

# Efecto de la escarificación húmeda y seca en la capacidad germinativa de las semillas de *Albizia lebbeck* (L.) Benth.

## Effect of moist and dry scarification on the germination capacity of seeds from *Albizia lebbeck* (L.) Benth.

Marlen Navarro<sup>1</sup>, G. Febles<sup>2</sup>, Verena Torres<sup>2</sup> y Aida Noda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”

Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba

E-mail: marlen.navarro@indio.atenas.inf.cu

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba

### Resumen

Con el objetivo de favorecer la germinación en semillas de *A. lebbeck* almacenadas en condiciones ambientales, se evaluaron diferentes métodos presiembra mediante un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial  $4 \times 13$  y  $3 \times 13$  para la escarificación húmeda y la seca, respectivamente. En la escarificación húmeda se halló interacción significativa entre los factores estudiados ( $P<0,001$ ). No se encontraron diferencias estadísticas entre el ácido y el agua caliente, en las semillas evaluadas a 1, 3, 6 y 7 mdia; mientras que estas mismas evaluaciones fueron estadísticamente diferentes al control y en todos los casos los valores resultaron inferiores a este último. La totalidad de las evaluaciones del remojo y el control no fueron significativas entre sí, mientras que difirieron del agua caliente y el ácido. En la escarificación seca la capacidad germinativa mostró interacción significativa ( $P<0,001$ ). Los valores más altos se reportaron en 1, 2 y 3 mdia en semillas con un corte; estos porcentajes no difirieron entre ellos, pero sí del resto. Al comparar el corte con el pinchazo, se presentó un comportamiento estadísticamente diferente; en todas las evaluaciones los valores inferiores fueron los del pinchazo. Es necesario resaltar la eficacia del corte de cubierta y el remojo durante 24 horas en agua a temperatura ambiente como tratamientos de escarificación seca y húmeda, respectivamente, a pesar de los resultados aceptables mostrados por el control.

Palabras clave: *Albizia lebbeck*, almacenamiento, escarificación, germinación

### Abstract

With the objective of favoring germination in *A. lebbeck* seeds stored under ambient conditions, different pre-planting methods were evaluated by means of a completely randomized design with  $4 \times 13$  and  $3 \times 13$  factorial arrangement for moist and dry scarification, respectively. In moist scarification significant interaction was found among the studied factors ( $P<0,001$ ). No statistical differences were observed between the acid and the hot water, in the seeds evaluated at 1, 3, 6 and 7 mos; while the same evaluations were statistically different from the control and in all cases the values were lower than the latter. All the soaking and control evaluations were not significant among themselves, while they differed from the hot water and the acid. In the dry scarification the germination capacity showed significant interaction ( $P<0,001$ ). The highest values were reported in 1, 2 and 3 mos in seeds with one cut; these percentages did not differ among themselves but they did differ from the others. When comparing the cut with the puncture, a statistically different behavior was observed; in all the evaluations the lowest values were those of the puncture. It is necessary to emphasize the efficacy of the seed coat cut and the soaking for 24 hours in water at ambient temperature as dry and moist scarification treatments, respectively, in spite of the acceptable results shown by the control.

Key words: *Albizia lebbeck*, germination, scarification, storage

### Introducción

La germinación se define como aquellos eventos que se inician con la captación de agua por la semilla y finalizan con la elongación de los ejes embrionarios y la penetración de la radícula por las estructuras que rodean el embrión (Bewley, 1997). Según Besnier (1965) la aparición de la radícula a través de las cubiertas seminales es el primer indicio visible de la germinación. Esta marca la transición desde un estado dependiente de la fuente de nutrientes (planta madre) hacia un germen independiente, capaz de tomar las sustancias minerales y crecer por sí solo; por ello la germinación conforma el eslabón final del proceso de manipulación de la semilla.

Para un amplio número de especies las semillas intactas no germinan cuando se les brindan las condiciones que normalmente favorecen el proceso germinativo (Cohn, 2006) y éstas pueden ser: humedad adecuada (agua), régimen apropiado de temperaturas, una atmósfera normal (oxígeno) y en algunos casos la luz (Hilhorst y Toorop, 1997). A este fenómeno en la fisiología de las plantas se le denomina con el término dormancia. Diversos esquemas para la clasificación de la dormancia se publicaron internacionalmente. Los más notables son los de Harper (1977), Nikolaeva (1969, 1977) y Lang (1987).

Dentro de la inmensa diversidad biológica que ofrecen las regiones tropicales, se encuentra la leñosa perenne *Albizia lebbeck* (L.) Benth. Diferentes estudios en Cuba (Febles y Ruiz, 2008) ratifican sus bondades como árbol multipropósito, por lo que se ha comenzado a utilizar en sistemas agroforestales para la producción animal.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la aplicación de diferentes métodos de escarificación húmeda y seca para favorecer la germinación, al emplear semillas de *A. lebbeck* almacenadas en condiciones ambientales.

