

2

TRABAJOS CIENTÍFICOS

EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE ESCARIFICACIÓN MECÁNICA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LEGUMINOSAS PRATENSES

J.A. OLIVEIRA PRENDES, E. AFIF KHOURI Y J. ORTIZ GARCÍA

Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Escuela Universitaria de Ingenierías Técnicas de Mieres. Universidad de Oviedo. Calle Gonzalo Gutiérrez de Quirós s/n. 33600 Mieres (España). oliveira@uniovi.es

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar un método de escarificación mecánica para eliminar las cubiertas duras de las semillas en los ensayos de germinación de accesiones de leguminosas anuales de la colección de semillas del Área de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo. Se evaluó el efecto de la inyección de aire comprimido en un escarificador mecánico, de cuerpo de metal recubierto interiormente de lija gruesa, durante tres periodos de tiempo (30, 60 y 120 segundos) en el porcentaje de germinación de semillas de *Medicago lupulina*, *Medicago littoralis* y *Medicago polymorpha*. Se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de germinación entre el tratamiento control (sin escarificación) y los tratamientos de escarificación, pero no entre los tratamientos de escarificación ($p > 0,05$). Por otro lado se trataron diecinueve accesiones de leguminosas anuales (*Medicago* sp. y *Melilotus* sp.) conservadas en la colección de semillas con el tratamiento de escarificación mecánica con inyección de aire comprimido en el escarificador durante 30 segundos. Este tratamiento de escarificación mejoró la germinación de las accesiones conservadas en dicha colección de semillas.

Palabras clave: Nascencia, *Medicago* sp., *Melilotus* sp., semillas duras

INTRODUCCIÓN

En la Cordillera Cantábrica, los prados y las praderas son una fuente básica de alimento a bajo coste para la alimentación de los rumiantes.

Los pastos, y en particular las leguminosas pratenses, pueden jugar un papel importante en el desarrollo de sistemas agrarios sostenibles debido su potencial de fijación de nitrógeno atmosférico. Las leguminosas pratenses son importantes en agricultura, debido a que suministran su propio nitrógeno enriqueciendo el contenido de nitrógeno del suelo y por tener un valor nutritivo alto.

Además de los usos tradicionales en producción forrajera, estas especies junto con las gramíneas proporcionan muchas posibilidades para la extensificación, la diversificación y la protección del medio ambiente. La estabilización de taludes en autopistas, vías férreas, cauces hidráulicos, la cubrición de vertederos y bocas de mina, la utilización en sistemas silvopastorales, la revegetación de espacios naturales deteriorados, la utilización como abono verde en agricultura ecológica, como cultivos de cobertura en frutales y viña, etc., son posibles aplicaciones de la utilización de las leguminosas para usos no forrajeros.

Los bancos de semillas son el instrumento a través del cual se consigue la preservación de los recursos genéticos de mayor interés y que corren mayor peligro de desaparición. Se trata de una colección de semillas o plantas vivas, perfectamente identificadas, ordenadas y conservadas, de las que se puede disponer para la realización de mejora genética. En estos bancos de semillas es importante utilizar métodos que promuevan la germinación de todas las semillas de una muestra, no solo para determinar la viabilidad de las semillas sino también para evitar la selección genética de las muestras, es decir, el utilizar solo los genotipos de las semillas que germinan, durante los procesos de regeneración de las mismas en campo (Breese, 1989).

En la actualidad, en España a parte del CRF-INIA, donde se conservan muestras españolas de gramíneas y leguminosas pratenses, existe una colección de leguminosas anuales de zonas semiáridas (*Trifolium subterraneum* y *Medicago* sp.) en la Finca de la Orden de Badajoz. El Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM-INGA-CAL), dependiente de la Consellería do Medio Rural de la Xunta de Galicia, mantiene una colección de más de 1000 accesiones de gramíneas y leguminosas pratenses, así como de cereales y especies hortícolas del Norte de España. El Área de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo mantiene una colección de leguminosas pratenses y de gramíneas cespitosas de la Cordillera Cantábrica en el Campus de Mieres.

