adecuadas según la especie, altura de las plántulas (cm), masa fresca (g), longitud del hipocótilo (LH) (cm), longitud de la radícula (LR) (cm) y la relación LH/LR.

### Análisis estadístico

Una vez comprobados los supuestos para la aplicación de pruebas paramétricas se evaluaron los datos a través de un análisis de varianza bifactorial para comprobar el efecto de los factores evaluados, cuando se presentaron diferencias se aplicó un análisis de varianza de clasificación simple y las diferencias fueron detectadas mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan. Todos los procesamientos se hicieron utilizando el paquete estadístico SPSS/PC para Windows versión 15.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al someter la superficie de las semillas a la desinfección pudo observarse un total control de agentes contaminantes microbianos durante las pruebas de germinación. Esto permitió evaluar los experimentos planificados para un 100% de efectividad del método de desinfección. La superficie de la semilla de *C. tematea* SC-136 es lisa lo que facilita la acción del desinfectante sobre ella.

Como resultado del análisis de varianza bifactorial se pudo comprobar que no existieron diferencias significativas en la interacción entre los factores probados (Int. A x B) (reguladores de crecimiento: A y condiciones de iluminación: B) para las variables relacionadas con la germinación de las semillas (PTG,  $G_{50}$  y  $G_{(10-90)}$ ) en las condiciones probadas por ello se analizarán por separado.

Se observó un incremento en el potencial germinativo de las semillas conservadas de *C. tematea* SC-136 en los tratamientos probados respecto al control (prueba germinativa convencional para bancos de germoplasma) (Tabla 1).

Al examinar los resultados del ANOVA bifactorial para el factor A, que incluyó diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento, aparecen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para las variables relacionadas con la germinación, las cuales se sometieron a un análisis estadístico que se resume en la tabla 1. Lo anterior demuestra que el empleo de reguladores de crecimiento vegetal promovió la germinación en las semillas de la leguminosa conservada.

Tabla 1. Efecto del AG<sub>3</sub> y ANA en la germinación de semilla de *Clitoria ternatea*.

Tratamientos	PTG		Germinación	
	%	X'	G <sub>50</sub> (días)	G <sub>10-90</sub> (días)
Control	8.0	0.1434 a	2.0 a	1.0 a
0.5 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub>	32.0	0.4003 b	6.0 b	3.0 abc
1 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub>	27.0	0.3756 b	5.0 b	6.0 c
1 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub> + 0.1 mg l <sup>-1</sup> ANA	30.0	0.3925 b	6.0 b	4.0 bc
0.1 mg l <sup>-1</sup> ANA	18.0	0.3006 b	5.0 b	2.0 ab

Valores con letras no comunes por columna difieren según la prueba de Duncan,  $p < 0.05$ ,  $n = 25$ . PTG (%) porcentaje de semillas con germinación total, G<sub>50</sub> (días): días hasta el 50% del PTG, G<sub>(10-90)</sub> (días), días entre el 10 y 90% del PTG. X': transformación angular del PTG.

El PTG para todos los tratamientos probados fue significativamente superior respecto al control, superado en un 19 a 24% al aplicarse ácido giberélico y un 10% ante la presencia la auxina sola (Tabla 1). Esto corrobora que haya sido abordado por muchos autores el uso de promotores del crecimiento celular, naturales y sintéticos. El importante papel de éstos en diversos caracteres relacionados con el crecimiento de las plantas ha quedado bien documentado (Asrar, 2012).

El bajo porcentaje de germinación en semillas de leguminosas almacenadas ha sido tratado por Muñoz *et al.* (2009) quienes lograron valores inferiores al 10% de germinación a pesar de probar diferentes variantes para estimular el potencial fisiológico en 20 accesiones de leguminosas conservadas por 12 años.

La más rápida tasa de germinación (G<sub>50</sub>=2 d) se observó para el tratamiento control, lo cual puede estar relacionado con su bajo porcentaje de germinación total (8%) (Tabla 1). Una reducción en la tasa de germinación ha sido informada para semillas dormantes de *Amaranthus cruentus* L. con el empleo de reguladores de crecimiento por Tiryaki *et al.* (2005).