### Materiales y Métodos

Para el estudio de la germinación de las semillas se empleó un diseño completamente aleatorizado, con arreglo factorial 4 x 13 en el caso de la escarificación húmeda y 3 x 13 en la escarificación seca, en el que los factores estuvieron determinados por los métodos presiembra y los tiempos de almacenamiento.

A intervalos mensuales, en el momento de la siembra se aplicaron los métodos de escarificación que se relacionan en la tabla 1. La frecuencia de evaluación fue: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 meses de iniciado el almacenamiento (mdia), en cada uno de los tres años consecutivos, para lo cual se cosecharon semillas de la misma plantación progenitora.

Tabla 1. Métodos de escarificación empleados antes de la siembra en el vivero.

Table 1. Scarification methods used before planting in the nursery.

Escarificación	Método	Procedimiento
Húmeda	Ácido	Exposición a $H_2SO_4$ al 96% de concentración durante 15 minutos
	Agua caliente	Immersion en $H_2O$ a 80°C durante 3 minutos
	Remojo	Immersion en $H_2O$ a temperatura ambiente durante 24 horas
	Control	Sin tratamiento
Seca	Pinchazo	Pinchazo con aguja entomológica en la región dorsiventral de la semilla
	Corte de cubierta	Corte ligero de la cubierta seminal en la zona opuesta al embrión
	Control	Sin tratamiento

Para las determinaciones de germinación se emplearon en cada evaluación 400 semillas, distribuidas en cuatro repeticiones (ISTA, 1999). Se realizaron conteos diarios durante 21 días y el riego fue a saturación.

Se interpretó la germinación como la capacidad de las estructuras fundamentales del embrión para iniciar el crecimiento, en términos visuales el momento de la aparición de la radícula (Côme, 1970).

### Procesamiento estadístico de los resultados

Se realizó análisis de varianza según modelo de clasificación simple, en arreglo factorial 4 x 13 para la escarificación húmeda y 3 x 13 para la escarificación seca. Los datos se transformaron según Arcsen $\sqrt{(\%+0,375)}$ ; se utilizó la dócima de comparación múltiple de Duncan (1955) y las diferencias fueron declaradas significativas a valores de  $p<0,05$ . El procesamiento estadístico se llevó a cabo mediante el programa InfoStat versión 1.0 (Rienzo *et al.*, 2001).

## Resultados y Discusión

Se encontró interacción significativa entre los factores estudiados ( $P<0,001$ ) para la variable germinación (tabla 2).

Tabla 2. Germinación de las semillas de *A. lebbeck* (%) después de la escarificación húmeda.

Table 2. Germination of *A. lebbeck* seeds (%) after moist scarification.

Meses	Ácido	Agua	Remojo	Control
0	38,22 qrs (40,33)	29,62 klmnopqrs (30,00)	32,54 nopqrs (29,00)	38,85 rs (39,00)
1	11,06 abcde (3,00)	11,06 abcde (4,33)	36,38 pqrs (34,83)	40,85 s (42,33)
2	28,48 ijklmnopqr (24,67)	4,30 a (0,33)	37,36 pqrs (36,33)	35,81 pqrs (33,67)
3	17,02 bcdefghi (8,33)	15,36 abcdefgh (11,00)	37,24 pqrs (36,67)	37,24 pqrs (36,33)
4	35,64 pqrs (35,00)	32,37 mnopqrs (28,67)	29,51 klmnopqrs (25,33)	31,23 lmnopqrs (26,67)
5	17,48 cdefghij (8,67)	14,90 abcdefg (6,33)	33,52 opqrs (30,33)	27,79 ijklmnopqr (21,67)
6	11,29 abcde (3,67)	8,02 abc (2,00)	33,63 opqrs (30,33)	33,98 opqrs (31,00)
7	11,34 abcdef (4,33)	9,63 abcd (3,00)	25,90 ghijklmnop (19,67)	27,50 ijklmnopqr (21,33)
8	26,93 hijklmnopqr (22,00)	20,51 defghijklm (13,33)	23,09 fghijklmno (16,00)	22,52 efghijklmno (14,67)
9	27,96 ijklmnopqr (22,00)	14,61 abcdefg (9,33)	20,05 defghijkl (11,67)	19,37 cdefghijkl (10,67)
10	26,36 ghijklmnopq (20,00)	13,18 abcdef (6,67)	20,45 defghijkl (12,00)	18,33 cdefghijk (9,67)
11	29,34 jklmnopqrs (26,33)	5,16 a (0,67)	20,91 defghijklmn (12,33)	20,51 defghijklm (12,67)
12	28,76 ijklmnopqr (24,67)	5,73 ab (1,00)	20,63 defghijklm (12,33)	21,03 defghijklm (12,67)
EE ( $\pm$ )		0,060		
Sign		P<0,001		

Los valores ( ) corresponden a las medias de los datos originales.

