

Evaluación de la escarificación mecánica para romper la latencia en cuatro leguminosas silvestres mediterráneas

DOI: 10.15366/cv2025.29.005

Assessment of mechanical scarification for breaking seed dormancy in four wild Mediterranean legume species

■ NATALIA CELAYA-ROJAS¹, ALEJANDRO SANTIAGO², JOSÉ MARÍA HERRANZ³ Y PABLO FERRANDIS⁴.

1. Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Castilla-La Mancha. Albacete, España.

2. Jardín Botánico de Castilla-La Mancha. Albacete, España.

3. ardin Botánico de Castilla-La Mancha. Producción Vegetal. Escuela T.S. de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología, Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete, España.

4. Jardín Botánico de Castilla-La Mancha. Escuela T.S. de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología, Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete, España.

(*Autora correspondencia: natalia.celaya@uclm.es)

Resumen / Abstract

La familia *Fabaceae* comprende un grupo diverso de plantas ampliamente distribuidas en los ecosistemas mediterráneos, muchas de las cuales presentan latencia física debido a la cubierta impermeable de sus semillas. Este estudio desarrolló la puesta a punto del protocolo de escarificación mecánica controlada para superar dicha latencia. Se evaluó la eficacia del tratamiento en cuatro leguminosas mediterráneas silvestres de interés para la conservación (*Colutea brevislata*, *Coronilla glauca*, *Genista scorpius* y *Spartium junceum*), comparando la germinación con un grupo control sin escarificación y aplicando diferentes niveles de intensidad del tratamiento. Tras uno de los niveles de escarificación, se aumentó significativamente la germinación en todas las especies tratadas, con máximos de 94-100 % en *C. brevislata*, *C. glauca* y *G. scorpius*, que apenas germinaban sin tratamiento (0-31 %). El incremento fue más moderado en *S. junceum* (29-51 %) por la presencia de un componente fisiológico en su latencia. Se determinó que la escarificación que alcanza el endospermo sin dañar el embrión es la óptima para este protocolo. En conjunto, el método desarrollado ofrece una herramienta eficaz y replicable para optimizar la germinación de especies con latencia física, contribuyendo a la conservación de taxones vegetales, además de ser recursos genéticos forestales.

The Fabaceae family comprises a diverse group of plants widely distributed across Mediterranean ecosystems, many of which exhibit physical dormancy due to the impermeable seed coat. This study developed and optimized a controlled mechanical scarification protocol to overcome this dormancy. The effectiveness of the treatment was evaluated in four wild Mediterranean legume species of conservation interest (Colutea brevislata, Coronilla glauca, Genista scorpius and Spartium junceum), comparing germination with an unscarified control group and applying different levels of treatment intensity. After one of the scarification levels, germination increased significantly in all species treated, reaching 94-100% in C. brevislata, C. glauca and G. scorpius, which barely germinated without treatment (0-31%). The increase was more moderate in S. junceum (29-51%) due to the presence of a physiological component in its dormancy. It was determined that scarification reaching the endosperm without damaging the embryo is optimal for this protocol. Overall, the developed method provides an effective and replicable tool to optimize the germination of species with physical dormancy, contributing to the conservation of plant taxa and their use as forest genetic resources.

Palabras clave / Keywords

Germinación, conservación, latencia física, cubierta.

Germination, conservation, physical dormancy, seed coat.

Introducción

La familia *Fabaceae* Lindl., con 772 géneros y 22 360 especies, es la tercera familia más numerosa de angiospermas después de *Asteraceae* y *Orchidaceae* (Govaerts, 2025), lo que le ha permitido tener una distribución global que abarca todos los principales biomas de la Tierra (Lewis *et al.*, 2005). Entre ellos, el bioma de bosque mediterráneo destaca por albergar una elevada diversidad de esta familia, en un contexto de marcada variabilidad ambiental que ha desencadenado la evolución de diversas respuestas funcionales de adaptación. Una de las más ampliamente documentadas en esta familia es la presencia de un tegumento o cubierta impermeable en sus semillas, compuesto por una capa de células en empalizada. Esta estructura dota a las semillas de un mecanismo de "latencia física", pues impide su hidratación y, por tanto, su germinación, hasta que ciertos factores ambientales provocan una alteración mecánica de la testa que permite la entrada de agua (Baskin & Baskin, 2014).