El objetivo final de toda colección de recursos genéticos es el representar lo mejor posible la mayor parte de la diversidad presente en una zona determinada, y en el caso del Área de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo, se realizó una recolección de leguminosas pratenses gracias al proyecto RF02-025-C2 con el fin de crear una colección de semillas de estas especies en la Universidad de Oviedo y contribuir a ampliar la diversidad de estas especies en la Colección Nacional del CRF-INIA.

Con base en dicho proyecto se recogieron 43 muestras de leguminosas pratenses en forma de semilla en el verano de 2003. De esas muestras, quince fueron *Trifolium repens*, nueve *Trifolium pratense*, dos *Lotus corniculatus*, doce *Medicago lupulina*, tres de *Medicago littoralis*, una de *Medicago polymorpha* (syn. *hypsida*) y una de *Melilotus parviflora* (syn. *indica*). En el otoño se procedió a la limpieza de la semilla recogida y posteriormente al envío de una muestra de 4000 semillas por accesión al Centro de Conservación de Recursos Fitogenéticos del INIA y se conservó el resto de la semilla

en envases herméticos a 4 °C, previa desecación de las mismas con gel de sílice y realización de un ensayo de germinación.

Con base en el proyecto RF2006-00012-C02-01 también del mismo subprograma se están multiplicando y caracterizando dichas leguminosas recogidas en la Cordillera Cantábrica, realizándose la multiplicación de las leguminosas perennes y alógamas (*Trifolium* y *Lotus*) en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo y la multiplicación de las leguminosas anuales y autógamas (*Medicago* y *Melilotus*) en la Universidad de Oviedo.

Entre las leguminosas pratenses anuales, la característica más importante es su carácter de plantas mejoradoras del terreno para suelos más o menos arenosos, de baja fertilidad y poco profundos, gracias a sus raíces profundas (Muslera y Ratera, 1991; Jha y Pal, 1992).

En los bancos de semillas se realizan ensayos de germinación de las accesiones antes de su conservación en la cámara frigorífica y cada diez años para estimar la viabilidad. Estos ensayos se hacen según las normas ISTA (ISTA, 1999) con las adaptaciones necesarias en cada caso.

La mayoría de las semillas de leguminosas pratenses anuales presentan bajos porcentajes de germinación debido al fenómeno de la dormancia o latencia (Besnier, 1989; Jha y Pal, 1992; Lodge, 1996; Martín *et al.*, 2000). En estas especies, la dormancia generalmente se debe a la presencia en las semillas de una capa exterior impermeable. Esta dormancia es un mecanismo ecológico que permite a las semillas germinar solo cuando las condiciones ambientales sean adecuadas para que haya un buen crecimiento de las plántulas, pero representa una limitación cuando se busca un alto porcentaje de germinación de las semillas (Argel y Paton, 1999).

Existen numerosos métodos de escarificación aplicados a las semillas de leguminosas con la finalidad de romper la latencia e incrementar la germinación; entre ellos se mencionan los métodos físicos, químicos y mecánicos, cuyos resultados dependerán de la especie (Rodríguez *et al.*, 1985; Paramathma *et al.*, 1991).

Las semillas duras de semillas grandes de leguminosas (*Phaseolus*, *Lupinus*, etc.) se suelen escarificar a mano haciendo una pequeña incisión en la cubierta de la semilla, pero este procedimiento no es operativo en especies con semillas pequeñas como *Trifolium* y *Medicago*. Los métodos más usados para escarificar las semillas incluyen la escarificación química con ácido sulfúrico, la escarificación mecánica con papel de lija o arena gruesa o los tratamientos con calor (Sy *et al.*, 2001; Martín y De la Cuadra, 2004).

Se deben evitar los tratamientos de escarificación que puedan causar daños en las semillas, ya que el uso de materiales genéticamente diferentes dentro de la misma

especie puede implicar variabilidad en la sensibilidad al método de escarificación (Ellis *et al.*, 1985).