Medias con la misma letra no difieren entre sí, según Duncan (1955)

El porcentaje más alto (40,85%) se obtuvo en el control con semillas sembradas a un mes de iniciado el almacenamiento (1 mdia). No obstante, según el test de Duncan ( $p<0,05$ ) éste no difirió de los valores registrados por las semillas recién cosechadas (0 mdia) ni de 4 mdia en ninguno de los cuatro métodos presiembra (se incluye el control). Tampoco difirió de las germinaciones en el intervalo de 0 a 6 mdia para las semillas que previamente se mantuvieron por 24 horas en remojo en agua a temperatura ambiente, ni del control. Resulta necesario aclarar que en el intervalo anterior, el valor que se reportó a los 5 mdia en el control (27,79%) difirió del más alto obtenido en el estudio, no así del resto de las evaluaciones mencionadas. Esto expresa el comportamiento de la interacción.

En los métodos presiembra no se encontraron diferencias estadísticas entre el ácido y el agua caliente en las semillas evaluadas a 1, 3, 6 y 7 mdia; mientras que estos mismos tratamientos (métodos y meses) fueron estadísticamente diferentes al control y en todos los casos con valores inferiores a este último, lo que podría interpretarse como una posible afectación del ácido y el agua caliente al embrión, expresada en la germinación hasta los 7 mdia.

Resultados similares fueron informados por Toral y Machado (2002) en 76 especies arbóreas en las que el agua caliente (80°C) no fue un tratamiento efectivo para estimular el proceso germinativo.

Asimismo, es posible que las respuestas irregulares del agua caliente para estimular la germinación de *A. lebbeck* estén vinculadas estrechamente a que en este estudio la temperatura del agua (80°C) estuvo por encima de lo requerido para la detonación del proceso germinativo en esta especie. En estudios dirigidos por Smith *et al.* (2003) se determinó que las semillas de árboles como *Celtis africana*, *Cordia sinensis* y *Melia volkensii* requieren remojo en agua a 40°C.

Otra posible explicación es que en muchas especies que responden bien al agua caliente, la germinación decrece con el incremento del tiempo de exposición a dicho tratamiento (Teketay, 1996). Es válido recordar que en el presente experimento el tiempo de inmersión fue de tres minutos y de acuerdo con lo informado por Kannan *et al.* (1996), el método es más efectivo cuando el tiempo de inmersión es breve, ya que evita los daños en el embrión.

En este sentido, Albrecht (1993) reportó que la inmersión en agua a 90°C por un minuto produjo buenos resultados en la capacidad germinativa de *Acacia mearnsii* y *Acacia melanoxylon*; mientras que 30 segundos de remojo de las semillas de *Acacia mangium* en agua a altas temperaturas mantuvo la dormancia por cubierta dura (Bowen y Eusebio, 1981).

El agua caliente como tratamiento no indujo germinación en las semillas de *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *Depilatum* (Cirak *et al.*, 2007), pero el agua a temperatura ambiente fue efectiva.

En la literatura aparecen reportes que coinciden con los resultados del presente experimento. En las semillas de *Cratylia argentea* la inmersión en ácido no favoreció la germinación con relación al testigo, al causar la muerte de un alto porcentaje de éstas (Sanabria *et al.*, 2004); se observó que la exposición al ácido provocó la completa eliminación del tegumento, lo que posiblemente causara daños al embrión y, como consecuencia, se elevó el porcentaje de semillas muertas.

Algunos reportes indican al ácido sulfúrico como una solución para la eliminación de la dormancia en determinadas especies de leguminosas tropicales y subtropicales (Fariñas *et al.*, 1997; CATIE, 2000a; Smith *et al.*, 2003; Sanabria *et al.*, 2004).

Otros aspectos que merecen ser discutidos y que apoyan la agresividad del agua caliente y el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> es que la germinación en el control fue superior, en muchos casos, a la de los dos métodos señalados. Además, lo mismo sucedió con los resultados del remojo, en comparación con estos pretratamientos. A ello se añade que la totalidad de las evaluaciones del remojo y el control no fueron significativas entre sí; mientras que difirieron de los métodos del agua caliente y el ácido.