Esta latencia física puede superarse eficazmente de manera artificial mediante escarificación mecánica, un método extensamente descrito en la literatura que consiste en deteriorar la testa por abrasión manual con papel de lija para permitir la entrada de agua (Baskin & Baskin, 2014). Con esta técnica aumentan significativamente los valores de germinación en

leguminosas (Rusdy, 2017), siendo este tratamiento abrasivo más eficiente y seguro que otros métodos como la inmersión en ácido sulfúrico (Jara-Peña & Marín-Bravo, 2023). Este método debe realizarse con precisión suficiente para lijar la testa impermeable sin herir el cotiledón ni el eje embrionario, ya que, si el lijado es excesivo, puede conducir a una reducción significativa de la viabilidad. Es por ello por lo que se debe adaptar el tipo y el grano de lija, así como la presión ejercida en función del tamaño y dureza de la semilla (Kimura & Islam, 2012; Rusdy, 2017).

Dado este delicado equilibrio técnico en el método de escarificación, en el presente estudio se evaluó la eficacia de la escarificación mecánica a diferentes niveles de intensidad en semillas recién recolectadas de cuatro especies silvestres de leguminosas mediterráneas: *Colutea brevislata* Lange, *Coronilla valentina* subsp. *glauca* (L.) Batt. (= *Coronilla glauca* L.), *Genista scorpius* (L.) DC. y *Spartium junceum* L. La elección de estas especies responde a su especial interés desde el punto de vista de la conservación. En particular, *Coronilla glauca* y *Colutea brevislata* están incluidas como taxones de interés especial en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Castilla-La Mancha (Decreto 200/2001, DOCM núm. 119), mientras que *Spartium junceum* y *Genista scorpius* figuran

en la Lista de taxones forestales para la conservación *ex situ* (Decreto 159/2022, de 1 de marzo, sobre conservación de los recursos genéticos forestales y de la flora silvestre). Los resultados obtenidos en este estudio contribuyen a una mejora del conocimiento sobre la puesta a punto de un protocolo de escarificación y germinación óptimo, lo cual resulta clave para establecer estrategias de propagación *ex situ*, conservación y restauración ecológica.

El objetivo principal de esta investigación fue determinar la eficacia de diferentes grados de escarificación mecánica como tratamiento para superar la latencia física en semillas de cuatro especies silvestres de leguminosas mediterráneas (*Colutea brevislata*, *Coronilla glauca*, *Genista scorpius* y *Spartium junceum*). Para cada especie, (1) se determinó el grado de escarificación óptimo para superar la latencia física de las semillas, preservando la integridad del eje embrionario y los cotiledones y (2) se evaluó la promoción de la germinación de las semillas mediante la comparación entre distintos lotes sometidos a diferentes pretratamientos de escarificación mecánica frente a un lote control sin tratamiento. La germinación se considera en este estudio únicamente como una variable respuesta que permite cuantificar la eficacia de cada método de escarificación propuesto durante la optimización del protocolo para romper la latencia física de las semillas.

Material y Métodos

Material vegetal

El material para realizar los ensayos de germinación corresponde a un total de 400 semillas recolectadas de cada especie, recién alcanzada su madurez, de 20-30 plantas con aspecto saludable por cada una de las especies silvestres analizadas en este estudio en poblaciones de Alicante, Guadalajara y Murcia (Tabla 1).

Método de escarificación

Para evaluar el efecto de diferentes niveles de escarificación, se establecieron cuatro lotes de 100 semillas por especie. Un lote se mantuvo intacto como control, mientras que los otros tres fueron sometidos a escarificación mecánica con distinta intensidad (Fig. 1):

- Escarificación tipo I: Frotado superficial que preserve el brillo característico de la testa.
- Escarificación tipo II: Lijado moderado hasta la atenuación del brillo de la testa, exponiendo una pequeña porción del endospermo subyacente.
- Escarificación tipo III: Lijado profundo hasta exponer el embrión.