El objetivo de este trabajo es comprobar la eficacia de un método de escarificación mecánica en un recipiente forrado interiormente con lija en el que se inyecta aire a presión durante un determinado periodo de tiempo. De este manera se trata de eliminar la dureza de las semillas en los ensayos de germinación de las accesiones de leguminosas anuales conservadas en la Colección de semillas del Área de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Especies estudiadas

Medicago lupulina se encuentra presente tanto dentro de la vegetación de las playas como de los prados y pastizales de Asturias (Mayor y Díaz, 2003). En un estudio realizado por Fernández *et al.* (2007) sobre la utilización de la hidrosiembra en la revegetación de áreas mineras degradadas, esta especie destacó dentro de las especies que habían colonizado espontáneamente las tres zonas degradadas estudiadas, lo que indicaba que podía ser interesante utilizar dicha especie en mezclas de hidrosiembra para futuras revegetaciones.

Medicago littoralis se encuentra presente en la vegetación de playas sobre todo en el litoral Centro y Occidente de Asturias. *Medicago polymorpha* aparece por el contrario dentro de la flora de cultivos y zonas ruderales (Mayor y Díaz, 2003).

El experimento se realizó en semillas recientemente multiplicadas de tres accesiones de *Medicago lupulina*, una de *Medicago littoralis* y la accesión “Santiago” de *Medicago polymorpha* suministrada por D. Francisco González (Banco de Recursos Fitogenéticos del S.I.A de Badajoz).

Limpieza de semillas

Las muestras de *Medicagos* (Tabla 1) multiplicadas en el verano de 2008 en la finca “Casero” en el concejo de Carreño (43° 35’ N, 5° 47’ O, 80 m) y colaboradora con la Universidad de Oviedo, se tamizaron para eliminar las impurezas que venían con ellas. En el caso de las muestras de *Medicago lupulina* y *Melilotus parviflora*, el tamizado fue rápido debido a que las semillas no se encontraban dentro del fruto, bastando solo el tamizado para separar las semillas del resto de impurezas, utilizando cribas de 2,00 mm y 1,00 mm de luz de malla. En el caso de las muestras de *Medicago littoralis* y *Medicago polymorpha*, en las que las semillas estaban dentro de sus frutos, la extracción

de las semillas fue más laboriosa, siendo necesaria la frotación con un taco de madera de los frutos sobre una superficie rugosa. Posteriormente se utilizaron los mismos tamices que en el caso anterior. Para eliminar los restos de tierra y vegetales que el tamizado no consiguió eliminar se pasaron por una columna densimétrica modelo Oregón, mediante una columna de aire que permite la separación de las partículas de menor peso que las semillas.

TABLA 1

Número de inventario en el Centro de Recursos Fitogenéticos Español (CRF-INIA) y orígenes de las 18 accesiones del género *Medicago* (las accesiones “Santiago” y “3710” fueron suministradas por el Banco de semillas del S.I.A de Badajoz) y una del género *Melilotus*.

*Inventory number at the Spanish Genetic Resources Center (CRF-INIA) and origins of the 18 accessions of the genus *Medicago* (The accessions ‘Santiago’ and ‘3710’ were obtained from the Seed bank of the S.I.A of Badajoz) and one of the genus *Melilotus*.*