Por otro lado, la región hiliar y el pleurograma son puntos relativamente débiles de la cubierta seminal, lo cual ha sido descrito con exactitud por Schmidt (2000); debido a ello son las zonas que más tienden a convertirse en permeables durante los pretratamientos (Kannan *et al.*, 1996). En la especie *A. lebbeck* el pleurograma ocupa alrededor del 90% de la superficie seminal. Esta podría ser una de las explicaciones para entender el mecanismo de acción del remojo en agua por 24 horas, ya que a diferencia del resto de los métodos presiembra evaluados, el remojo no ocasiona agresión a la integridad de la simiente ni a su corteza seminal; dicha condición es indispensable para provocar la ruptura de la dormancia en semillas de árboles tropicales y, por consiguiente, la aparición de la radícula.

Sin embargo, al estudiar diferentes métodos de escarificación para las simientes de *Cassia tormentosa* y *Cassia xiphoides*, Soto Pinto (1996) reportó que el remojo en agua a temperatura ambiente provocó bajos porcentajes de germinación.

Los beneficios del remojo en agua desde dos hasta 48 horas fueron reportados por Smith *et al.* (2003) para mejorar la germinación de muchas especies de árboles tropicales, como *A. mearnsii*, *A. melanoxylon*, *Acacia nilotica*, *Adenanthera microsperma*, *Albizia amara*, *Albizia procera*, *Grevillea robusta*, *Trewia nudiflora* y *Pinus caribaea*; y por CATIE (2000b) para *Samanea saman*, *Erythrina poeppigiana*, *Leucaena salvadorensis*, *Pithecellobium dulce* y *Stryphnodendron microstachyum*.

La tabla 3 muestra la interacción significativa ( $P<0,001$ ) en la germinación, por el efecto combinado de los métodos presiembra en la escarificación seca y los meses de almacenamiento. Los valores más altos se

encontraron en las evaluaciones 1, 2 y 3 mdia (59,59; 67,04 y 59,87%, respectivamente) con semillas que recibieron un corte en la cubierta antes de la siembra; estos porcentajes no difirieron entre ellos, pero sí del resto de las determinaciones.

Tabla 3. Germinación de las semillas de *A. lebbeck* (%) después de la escarificación seca.

Table 3. Germination of *A. lebbeck* seeds (%) after the dry scarification.

Meses	Pinchazo	Corte	Control
0	21,68 abcdefgh (14,33)	50,71 o (39,00)	38,85 lmn (39,00)
1	23,40 bcdefghi (16,00)	59,59 p (73,33)	40,85 mn (42,33)
2	23,30 bcdefghi (17,00)	67,04 p (81,67)	35,81 jklmn (33,67)
3	34,57 jklmn (32,67)	59,87 p (73,67)	37,24 klmn (36,33)
4	27,60 efghij (22,50)	41,73 n (44,33)	31,23 hijkl (26,67)
5	26,74 defghij (20,33)	51,66 o (60,33)	27,79 efghij (21,67)
6	23,59 cdefghi (16,33)	50,80 o (59,67)	33,98 jklmn (31,00)
7	18,72 abcde (11,33)	42,30 n (45,83)	27,50 defghij (21,33)
8	19,39 abcde (12,67)	29,60 ghijkl (24,67)	22,52 abcdefgh (14,67)
9	16,42 abc (8,33)	27,60 efghij (21,67)	19,37 abcde (10,67)
10	16,23 abc (8,00)	29,51 fghijkl (24,33)	18,33 abcd (9,67)
11	13,56 a (5,67)	32,28 ijkln (29,67)	20,51 abcdef (12,67)
12	14,13 ab (6,00)	28,93 fghijk (24,67)	21,03 abcdefg (12,67)
EE ( $\pm$ )		0,048	
Sign.		P<0,001	

Los valores ( ) corresponden a las medias de los datos originales.

Medias con la misma letra no difieren entre sí, según Duncan (1955).

Al comparar los resultados de la germinación de las semillas que previamente recibieron un corte de cubierta y las del grupo control, se observó que a excepción de 8, 9 y 12 mdia el resto de las evaluaciones difirieron según el test de Duncan ( $p<0,05$ ) y las diferencias siempre estuvieron a favor del corte de cubierta, es decir, este método permitió a las semillas de albizia aumentar los porcentajes de germinación o lo que es lo mismo: rebasar el estado dormante o favorecer un contacto más rápido de las estructuras embrionarias con el agua y el oxígeno ambiental. Resulta oportuno aclarar que al comparar el corte con el pinchazo, la germinación fue estadísticamente diferente. En todos los casos la variable objeto de análisis se mantuvo en valores inferiores para el pinchazo, y a su vez este último método sólo difirió del control en las evaluaciones realizadas a 0, 1, 2 y 6 mdia, también con valores inferiores.

Estos resultados coinciden con los informados por Poulsen y Thomsen (1999), Taylor (2003) y Turner *et al.* (2005), quienes afirmaron que la destrucción de la impermeabilidad en un punto único de la cubierta seminal es normalmente suficiente para permitir la imbibición y el intercambio de gases.