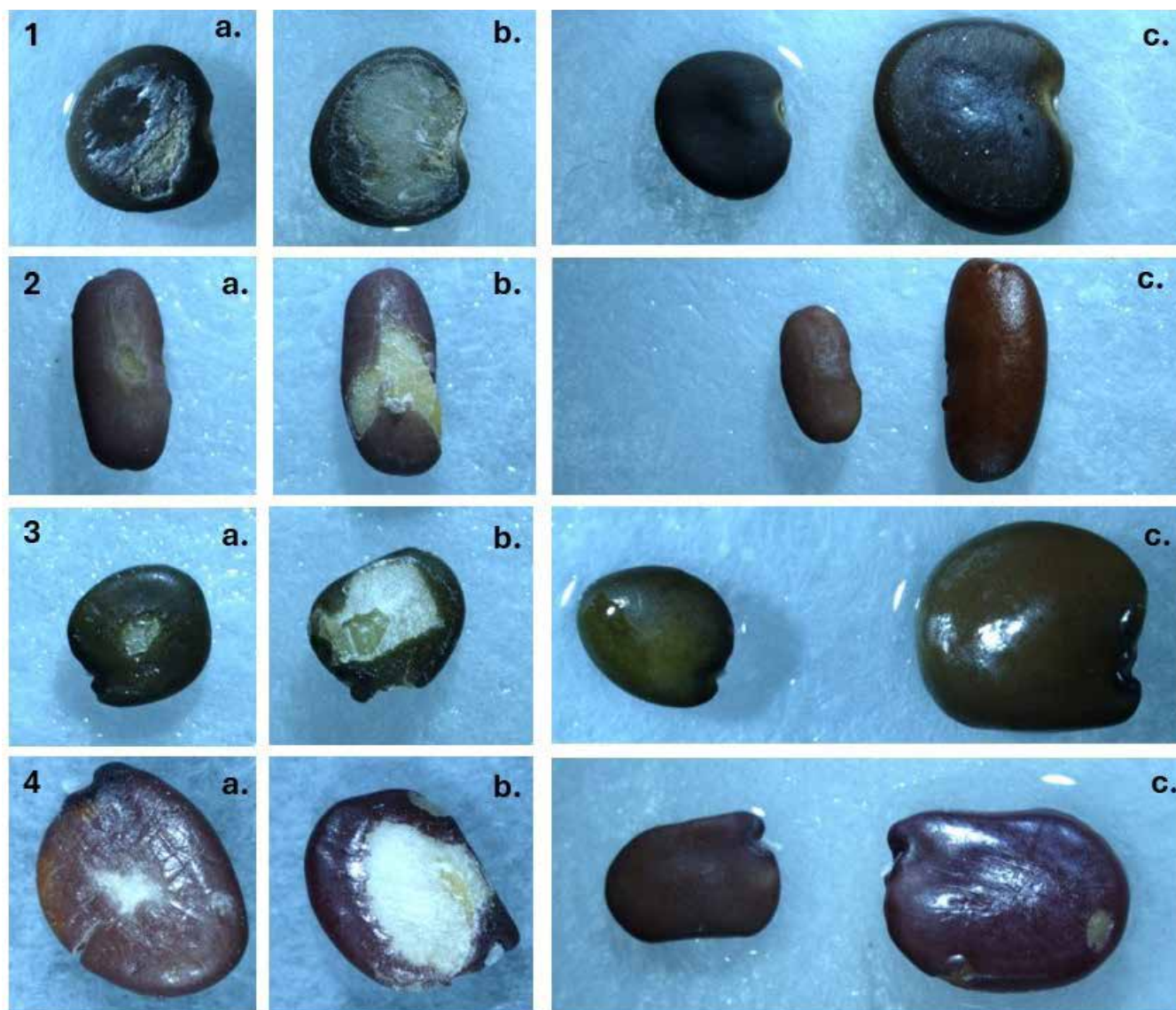


Figura 1. Detalle del estado de las semillas tras aplicar diferentes tratamientos de escarificación en cuatro especies de *Fabaceae*. En cada fila (1 a 4) se representan, respectivamente, *Colutea brevislata*, *Coronilla glauca*, *Genista scorpius* y *Spartium junceum*. a) Escarificación tipo I. b) Escarificación tipo II. c) Comparación en la capacidad de hidratación entre una semilla escarificada de tipo I y por lo tanto con una testa íntegra e impermeable (izquierda), y una escarificada de tipo II, visiblemente hinchada tras la imbibición (derecha). (Fotos: Natalia Celaya-Rojas)

Tabla 1. Procedencia, fecha de recolección e incremento de peso calculado debido a la hidratación en un lote de 100 semillas ($\Delta P = P_{\text{húmedo}} - P_{\text{seco}}$) (los valores corresponden a los lotes sometidos a la escarificación tipos II y III, que consiguieron una hidratación del 100% de las semillas en ambos tratamientos). A: Alicante, GU: Guadalajara; MU: Murcia.