Código	Provincia	Localidad	Género	Especie	Lat	Long	Alt
NC079649	Asturias	Doiras	Medicago	lupulina	4322N	0652O	180
NC079651	Asturias	Grandas de Salime	Medicago	lupulina	4311N	0657O	300
NC079652	Asturias	San Martín de Oscos	Medicago	lupulina	4315N	0658O	700
NC079653	Asturias	Vegadeo	Medicago	lupulina	4327N	0703O	250
NC079654	Asturias	Navia	Medicago	lupulina	4333N	0643O	29
NC079655	Asturias	Playa de Penaronda	Medicago	lupulina	4334N	0658O	31
NC079656	Asturias	Navia	Medicago	littoralis	4333N	0643O	29
NC079657	Lugo	Reinante	Medicago	lupulina	4334N	0711O	9
NC079658	Lugo	Playa de San Cosme	Medicago	littoralis	4334N	0715O	11
NC079659	Lugo	Villanueva Lorenzana	Medicago	lupulina	4321N	0720O	500
NC079660	Lugo	Playa de San Cosme	Medicago	polymorpha	4334N	0715O	11
NC079661	Lugo	Playa de San Cosme	Medicago	lupulina	4334N	0715O	11
NC079662	Lugo	Playa de San Cosme	Medicago	lupulina	4334N	0715O	11
NC079663	Asturias	San Esteban Buitres	Medicago	lupulina	4319N	0651O	350
NC079664	León	Meroy	Medicago	lupulina	4255N	0610O	1300
NC079665	Lugo	Reinante	Melilotus	parviflora	4334N	0711O	9
NC079666	Lugo	Reinante	Medicago	littoralis	4334N	0711O	9
“Santiago”			Medicago	polymorpha			
“3710”			Medicago	arabica			

Escarificación mecánica

Medicago lupulina tiene frutos o legumbres reniformes en inflorescencias en racimos cortos y densos con largo pedúnculo, negruzcos en la maduración (Peso de 1000 semillas = 1,79 g, desviación estándar = 0,48, n = 12). *Medicago littoralis* tiene frutos o legumbres cilíndricos, espiralados con espinitas y semillas reniformes anaranjadas (Peso de 1000 semillas = 1,87 g, desviación estándar = 0,06, n = 3). *Medicago polymorpha* tiene frutos discoideos espiralados con semillas reniformes anaranjadas (Peso de 1000 semillas = 2,42 g, desviación estándar = 0,95, n = 2). *Melilotus parviflora* tiene frutos o legumbres subglobosos o anchamente ovoideos (Peso de 1000 semillas = 1,95 g, n = 1). *Medicago arábica* tiene frutos o legumbres globulosos, curvados sobre si mismo helicoidalmente hasta con cuatro a siete vueltas (Peso de 1000 semillas = 1,50 g, n = 1).

Para realizar la escarificación mecánica se construyó un recipiente metálico siguiendo un modelo suministrado por D. Francisco González del (Banco de Recursos Genéticos del S.I.A de Badajoz) en el que se inyectó aire a presión (4 bares) durante diferentes periodos de tiempo (Figura 1). Además del tratamiento de escarificación con tres tiempos de inyección de aire a presión (30, 60 y 120 segundos), se empleó un tratamiento control sin escarificación.

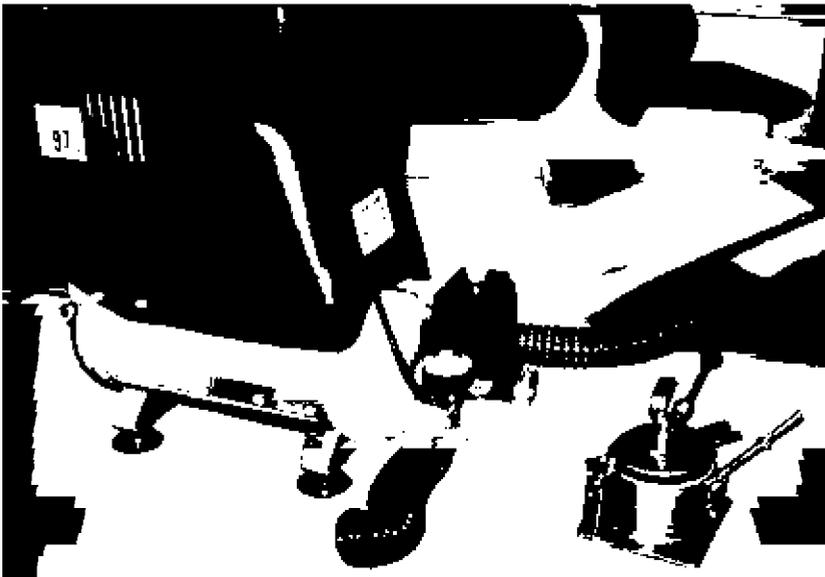


FIGURA 1

Escarificador mecánico con lija gruesa en su interior y grupo de presión que suministra aire a 4 bares de presión.