En un estudio realizado por González y Navarro (2001) en *A. lebbeck*, para medir la germinación en condiciones de laboratorio, también se encontraron los valores superiores con el corte de cubierta

(96,8%), con la diferencia de que en el citado estudio el máximo valor correspondió al inicio del almacenamiento, es decir a los 0 mdia.

Grus *et al.* (1984), Torres y Santos (1994), Bush *et al.* (1997), CATIE (2000b) y Willan (2000) han reportado resultados similares en otras especies.

En ensayos con ocho especies de *Acacia* spp. en Australia y Tailandia el corte fue uno de los mejores tratamientos, con valores de 90 vs 10% en el testigo. Con este método también se reportaron altos valores de germinación en dos especies endémicas de Kenya, de corteza dura: *Acacia xanthophloea* y *Trachylobium verrucosum*; mientras que en Zimbabwe *Acacia albida* presentó más del 90% (Schmidt, 1988; Masamba, 1994).

Una valoración general de los resultados permite concluir que al analizar el comportamiento de la germinación, desde el inicio del almacenaje hasta los 7 mdia, se apreció una afectación debido al H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y al agua caliente, lo cual apoya el criterio acerca de la agresividad de ambos métodos presiembra al embrión; mientras que su efecto fue beneficioso entre 8 y 12 mdia, lo que pudo estar asociado a una mayor impermeabilización de las cubiertas seminales como resultado del aumento de la edad fisiológica de las simientes y las condiciones del almacén.

Aunque el remojo por 24 horas en agua a temperatura ambiente no provocó aumento ni disminución en la capacidad germinativa de las semillas, se deduce que dicho método ofrece determinadas posibilidades para ser considerado como una alternativa de escarificación húmeda en *A. lebbeck*. Se debe resaltar la eficacia del corte de cubierta como un método para la escarificación seca, a pesar de los resultados aceptables mostrados por el control. Es necesario mencionar que el corte debe ser realizado cuidadosamente para no dañar las semillas.

### Referencias bibliográficas

- Albrecht, J. 1993. Tree seed handbook of Kenya. Nairobi, Kenya: Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit/Kenya Forestry Seed Centre Maguga, Kenya Forestry Research Institute. 264 p.
- Besnier, F. 1965. Semillas: biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 394 p.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 9:1055
- Bowen, M.R. & Eusebio, T.V. 1981. *Acacia mangium*: updated information on seed collection, handling, and germination testing. Occasional technical and scientific notes, Seed Series 5. FAO/UNDP-MAL/78/009. Forest Research Centre. Sandakan, Sabah, Indonesia. 26 p.
- Bush, M.S. *et al.* 1997. Viabilidad de las semillas pretratadas de *Caesalpinia cyclocarpa* (J.) Griseb y *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales*. 16:8
- CATIE. 2000a. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 39. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. 54 p.
- CATIE. 2000b. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Volumen 1. Serie Técnica. Manual Técnico No. 41. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. 204 p.
- Cirak, C. *et al.* 2007. Breaking of seed dormancy in a Turkish endemic *Hypericum* species: *Hypericum aviculariifolium* subs. *depilatum* var. *depilatum* by light and some pre-soaking treatments. *Journal of Arid Environments*. 68:159
- Cohn, M.A. 2006. Dormancy: an overview. In: The Encyclopedia of seeds: science, technology and uses (Eds. J.D. Bewley *et al.*). CABI Publishing. Wallingford, UK
- Côme, D. 1970. Les obstacles à la germination. Masson et Cie éditeurs, Paris. 162 p.
- Fariñas, J.D. *et al.* 1997. Escarificación química de semillas de tres especies de *Centrosema* para sabanas bien drenadas. *Zootecnia Tropical*. 15 (2):221
- Febles, G. & Ruiz, T.E. 2008. Evaluación de especies arbóreas para sistemas silvopastoriles. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 12:4