La sincronía en la emergencia de las semillas (Tabla 1) fue menor para los tratamientos con bajo porcentaje de germinación (control, 8% y 0.1 mg l<sup>-1</sup> ANA, 18%). Las mayores extensiones en el período germinativo se verificaron como efecto de la acción del ácido giberélico, que alcanzaron su máxima

expresión (G<sub>10-90</sub>=6 d) cuando se empleó 1 mg l<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>. Estudios en otros pastos de Tiryaki *et al.* (2006) indicaron el uso de reguladores de crecimiento como tratamiento pregerminativo para favorecer la tasa y la sincronía de germinación.

Las características morfológicas evaluadas a los 21 días experimentales no evidenciaron anomalías en la germinación y desarrollo de las plántulas de *C. ternatea* SC-136 y solo mostraron diferencias significativas en el ANOVA bifactorial para el factor A que incluyó diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal, cuyo comportamiento se refleja en la tabla 2.

La altura de las plantas (Tabla 2) alcanzó su mayor valor (5.6 cm) para la combinación de AG<sub>3</sub> (1 mg l<sup>-1</sup>) y ANA (0.1 mg l<sup>-1</sup>), sin diferencias significativas para similar concentración de giberelina y la auxina sola. El tratamiento control exhibió los valores más bajos, comparado con la aplicación de los promotores de crecimiento. Una respuesta análoga se observó en la longitud del hipocótilo de las plántulas para inferir que en el crecimiento aéreo de las plántulas la respuesta ante los reguladores probados se manifiesta de manera homogénea. Similares resultados indicaron Akbari *et al.* (2007) al emplear auxina en la germinación de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) para incrementar el largo del hipocótilo y de la masa fresca, pero no aumento en el porcentaje de germinación y el largo de la radícula.

Tabla 2. Efecto de reguladores de crecimiento (factor A) sobre características morfológicas evaluadas en las plántulas obtenidas de semillas conservadas de *C. ternatea* SC-136.

Tratamientos	Altura	Masa	Long. hipocótilo	Long. radícula	Relación
	(cm)	fresca (g)	(cm)	(cm)	LH/LR
Control	4.3 b	0.27	3.32 b	1.99	1.88
0.5 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub>	4.4 b	0.28	3.39 b	2.10	1.91
1 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub>	5.0 ab	0.28	3.79 ab	1.93	1.85
1 mg l <sup>-1</sup> AG <sub>3</sub> + 0.1 mg l <sup>-1</sup> ANA	5.6 a	0.30	4.36 a	1.96	2.39
0.1 mg l <sup>-1</sup> ANA	4.9 ab	0.26	3.86 ab	1.81	2.40

Valores con letras no comunes por columna difieren según la prueba de Duncan  $p < 0.05$ .

Tabla 3. Efecto de las condiciones de iluminación probadas sobre la germinación y características morfológicas evaluadas en las plántulas obtenidas de semillas conservadas de *C. ternatea* SC-136.

Variables	Tratamientos	
	Fotoperíodo	6 d Oscuridad + Fotoperíodo
Altura (cm)	5.0	4.7
Masa fresca (g)	0.3	0.3
Long. hipocótilo (cm)	3.9	3.6
Long. radícula (cm)	2.0	1.9
Relación LH/LR	2.1	2.1
PTG (%)	13	11
G <sub>50</sub> (días)	5	5
G <sub>10-90</sub> (días)	4	3

A las giberelinas se les reconoce gran influencia en muchos procesos relacionados con el desarrollo de las plantas, dentro de ellos cumple un importante papel en el estímulo en la elongación del tallo y en la interrupción del período de latencia de las semillas por la movilización de las reservas del endospermo (Taiz y Zeiger, 2006; Asrar, 2012) procesos que se verifican en los resultados experimentales obtenidos. Weibrecht *et al.* (2011) afirmaron que las giberelinas son los reguladores del crecimiento que juegan el rol principal en la regulación de una rápida germinación en semillas.