Mechanical scarifier with coarse sand paper and pressure group to obtain 4 bars of air pressure.

Con el fin de estimar la viabilidad de las accesiones de la colección de semillas se utilizó un tratamiento de escarificación mecánica con papel de lija gruesa y 30 segundos de inyección de aire a presión (4 bares) en los ensayos de germinación (antes de la conservación de las semillas) en 16 accesiones del género *Medicago* (12 de *Medicago lupulina*, tres de *Medicago littoralis*, y una de *Medicago polymorpha*) y una accesión de *Melilotus parviflora* presentes en la colección de semillas del Campus de Mieres y dos testigos, uno la accesión “Santiago” de *Medicago polymorpha* y otra la accesión “3710” de *Medicago arabica*.

Pruebas de germinación

La unidad experimental fue de 25 semillas depositadas sobre papel de filtro Whatman Número 3 en placas de Petri de 9 cm (4 repeticiones de 25 semillas por accesión) y colocadas al azar en una cámara de germinación a 20 °C (± 1 °C) en la oscuridad, condiciones consideradas óptimas para especies de leguminosas pratenses (ISTA, 1999). Se fue añadiendo agua destilada a las placas Petri a medida que fuese necesario. Después de siete días se anotó el número de semillas germinadas (observando la presencia de la radícula) y de semillas duras (semillas no germinadas).

Análisis de datos

Los porcentajes de semillas germinadas se transformaron mediante la transformación angular o arcoseno de la raíz cuadrada del tanto por uno de las semillas germinadas y se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza a un factor por cada especie. La significación de las diferencias entre medias se evaluó mediante el test Duncan ($p < 0,05$). La conversión de los datos transformados en datos normales se realizó haciendo la inversa, es decir, el cuadrado del seno de los datos transformados (Steel y Torrie, 1985).

En el caso del ensayo de viabilidad de las accesiones, los resultados se analizaron con el test t de Student para muestras independientes (Steel y Torrie, 1985).

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 15.0.

RESULTADOS

Escarificación mecánica

El tratamiento de escarificación mecánica con lija y aire a presión incrementó significativamente ($p < 0,05$) la germinación de las semillas en las tres especies estudiadas. Los porcentajes de semillas germinadas correspondientes a los diferentes tratamientos de escarificación se muestran en la Tabla 2. Como se puede observar en

dicha tabla, no hubo diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tiempos de inyección de aire a presión en el escarificador para ninguna de las especies. *Medicago lupulina* tuvo el menor porcentaje de semillas germinadas (2%) en el tratamiento control (sin escarificación).

TABLA 2

Efecto de un método de escarificación mecánica en el porcentaje de germinación de *Medicago littoralis*, *Medicago lupulina* y *Medicago polymorpha*. Para cada especie, las medias con diferentes letras fueron significativamente diferentes con un nivel de significación de 0,05 de acuerdo al test Duncan.

Effect of a mechanical scarification method on the percentage of normal seedlings of Medicago littoralis, Medicago lupulina and Medicago polymorpha. For each species, means followed by different letters were significantly different at the 0.05 level according to Duncan test.

Semillas germinadas (%)	
<i>Medicago littoralis</i>	
Control	8b
Escarificación mecánica	
30 segundos	91a
60 segundos	98a
120 segundos	97a
<i>Medicago lupulina</i>	
Control	2b
Escarificación mecánica	
30 segundos	91a
60 segundos	93a
120 segundos	88a
<i>Medicago polymorpha</i>	
Control	19b
Escarificación mecánica	
30 segundos	95a
60 segundos	97a
120 segundos	97a

Viabilidad de las semillas de las accesiones de leguminosas anuales

En vista de los resultados anteriores se escogió el escarificado con aire a presión durante 30 segundos como pretratamiento en los ensayos de germinación realizados en las accesiones de leguminosas pratenses anuales de la colección de semillas del Área

de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo. La eficacia de este tratamiento se estudió en 19 accesiones.