- González, Yolanda & Navarro, Marlen. 2001. Efecto de los tratamientos pregerminativos sobre la ruptura de dormancia en *Albizia lebbeck*. *Pastos y Forrajes*. 24:225
- Grus, V.M. et al. 1984. Germinação de sementes de pau-ferro e cássia-javanesa submetidas a tratamentos para quebra de dormência. *Rev. Bras. Sem.* 6 (2):29
- Harper, J.L. 1977. Population biology of plants. Academic Press, New York. 892 p.
- Hilhorst, H.W.M. & Toorop, P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Advances in Agronomy*. 61:111
- ISTA. 1999. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 27. Supplement.
- Kannan, C.S. et al. 1996. Seed dormancy and pre-treatments to enhance germination in select *Albizia* species. *Journal of Tropical Forest Science*. 8:369
- Lang, G.A. 1987. Dormancy: A new universal terminology. *HortScience*. 22:817
- Masamba, C. 1994. Presowing treatments on four African *Acacia* species: appropriate technology for use in forestry for rural development. *Forest Ecology and Management*. 64:105
- Nikolaeva, M.G. 1969. Physiology of deep dormancy in seeds. Leningrad, Russia, Izdatel'stvo 'Nauka'. (Traducción al Inglés por Z. Shapiro, National Science Foundation, Washington, DC.)
- Nikolaeva, M.G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In: The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination (A.A. Khan, Ed.). North-Holland, Amsterdam. p. 54
- Poulsen, K. & Thomsen, K. 1999. Seed handling manual. Guidelines and logbook for seed processing. DFSC Technical Note No. 54. Danida Forest Seed Centre, Denmark. 19 p.
- Rienzo, J.A. et al. 2001. InfoStat versión 1. Software estadístico. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- Sanabria, D. et al. 2004. Germinación de semillas de las leguminosas arbustivas forrajeras *Cratylia argentea* y *Cassia moschata* sometidas a inmersión en ácido sulfúrico. *Bioagro*. 16 (3):225
- Schmidt, L. 1988. A study of natural regeneration of transitional lowland rain forest and dry bushland in Kenya. MSc. Thesis. University of Aarhus. Copenhagen, Denmark. 93 p.
- Schmidt, L. 2000. Handling of tropical and subtropical forest tree seed. DFSC. Humbleback, Denmark. 511 p.
- Smith, M. et al. 2003. Dormancy and germination. In: Tropical tree seed manual. USDA Forest Service's/Reforestation Nurseries & Genetics Resources. USA. p. 149
- Soto Pinto, M.L. 1996. Escarificación de semillas de leguminosas arbustivas *Cassia tormentosa* y *C. xiphoides*. *Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales*. 14:5
- Taylor, A.G. 2003. Seed treatments. In: Encyclopedia of applied plant sciences. (Eds. B. Thomas et al.). Elsevier Acad. Press. p. 1291
- Teketay, D. 1996. Germination ecology of twelve indigenous and eight exotic multipurpose leguminous species from Ethiopia. *Forest Ecology Management*. 80:209
- Toral, O. & Machado, R. 2002. Introducción, evaluación y selección de recursos fitogenéticos arbóreos. *Pastos y Forrajes*. 25 (1):1
- Torres, S.B. & Santos, D.S.B. 1994. Superação de dormência em sementes de *Acacia senegal* (L.) Willd. e *Parkinsonia aculeate* (L.). *Rev. Bras. Sem.* 16 (1): 54
- Turner, R. et al. 2005. Physical dormancy in seeds of six genera of Australian Rhamnaceae. *Seed Sci. Res.* 15:51
- Willan, R.L. 2000. Pre-tratamiento de semillas. En: Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 39. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica

Recibido el 3 de noviembre del 2009

Aceptado el 5 de enero del 2010

## Effect of moist and dry scarification on the germination capacity of seeds from *Albizia lebbeck* (L.) Benth.

### Abstract

With the objective of favoring germination in *A. lebbeck* seeds stored under ambient conditions, different pre-planting methods were evaluated by means of a completely randomized design with 4 x 13 and 3 x 13 factorial arrangement for moist and dry scarification, respectively. In moist scarification significant interaction was found among the studied factors ( $P<0,001$ ). No statistical differences were observed between the acid and the hot water, in the seeds evaluated at 1, 3, 6 and 7 mos; while the same evaluations were statistically different from the control and in all cases the values were lower than the latter. All the soaking and control evaluations were not significant among themselves, while they differed from the hot water and the acid. In the dry scarification the germination capacity showed significant interaction ( $P<0,001$ ). The highest values were reported in 1, 2 and 3 mos in seeds with one cut; these percentages did not differ among themselves but they did differ from the others. When comparing the cut with the puncture, a statistically different behavior was observed; in all the evaluations the lowest values were those of the puncture. It is necessary to emphasize the efficacy of the seed coat cut and the soaking for 24 hours in water at ambient temperature as dry and moist scarification treatments, respectively, in spite of the acceptable results shown by the control.

*Key words:* *Albizia lebbeck*, germination, scarification, storage

### Introduction

Germination is defined as those events that begin with the capture of water by the seed and which end with the elongation of the embryonal axes and the penetration of the radicle through the structures that surround the embryo (Bewley, 1997). According to Besnier (1965) the emergence of the radicle through the seed coats is the first visible indication of germination. It marks the transition from a dependant status on the nutrient source (mother plant) to an independent organism, capable of taking mineral substances and growing on its own; for such reason, germination is the final link of the seed manipulation process.