Los valores de masa fresca y longitud de la radícula (Tabla 2) se mantuvieron similares entre los tratamientos, sin existir diferencias significativas con respecto al control. La relación LH/LR tampoco difirió estadísticamente entre los tratamientos.

Al considerar de forma general el comportamiento de las variables evaluadas

ante los reguladores de crecimiento probados se recomendó la combinación AG<sub>3</sub> (1 mg l<sup>-1</sup>) y ANA (0.1 mg l<sup>-1</sup>) para estimular la germinación en las leguminosas conservadas en el banco de germoplasma del IIPF. Esta combinación presentó el mayor PTG (30%), tasa de crecimiento (G<sub>50</sub>=6 días) y sincronía en la emergencia de la semilla (G<sub>10-90</sub>=4 días). Además, la altura de las plantas (5.6 cm) y la longitud del hipocótilo (4.36 cm) fueron favorecidas.

Los resultados del ANOVA bifactorial para el factor B, que incluyó dos condiciones diferentes de iluminación (fotoperíodo 16 h luz con 8 h oscuridad y 6 días oscuridad seguido de igual fotoperíodo), no mostraron diferencias significativas entre las variables evaluadas para indicar que la fotomorfogénesis durante la germinación en *C. ternatea* SC-136 no se vio influenciada de manera significativa por las variaciones probadas de la iluminación (Tabla 3).

Nelson *et al.* (2009) indicaron que a pesar de décadas de investigación, la dormancia de la semilla sigue siendo un estado fisiológico complejo no entendido bien, del cual se reconoce la necesidad de recursos como la luz, temperatura, nutrientes y hormonas vegetales, destacando el AG<sub>3</sub> por su implicación en el inicio y realización de la germinación. Dichos autores reconocieron, además, que la proporción de ácido absísico (ABA) y giberelinas (AG), en lugar de las cantidades absolutas de estas hormonas, parece ser crítico en el proceso. Así, para liberar la semilla de la dormancia e iniciar la germinación debe ocurrir una alteración en la biosíntesis y degradación en hormonas que lleve a una baja proporción ABA/AG y que permita una disminución en la sensibilidad de ABA y un aumento en la sensibilidad de AG que aumente el potencial de crecimiento de embrión y debilite la cubierta de la semilla para que la radícula de la plántula pueda penetrarla.

También Ortega y Rojas (2007) al evaluar el efecto de la luz, temperatura y aplicación de AG<sub>3</sub> en semillas conservadas de *Trichocereus terscheckii* para estimular la germinación obtuvieron que independientemente de cultivarse las semillas en presencia de la luz u oscuridad, y de variar la temperatura de 15 a 35°C, sólo aumentó significativamente la germinación ante la adición de ácido giberélico en todas las concentraciones probadas; aunque destacaron que el porcentaje de germinación fue ligeramente superior con el AG<sub>3</sub> y la luz.

Weitbrecht *et al.* (2011) reconocieron los complejos mecanismos de las giberelinas y el etileno en su interacción con la luz, recomendando se profundice en estudios futuros que permitan el entendimiento de estos factores que conllevan a acelerar germinación de semillas.

Las características morfológicas evaluadas a los 21 días experimentales no evidenciaron anomalías en la germinación y crecimiento de las plántulas de *C. ternatea* SC-136. Tampoco se constataron diferencias significativas (Tabla 3) para las diferentes condiciones de iluminación.

## CONCLUSIONES

Se comprobó que la adición de reguladores de crecimiento vegetal (AG<sub>3</sub> y ANA) tuvo efecto en

el incremento de la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea* SC-136, no así las condiciones de iluminación probadas. Por ello, se recomendó la combinación AG<sub>3</sub> (1 mg l<sup>-1</sup>) y ANA (0.1 mg l<sup>-1</sup>) para estimular su germinación. El presente trabajo tuvo una aplicación práctica inmediata, con resultados satisfactorios en el refrescamiento de la colección de leguminosas forrajeras conservadas en el banco de germoplasma del centro, muchas de las cuales habían perdido o disminuido su potencial germinativo.