Especie	Localidad	Municipio (provincia)	Fecha	Δ Peso (g)
<i>Colutea brevialata</i>	Sierra Mariola	Alcoy (A)	19/07/2024	0,58
<i>Coronilla glauca</i>	Embalse de Alcorlo	La Toba (GU)	19/06/2024	1,08
<i>Genista scorpius</i>	Turquillas	Orea (GU)	17/08/2024	0,97
<i>Spartium junceum</i>	Sierra de Burete	Cehegín (MU)	12/07/2024	0,77

Tabla 2. Porcentaje de germinación (media $\pm$ error estándar) en semillas viables sometidas al ensayo control y tras los pretratamientos de escarificación mecánica descritos. El valor p corresponde a la prueba t de Student realizada entre el control y los diferentes tratamientos de escarificación dentro de cada especie. En negrita se indican las comparaciones con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Especie	Control	Escarificación tipo I	p- valor	Escarificación tipo II	p- valor	Escarificación tipo III	p- valor
<i>Colutea brevialata</i>	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1	94 $\pm$ 0,9	< 0,001	0 $\pm$ 0	1
<i>Coronilla glauca</i>	6 $\pm$ 1,4	7 $\pm$ 0,5	0,75	100 $\pm$ 0	< 0,001	0 $\pm$ 0	< 0,001
<i>Genista scorpius</i>	31 $\pm$ 0,9	30 $\pm$ 0	0,60	100 $\pm$ 0	< 0,001	0 $\pm$ 0	< 0,001
<i>Spartium junceum</i>	14 $\pm$ 1,7	15 $\pm$ 1	0,82	51 $\pm$ 0,8	< 0,001	0 $\pm$ 0	< 0,001

Después de aplicar los distintos tratamientos de escarificación a los diferentes lotes de semillas, se evaluó la capacidad de hidratación, incluyendo el lote control. Para ello, se pesaron en una balanza para obtener el dato de peso seco y se sumergieron en agua destilada durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se retiró el exceso de agua superficial con papel secante y se volvieron a pesar para obtener el peso húmedo.

Ensayo de germinación

Como variable respuesta para comprobar la eficacia de los diferentes métodos de escarificación, cada lote de 100 semillas fue dividido en cuatro réplicas de 25 unidades ($n=25$). Cada uno de estos sublotos se colocó en una placa de Petri de 140 mm de diámetro, sobre una doble capa de papel de filtro estéril humedecido con agua destilada, y se selló con Parafilm para mantener la humedad y prevenir la contaminación. Seguidamente, las placas se sometieron durante 4 semanas a un régimen diario de temperatura alterna de 20°C/7°C en el interior de una cámara de germinación (IBERCEX, modelo F-4, Madrid). Este régimen se corresponde con la temperatura media de las máximas y media de las mínimas de octubre/abril en la zona de procedencia de las semillas (Santiago *et al.*, 2013). La alternancia de temperaturas en la cámara de germinación se simultaneó con un ciclo de luz/oscuridad 12h/12h (luz 1350 lúmenes), en el que la fase de luz se hizo coincidir con la temperatura de 20°C y la de oscuridad con la temperatura de 7°C. Las placas se revisaron diariamente durante el fotoperiodo de luz, anotando y retirando las semillas que habían germinado. Se asumió que una semilla había germinado cuando su radícula había protruido la cubierta externa, al menos, en 1 mm de longitud (Baskin y Baskin, 2014).

Análisis estadístico

Para los ensayos de germinación, se calcularon los porcentajes acumulados a lo largo de las cuatro semanas del experimento. Estos porcentajes se expresaron en relación con el número de semillas viables, determinado mediante una prueba de corte (Celaya-Rojas *et al.*, 2024).

A partir de las cuatro réplicas de 25 semillas por tratamiento (control y escarificación) para cada especie, se calcularon la media y el error estándar. Posteriormente, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, con el objetivo de comprobar la normalidad de los datos.