For a large number of species intact seeds do not germinate when provided the conditions that normally favor the germination process (Cohn, 2006) and which can be: adequate moisture (water), adequate temperatures, normal atmosphere (oxygen) and in some cases light (Hilhorst and Toorop, 1997). This phenomenon in plant physiology is called dormancy. Different outlines for dormancy classification have been internationally published. The most remarkable ones are those from Harper (1977), Nikolaeva (1969, 1977) and Lang (1987).

Among the large biological diversity provided by tropical regions, is the perennial ligneous plant *Albizia lebbeck* (L.) Benth. Different studies in Cuba (Febles and Ruiz, 2008) confirm its qualities as multipurpose tree, for which it has begun to be used in agroforestry systems for animal production.

The objective of this work was to evaluate the application of different moist and dry scarification methods to favor germination, when using *A. lebbeck* seeds stored under ambient conditions.

### Materials and Methods

For the study of seed germination a completely randomized design was used, with 4 x 13 factorial arrangement in the case of moist scarification and 3 x 13 in dry scarification, in which the factors were determined by the pre-planting methods and storage times.

With monthly intervals, at the planting moment the scarification methods related in table 1 were applied. The evaluation frequency was: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 and 12 months of storage (mos), in each of the three consecutive years, for which seeds from the same parent plantation were collected.

For the germination determinations 400 seeds were used in each evaluation, distributed in four repetitions (ISTA, 1999). Daily counts were performed for 21 days and saturation irrigation was applied.

Germination was interpreted as the capacity of the main structures of the embryo to begin growth; in visual terms, the moment of radicle emergence (Côme, 1970).

### **Statistical processing of results**

A variance analysis was performed according to simple classification model, in 4 x 13 factorial arrangement for moist scarification and 3 x 13 for dry scarification. The data were transformed according to Arcsin  $\sqrt{(\%+0,375)}$ ; the multiple comparison test of Duncan (1955) was used and the differences were declared significant at values of  $p<0,05$ . The statistical processing was carried out by means of the program InfoStat version 1.0 (Rienzo *et al.*, 2001).

## **Results and Discussion**

Significant interaction was found among the studied factors ( $P<0,001$ ) for the germination variable (table 2).

The highest percentage (40,85%) was obtained in the control with seeds planted one month after the beginning of storage (1 mos). However, according to Duncan's test ( $p<0,05$ ), it did not differ from the values recorded by the newly-harvested seeds (0 mos) or from 4 mos in any of the four pre-planting methods (including the control). It differed neither from the germinations in the interval from 0 to 6 mos for the seeds that were previously maintained soaked for 24 hours in water at ambient temperature, nor from the control. It is necessary to clarify that in the previous interval, the value that was reported at 5 mos in the control (27,79%) differed from the highest one obtained in this study, unlike the rest of the above-mentioned evaluations. This expresses the performance of the interaction.

No statistical differences were found in the pre-planting methods between the acid and the hot water in the evaluated seeds at 1, 3, 6 and 7 mos; while these same treatments (methods and months) were statistically different from the control and in all the cases with lower values than the latter, which could be interpreted as a possible damage of the acid and the hot water to the embryo, expressed in germination until 7 mos.

Similar results were reported by Toral and Machado (2002) in 76 tree species in which hot water (80°C) was not an effective treatment for stimulating the germination process.

Likewise, it is possible that the irregular responses of hot water to stimulate the germination of *A. lebbeck* are closely linked to the fact that in this study the water temperature (80°C) was over the requirement for triggering the germination process in this species. In studies conducted by Smith *et al.* (2003) the seeds from such trees as *Celtis africana*, *Cordia sinensis* and *Melia volkensii* were determined to require soaking in water at 40°C.

Another possible explanation is that in many species that respond well to hot water, germination decreases with the increase of exposure to such treatment (Teketay, 1996). It is valid to remember that in this trial the immersion time was three minutes and according to the report by Kannan *et al.* (1996), the method is more effective when the immersion time is short, because it prevents damage to the embryo.

In this sense, Albrecht (1993) reported that the immersion in water at 90°C for a minute produced good results in the germination capacity of *Acacia mearnsii* and *Acacia melanoxylon*; while soaking for 30 seconds the seeds from *Acacia mangium* in water at high temperatures maintained the dormancy due to hard seed coat (Bowen and Eusebio, 1981).

Hot water as treatment did not induce germination in the seeds from *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *Depilatum* (Cirak *et al.*, 2007), but water at ambient temperature was effective.

In literature there are reports that coincide with the results in this study. In seeds from *Cratylia argentea* the immersion in acid did not favor germination with regards to the control, causing the death of a high percentage (Sanabria *et al.*, 2004); the exposure to acid was observed to cause the complete elimination of the

integument, which possibly damaged the embryo and, as a consequence, the percentage of dead seeds increased.