El porcentaje medio de germinación fue mayor en las muestras escarificadas (media = 88,30%, error estándar = 1,98) que en las muestras no escarificadas (media = 7,11%, error estándar = 1,06). Esta diferencia fue estadísticamente significativa mediante el test de la t de Student, $t(150) = -36,16$, $p < 0,001$. El porcentaje de semillas duras en las muestras no escarificadas y escarificadas se muestra en la Tabla 3.

El porcentaje de semillas duras varió desde el 63,00% al 98,25% en las muestras no escarificadas y la eficiencia en la escarificación varió desde un porcentaje de semillas duras tras la escarificación del 77,00% hasta el valor más bajo que fue del 1,75%. El primer valor se alcanzó en la accesión de *Melilotus parviflora* NC079665, en la que solo germinan el 23% de las semillas después de ser escarificada, lo que indica que el tiempo de escarificación usado teniendo en cuenta el ensayo previo de escarificación con accesiones del género *Medicago*, no es suficiente para escarificar las semillas de *Melilotus parviflora*. Sería necesario realizar ensayos previos con accesiones del género *Melilotus* para establecer el tiempo de escarificación adecuado. En el caso de la accesión de *Medicago polymorpha* NC079660, en la que germinaron el 37% de semillas sin necesidad de escarificar, se muestra que parece existir cierta variabilidad en la dureza de las semillas de esta especie, si comparamos este valor con el obtenido en la accesión "Santiago" que tuvo una germinación del 19% de semillas sin necesidad de escarificar.

El porcentaje medio de semillas duras fue de 11,7% (desviación estándar = 17,24) y 92,9% (desviación estándar = 9,28) en muestras escarificadas y no escarificadas respectivamente.

TABLA 3

Efecto de 30 segundos de inyección de aire comprimido en el escarificador mecánico con lija gruesa, en el porcentaje de semillas duras (desviación estándar entre paréntesis) en las 19 accesiones de leguminosas anuales.

Effect of 30 seconds of injection of compressed air in a scarifier of a metal drum lined with coarse sand paper on the hard seed percentage (standard deviation between parentheses) of 19 annual forage legume accessions.

Código	Especie	Conteo a los 7 días	
		Con escarificación	Sin escarificación
NC079649	Medicago lupulina	8,00 (3,27)	96,50 (3,32)
NC079651	Medicago lupulina	6,25 (3,50)	98,25 (1,50)
NC079652	Medicago lupulina	11,25 (11,64)	95,75 (2,87)
NC079653	Medicago lupulina	9,00 (3,83)	97,25 (3,50)
NC079654	Medicago lupulina	9,00 (3,83)	96,50 (3,32)
NC079655	Medicago lupulina	3,50 (3,32)	96,75 (1,50)
NC079656	Medicago lupulina	2,50 (1,73)	86,00 (6,93)
NC079657	Medicago lupulina	10,25 (7,23)	98,25 (1,50)
NC079658	Medicago lupulina	8,25 (5,19)	95,75 (2,87)
NC079659	Medicago lupulina	3,50 (3,32)	97,50 (1,73)
NC079660	Medicago polymorpha	9,00 (3,83)	63,00 (6,83)
NC079661	Medicago lupulina	6,00 (4,00)	96,50 (3,32)
NC079662	Medicago lupulina	5,50 (7,14)	97,50 (1,73)
NC079663	Medicago lupulina	13,00 (6,83)	96,75 (1,53)
NC079664	Medicago lupulina	24,00 (9,24)	96,50 (3,32)
NC079665	Melilotus parviflora	77,00 (16,77)	98,25 (1,50)
NC079666	Medicago littoralis	5,50 (5,45)	91,75 (8,34)
“Santiago”	Medicago polymorpha	9,25 (6,40)	81,00 (2,00)
“3710”	Medicago arabica	1,75 /1,50)	86,00 (7,66)
Media general		11,70 (17,24)	92,90 (9,28)

DISCUSIÓN

De acuerdo con otros resultados obtenidos en leguminosas pratenses (Van Assche *et al.*, 2002; Patanè y Gresta, 2006), en nuestro estudio solo una pequeña cantidad de semillas (hasta un 19%) germina sin realizar una escarificación.