## REFERENCIAS

- Akbari, G, Sanavy SAMM, Yousefzadeh S (2007) Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(15): 2557
- Asrar, Z (2012) Terpenoids and gibberellic acids interaction in plants. En: Montanaro G, Dichio B (Eds). *Advances in selected plant physiology aspects*, pp.345-364. InTech Publisher, Croatia
- Capote, A, Fraga N, Llorente O, Marrero N (2012) Efecto de reguladores del crecimiento sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas de semillas de *Capsicum annum* L. *Rev. Agrotecnia de Cuba* 36(1): 4-9
- Ellis, RH, Hong TD, Roberts EH (1985) Seed technology foregenebanks. *Handbook for Genebanks* 2(1): 5-66
- Ellis, RH, Hong TD, Roberts EH (1995) Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds stored at low and very-low moisture contents. *Ann. Bot.* 76: 521-534
- Gómez-Campo, C (2006) Long term seed preservation: updated standards are urgent. *Monographs ETSIA, Univ. Politécnica de Madrid* 168: 1-4
- González, Y, Mendoza F (2008) Efecto del agua caliente en la germinación de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes* 31(1): 47-52
- Hopkins, WG, Hüner NPA (2009) *Introduction to Plant Physiology*. University of Western Ontario, USA
- ISTA (1993) *International rules for seed testing*. Seed Science and Technology, 21, Supplement. International Seed Testing Association, Suiza
- Lezcano, J (2010) Programa Integral de Ganadería. Proyección Estratégica hasta el 2015. MINAG, Cuba. Ed. Lilibana, La Habana

- Muñoz, B, Sánchez JA, Montejo LA, González Y, Reino J (2009) Valoración germinativa de 20 accesiones de leguminosas almacenadas en condiciones desfavorables. Pastos y Forrajes 32(3): 1-8
- Murray, G, Swensen JB, Gallian JJ (1993) Emergence of sugar beet seedlings at low soil temperature following seed soaking and priming. Hort. Sci. 28: 31
- Nelson, DC, Riseborough JA, Flematti GR, Stevens J, Ghisalberti EL, Dixon KW, Smith SM (2009) Karrikins discovered in smoke trigger arabidopsis seed germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light. Plant Physiology 149 (2): 863-873
- Ortega, P, Rojas M (2007) Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. Journal of Arid Environments 69(1): 169-176
- Pérez-García, F, González-Benito ME, Gómez-Campo C (2007) High viability recorded in ultra-dry seeds of 37 species of *Brassicaceae* after almost 40 years of storage. Seed Sci. and Technol. 35: 143-153
- Ruesga, I, Peña E, Expósito I, Gardon D (2005) Libro de experimentación agrícola. Editorial Universitaria, Ciudad Habana
- Sánchez, Y, Ramírez M (2006) Tratamientos pregerminativos en semillas de L. en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Rev. Fac. Agron. Caracas 23(3): 5-12
- Taiz, L, Zeiger E (2006) Plant Physiology. Chapter 17. Phytochrome and Light Control of Plant Development. 4th Ed, pp. 375-492. Sinauer and Associates. Sunderland
- Tiryaki, I, Korkmaz A, Nas M, Ozbay, N (2005) Priming combined with plant growth regulators promotes germination and emergence of dormant *Amaranthus cruentus* L. seeds. Seed Sci. Technol. 33: 569
- Tiryaki, I, Ozbay N, Nuri Nas M, Korkmaz A (2006) La inclusión de benziladenina en solución acondicionadora promueve la germinación de semillas de pasto Kentucky (*Poa pratensis* L.). Rev. Cub. de Ciencia Agrícola 40(2): 243-248
- Weitbrecht K, Müller K, Leubner-Metzger G (2011) Darwin Review. First off the mark: early seed germination. Journal of Experimental Botany 62(10): 3289-3309

Recibido: 23-01-2013

Aceptado: 28-03-2013