Una vez que se cumplió el supuesto de normalidad, se empleó una prueba t de Student para muestras independientes, con el fin de evaluar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el entorno de programación R (R 4.5.1, 2025).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos durante el ensayo de hidratación fueron cuantificados mediante el incremento de peso húmedo respecto al peso seco de cada lote. Estos datos revelaron que únicamente dos de los tratamientos de escarificación de los tres ensayados mostraron diferencias en cuanto a la capacidad de hidratación respecto al control. El lote sometido a escarificación tipo I no presentó variación frente a la hidratación obtenida en el control. En este sentido, cabe destacar que *C. brevialata* no mostró capacidad de hidratación en el control ni en la escarificación tipo I, aunque sí se constató un porcentaje de hidratación del 6%, 31 % y 14 % en *C. glauca*, *G. scorpius* y *S. junceum*. En el caso de los lotes con escarificación tipo II y III se mostraron incrementos de peso debido a la hidratación en todas las semillas del lote (Tabla 1). Esto muestra la superación de la impermeabilidad de la testa que le confiere su tegumento, característica que ha sido relacionada con la acción de genes que regulan la acumulación de lípidos de cadena larga en la cubierta seminal (Jayasuriya *et al.*, 2013; Wen *et al.*, 2024).

En los ensayos de germinación, tanto el control como el lote con escarificación tipo I presentaron porcentajes de germinación en tres de las cuatro especies (Tabla 2), coincidentes con las semillas que lograron hidratarse y resultaron viables. Este resultado sugiere que las semillas capaces de germinar sin tratamiento previo carecen de latencia física, debido a

que su testa es naturalmente permeable al agua. En la escarificación tipo II, estos porcentajes fueron significativamente superiores a los demás tratamientos ($p < 0,05$) (Tabla 2), los cuales se sitúan dentro del rango reportado en la literatura, entre 34% (Garduza-Acosta *et al.*, 2019) y 99% (Kheloufi *et al.*, 2019). Por el contrario, la escarificación tipo III produjo valores nulos de germinación en las cuatro especies (Tabla 2), lo que indica un daño directo en las estructuras del eje embrionario y cotiledones. Así, se establece que la escarificación tipo I resulta insuficiente, al no superar los valores del control (Tabla 2), mientras que la escarificación tipo III es excesiva, causando daños evidentes en las estructuras seminales (Kimura & Islam, 2012; Rusdy, 2017). Por tanto, los resultados demuestran que la escarificación tipo II constituye el tratamiento óptimo para maximizar la germinación, ya que la superación de esta latencia física fue prácticamente total en tres especies: *C. breviaolata*, *C. glauca* y *G. scorpius* (Tabla 2).

En consecuencia, se puede concluir que hay tres situaciones distintas (Tabla 2): 1) *C. breviaolata* presenta exclusivamente semillas con latencia física que requieren un tratamiento de escarificación tipo II para superarla; 2) *C. glauca* y *G. scorpius* presentan un porcentaje de semillas con latencia física, así como una proporción de semillas no latentes que germinan en el control sin necesidad de tratamiento; 3) *S. junceum* presenta semillas con latencia física y un porcentaje de semillas no latentes, sin embargo, la germinación fue parcial incluso después del tratamiento óptimo de escarificación tipo II, alcanzando únicamente el 51 % (Tabla 2). Estos resultados en *S. junceum* sugieren que esta proporción de semillas viables y permeables que no germinan, muestran una latencia combinada, al presentar simultáneamente un tegumento impermeable que impide la hidratación (latencia física) y mecanismos internos que bloquean la germinación incluso tras la absorción de agua (latencia fisiológica), coincidiendo con lo concluido sobre esta especie por Taghizadeh & Sajadi (2023). Por lo tanto, el tratamiento de escarificación de tipo II presentado en este estudio, se muestra totalmente eficaz para superar la latencia física en estas especies, pero en el caso de *S. junceum* podrían ser necesarios tratamientos adicionales, como la estratificación térmica, para romper la componente fisiológica de la latencia y maximizar la germinación (Kissing Kucek *et al.*, 2020).

Conclusiones

Los resultados de este estudio validan el uso del método presentado de escarificación mecánica de tipo II descrito en el apartado de metodología, pues demuestra ser un tratamiento efectivo para superar la latencia física impuesta por la impermeabilidad de la testa de las semillas en todas las especies estudiadas (*Colutea breviaolata*, *Coronilla glauca*, *Genista scorpius* y *Spartium junceum*). La aplicación de este método facilitó la degradación suficiente de la testa como para permitir la hidratación de la semilla sin comprometer la integridad de sus tejidos internos, como el eje embrionario y cotiledones. Esto no ocurrió para la escarificación de tipo I, ya que no se consiguió esta hidratación, así como en la escarificación de tipo III resultó ser excesiva, traducándose en una germinación nula.