En este trabajo se muestra que la dormancia de las semillas de las leguminosas anuales estudiadas es debida a la presencia de una cubierta exterior dura en las semillas.

Por ese motivo, la eliminación de esta cubierta exterior dura mediante un método de escarificación mecánica mediante lija y aire a presión permitió obtener porcentaje altos de germinación (hasta el 97%). Estos resultados están de acuerdo con otros publicados por Martín y De la Cuadra (2004), Uzun y Aydın (2004) y Patanè y Gresta (2006) en otras especies de leguminosas pratenses.

Cuando el porcentaje de germinación de las muestras disminuye más del 15%, es necesaria la regeneración de la muestras (FAO/IPGRI, 1994) para tener una reserva de semilla disponible. Al ser leguminosas anuales autógamas se multiplicará cada accesión en masa, con 30 plantas por accesión separadas 50 cm entre sí. Con 30 plantas por accesión se espera obtener una cantidad importante de semilla por accesión y así reducir el número de regeneraciones posteriores (Linnington y Smith, 1987). Las necesidades de aislamiento son inferiores a las de las especies alógamas, recomendándose dejar 2 m de separación entre parcelas de multiplicación (Maff, 1984; Breese, 1989).

CONCLUSION

La utilización de un método de escarificación mecánica con papel de lija e inyección de aire a presión produjo cambios en la dureza de las semillas, influyendo significativamente sobre el porcentaje de germinación, no observándose diferencias significativas entre los diferentes tiempos de inyección de aire a presión.

Las semillas de las especies de leguminosas pratenses anuales de los géneros *Medicago* y *Melilotus*, estudiadas recién cosechadas, requieren un tratamiento de escarificación previo a la siembra y si se quiere determinar su viabilidad antes del almacenaje en una colección de semillas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado mediante la financiación aportada por el proyecto INIA RF2006-00012-C02-01: "Multiplicación y caracterización primaria de leguminosas pratenses perennes recogidas en la Cordillera Cantábrica".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARGEL, P.J.; PATON, C.J., 1999. Overcoming legume hardseededness. En: *Forage Seed Production: Tropical and Subtropical Species*, vol. 2, 247-265. Ed. D.S. LOCH., J.E. FERGUSON. CAB International, Wallingford (United Kingdom).
- BESNIER, F., 1989. *Semillas, biología y tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa, 637 pp. Madrid (España).