Some reports indicate sulfuric acid as a solution for the elimination of dormancy in certain tropical and subtropical legume species (Fariñas *et al.*, 1997; CATIE, 2000a; Smith *et al.*, 2003; Sanabria *et al.*, 2004).

Other aspects that deserve to be discussed and support the aggressiveness of hot water and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> are that germination in the control was higher, in many cases, than that of the two above-mentioned methods. In addition, the same happened with the results of soaking, as compared to these pre-treatments. To this we can add that all the evaluations of the soaking and the control were not significant among themselves; while they differed from the hot water and acid methods.

On the other hand, the hilum region and the pleurogram are relatively weak areas of the seed coat, which has been accurately described by Schmidt (2000); because of this they have the highest trend to become permeable during pre-treatments (Kannan *et al.*, 1996). In the species *A. lebbeck* the pleurogram occupies around 90% of the seed surface. This could be one of the explanations to understand the action mechanism of water soaking for 24 hours, because unlike the other evaluated pre-planting methods, soaking does not cause aggression to the integrity of the seed or its seed coat; such condition is essential for causing the breakup of dormancy in tropical tree seeds, and thus, the emergence of the radicle.

However, when studying different scarification methods for the seeds of *Cassia tormentosa* and *Cassia xiphoides*, Soto Pinto (1996) reported that soaking in water at ambient temperature caused low germination percentages.

The benefits of water soaking from two to 48 hours were reported by Smith *et al.* (2003) to improve the germination of many tropical tree species, such as *A. mearnsii*, *A. melanoxylon*, *Acacia nilotica*, *Adenanthera microsperma*, *Albizia amara*, *Albizia procera*, *Grevillea robusta*, *Trewia nudiflora* and *Pinus caribaea*; and by CATIE (2000b) for *Samanea saman*, *Erythrina poeppigiana*, *Leucaena salvadorensis*, *Pithecellobium dulce* and *Stryphnodendron microstachyum*.

Table 3 shows the significant interaction ( $P<0,001$ ) in germination, due to the combined effect of the pre-planting methods on dry scarification and the months of storage. The highest values were found in the evaluations 1, 2 and 3 mos (59,59; 67,04 and 59,87%, respectively) with seeds that received a cut in the coat before planting; these percentages did not differ among themselves, but they did differ from the other determinations.

When comparing the germination results of the seeds that previously received a coat cut and those of the control group, it was observed that except for 8, 9 and 12 mos, the other evaluations differed according to Duncan's test ( $p<0,05$ ) and the differences were always in favor of the coat cut, that is, this method allowed the *A. lebbeck* seeds to increase the germination percentages or overcome the dormant status and favor a fastest contact of the embryonal structures with environmental water and oxygen. It should be clarified that when comparing cut with puncture, germination was statistically different. In all cases the variable under analysis was maintained in lower values for the puncture, and in turn, the latter only differed from the control in the evaluations conducted 0, 1, 2 and 6 mos, also with lower values.

These results coincide with the ones reported by Poulsen and Thomsen (1999), Taylor (2003) and Turner *et al.* (2005), who stated that the destruction of impermeability in only one spot of the seed coat is normally enough to allow imbibitions and gas exchange.

In a study conducted by González and Navarro (2001) in *A. lebbeck*, to measure germination under laboratory conditions, the highest values were also found with the coat cut (96,8%), with the difference that in the cited study the highest value corresponded to the beginning of storage, that is, 0 mos.

Grus *et al.* (1984), Torres and Santos (1994), Bush *et al.* (1997), CATIE (2000b) and Willan (2000) have reported similar results in other species.

In essays with eight species of *Acacia* spp. in Australia and Thailand the cut was one of the best treatments, with values of 90 vs. 10% in the control. With this method high germination values were also reported in two endemic species of Kenya, with hard seed coat: *Acacia xanthophloea* and *Trachylobium verrucosum*; while in Zimbabwe *Acacia albida* showed more than 90% (Schmidt, 1988; Masamba, 1994).

A general evaluation of the results allows to conclude that when analyzing the performance of germination, since the beginning of storage until 7 mos, the embryo was affected due to  $H_2SO_4$  and hot water, which supports the criterion about the aggressiveness of both pre-planting methods, while their effect was beneficial between 8 and 12 mos, which could have been associated to a higher impermeabilization of the seed coats, as a result of the increase of the physiological age of the seeds and the storage conditions.

Although soaking for 24 hours in water at ambient temperature caused neither increase nor decrease in the germination capacity of the seeds, it is inferred that such method offers certain possibilities to be considered as an alternative of moist scarification in *A. lebbeck*. The coat cut efficacy should be emphasized as a method for dry scarification, in spite of the acceptable results shown by the control. It is necessary to mention that the cut must be carefully made so as to avoid damaging the seeds.