Los resultados obtenidos en este trabajo pueden tener importantes implicaciones para la estandarización de protocolos de rotura de latencia física para la germinación y la producción de plántulas necesarias para su reintroducción en hábitats degradados o en situación de riesgo, en el caso de semillas con este tipo de latencia. Además, el interés de este trabajo se incrementa, dado que las especies estudiadas están incluidas en catálogos regionales de especies amenazadas o bien se consideran prioritarias para la conservación y el uso sostenible de los recursos genéticos forestales, por lo que su propagación *ex situ* asistida y los programas orientados a su restauración ecológica resultan fundamentales para promover la resiliencia de los ecosistemas mediterráneos.

Agradecimientos

Natalia Celaya Rojas disfruta de un contrato como personal I+D+i, en el Instituto Botánico de la Universidad de Castilla-La Mancha, con cargo al Programa Investigo, del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia (NextGenerationEU; Unión Europea), implementado por el Ministerio de Trabajo y Economía Social de España, mediante el cual desarrolla su trabajo de investigación en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Castilla-La Mancha.

Bibliografía

- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination* (2ª Ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-00597-X>
- Celaya-Rojas, N., Santiago, A., Ferrandis, P., & Herranz, J. M. (2024). Evaluación de viabilidad en semillas del género *Sideritis* tras diez años en banco de germoplasma. *Conservación Vegetal*, 28, 22-26. <https://doi.org/10.15366/cv2024.28.005>
- Garduza-Acosta, B., Lagunes-Espinoza, L. C., Bautista-Muñoz, C. C., García-de-Los-Santos, G., Zaldivar-Cruz, J. M., & Hernández-Flores, A. (2019). Germination of *Crotalaria* and *Lupinus* (Fabaceae) seeds submitted to different pre-germination treatments and their effect on enzymatic activity during early germination. *Brazilian Journal of Biology*, 80, 23-29. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.185813>
- Govaerts, R. (2025). *World Checklist of Vascular Plants (WCVP)* [Base de datos]. Royal Botanic Gardens, Kew. <https://doi.org/10.15468/6h8ucr>
- Jara-Peña, E., & Marín-Bravo, M. (2023). The role of the internal structure of Fabaceae seeds in the processes of dormancy and germination. En M. Hasanuzzaman (Ed.), *Production and utilization of legumes: Progress and prospects* (pp. 1-14). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109627>
- Jayasuriya, K. G., Wijetunga, A. S., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2013). Seed dormancy and storage behaviour in tropical Fabaceae: a study of 100 species from Sri Lanka. *Seed Science Research*, 23(4), 257-269. <https://doi.org/10.1017/S0960258513000214>
- Kheloufi, A., Boukhatem, F. Z., Mansouri, L. M., & Djelilate, M. (2019). Maximizing seed germination in five species of the genus *Acacia* (Fabaceae Mimosaceae). *Reforesta*, 7, 15-23. <https://doi.org/10.21750/REFOR.7.02.64>
- Kimura, E., & Islam, M. A. (2012). Seed scarification methods and their use in forage legumes. *Research Journal of Seed Science*, 5(2), 38-50. <https://doi.org/10.3923/rjss.2012.38.50>
- Kissing Kucek, L., Azevedo, M. D., Eagen, S. S., Ehlike, N. J., Hayes, R. J., Mirsky, S. B., ... & Riday, H. (2020). Seed dormancy in hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) is influenced by genotype and environment. *Agronomy*, 10(11), 1804. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111804>
- Lewis, G. P., Schrire, B., Mackinder, B., & Lock, M. (2005). *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens.
- Rusdy, M. (2017). A review on hardseedness and breaking dormancy in tropical forage legumes. *Livestock Research for Rural Development*, 29(12), 1-8.
- Santiago, A., Herranz, J.M. & Ferrandis, P. (2013). El Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Castilla-La Mancha: implicaciones para la conservación *ex situ* de flora silvestre. *Sabuco: Revista de Estudios Albacetenses*, 9, 95-111.
- Taghizadeh, M., & Sajadi, F. S. (2023). Effects of dormancy breaking methods on germination of *Cercis siliquastrum* and *Spartium junceum* and seedling growth. *Ornamental Horticulture*, 29, 28-36. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i1.2528>
- Wen, Z., Lu, X., Wen, J., Wang, Z., & Chai, M. (2024). Physical seed dormancy in legumes: Molecular advances and perspectives. *Plants*, 13(11), 1473. <https://doi.org/10.3390/plants13111473>