- BREESE, E.L., 1989. *Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: the scientific background*. IBPGR, 69 pp. Rome (Italy).
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H., 1985. *Handbook of Seed Technology for Genebanks*. Vol. I. Principles and Methodology. IBPGR, 210 pp. Rome (Italy).
- FAO/IPGRI, 1994. *Genebank Standards*. FAO, IPGRI, 17 pp. Rome (Italy).
- FERNÁNDEZ, I.; OLIVEIRA, J.A.; AFIF, E., 2007. La hidrosiembra en la revegetación de áreas mineras degradadas. *Actas de la XLVI Reunión Científica de la SEEP*, 287-292. Neiker-Tecnalia, UPV. Vitoria (España).
- ISTA, 1999. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, **27**, Supplement, 1-333.
- JHA, S.S.; PAL, A., 1992. Seed structure in *Medicago L.* *Flora*, **187**, 292-218.
- LINNINGTON, S.; SMITH, R.D., 1987. Deferred regeneration: A manpower efficient technique for germplasm conservation. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **70**, 2-12.
- LODGE, G.M., 1996. Seedling emergence and survival of annual pasture legumes in northern New South Wales. *Australian Journal Agricultural Research*, **47**, 559-574.
- MAFF, 1984. *Guide to production of certified herbage seed*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Booklet 2057, 58 pp. London (United Kingdom).
- MARTIN, I.; DE LA CUADRA, C., 2004. Evaluation of different scarification methods to remove hard-seededness in *Trifolium subterraneum* and *Medicago polymorpha* accessions of the Spanish base genebank. *Seed Science and Technology*, **32**, 671-681.
- MARTIN, I.; DE LA ROSA, L.; DE LA CUADRA, C., 2000. Evaluación de la conservación en las colecciones de judías (*Phaseolus* spp.) del CRF-INIA. *Actas de Horticultura*, **30**, 89-95.
- MAYOR, M.; DIAZ, T., 2003. *La flora asturiana*. Editorial Real Instituto de Estudios Asturianos, 761 pp. Oviedo (España).
- MUSLERA PARDO, E.; RATERA GARCÍA, C., 1991. *Praderas y forrajes. Producción y aprovechamiento*. Ediciones Mundi-Prensa, 674 pp. Madrid (España).
- PARAMATHMA, M.; SURENDRAN, C. ; RAI, R. ; SRIMATHI, P. ; VINAYA-RAI, R., 1991. Studies on maximising germination and vigour in forage legumes. *Range Management and Agroforestry*, **12(2)**, 125-128.
- PATANÈ, C.; GRESTA, F., 2006. Germination of *Astragalus hamosus* and *Medicago orbicularis* as affected by seed-coat dormancy breaking techniques. *Journal of Arid Environments*, **67**, 165-173.
- RODRÍGUEZ, C.C.; EGUIARTE, J.A.; HERNÁNDEZ, F., 1985. Evaluación de diferentes métodos prácticos de escarificación en semillas de *Leucaena leucocephala* Lam., en condiciones de trópico semi-seco. *Técnica Pecuaria en México*, **48**, 24-29.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H., 1985. *Bioestadística: principios y procedimientos*. Segunda Edición. Ediciones. McGraw-Hill, 622 pp. Bogotá (Colombia).
- SY, A.; GROUZIS, M.; DANTHUS, P., 2001. Seed germination of seven Sahelian legume species. *Journal of Arid Environments*, **49**, 875-882.
- UZUN, F.; AYDIN, I., 2004. Improving germination rate of *Medicago* and *Trifolium* species. *Asian Journal of Plant Sciences*, **3**, 714-717.
- VAN ASSCHE, J.A.; DEBUCQUOY, K.L.A.; ROMMENS, W.A.F., 2003. Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some *Leguminosae* (*Fabaceae*). *New Phytologist*, **158**, 315-323.

EVALUATION OF A MECHANICAL SCARIFICATION METHOD ON SEED GERMINATION OF FORAGE LEGUMES

SUMMARY

The objective of this study was to determine a mechanical scarification method for removing hardseededness in the viability tests of annual forage legume accessions preserved in the seed collection of the Crop Production Area of the University of Oviedo. The effect of the compressed air injection on the germination percentage of seeds of *Medicago lupulina*, *Medicago littoralis* and *Medicago polymorpha* was evaluated in a mechanical scarifier of a metal drum lined with coarse sand paper during three periods of time (30, 60 and 120 seconds). There were statistical differences ($p < 0.05$) on the germination percentage between the control treatment (non scarification) and the scarification treatments, but not among scarification treatments ($p > 0.05$). On the other hand, nineteen annual forage legume accessions (*Medicago* sp., and *Melilotus* sp.) stored in the seed collection were pre-treated by the mechanical scarification with the injection of compressed air in the scarifier for 30 seconds. This scarification treatment improved the determination of germination of the accessions of annual forage legume accessions.

Key words: *Medicago* sp., *Melilotus* sp., hardseededness.