

Temperatura óptima de germinación y patrones de imbibición de las semillas de *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*

Optimum germination temperature and imbibition patterns of the seeds from *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* and *Bauhinia purpurea*

J. Reino¹, Yolanda González¹ y J. A. Sánchez²

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba

²Instituto de Ecología y Sistemática. Ciudad de La Habana, Cuba
E-mail: jreino@indio.atenas.inf.cu

Resumen

Se utilizaron semillas frescas y envejecidas de las plantas arbóreas *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*, procedentes de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba. Se diseñó un experimento de clasificación simple y cinco réplicas para la respuesta germinativa a diferentes temperaturas del sustrato (constante a 25°C y tres alternas: 25/30°C, 25/35°C y 25/40°C). Antes de la siembra las semillas de *A. lebbbeck* se escarificaron (agua a 80°C/2'). Para el patrón de imbibición las semillas se colocaron sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, según la temperatura óptima de germinación, en luz blanca fluorescente y en diferentes tiempos de imbibición. En las semillas frescas de todas las especies los mayores porcentajes de germinación final se obtuvieron a temperatura alterna de 25/35°C y en las envejecidas a 25/30°C. Con respecto al patrón de imbibición, todas siguieron un patrón trifásico de absorción de agua. Las semillas frescas y envejecidas de *G. sepium* presentaron un patrón de imbibición muy similar; sin embargo, las semillas frescas de las otras especies tuvieron una mayor velocidad de hidratación que las envejecidas y, por consiguiente, alcanzaron el comienzo de la fase III del patrón de imbibición (i.e., germinación visible) más rápidamente. Se concluye que el rango de temperatura óptima para la germinación de las semillas envejecidas fue de 25/30°C y para las frescas fue de 25/35°C y ambas presentaron un patrón trifásico de absorción de agua cuando la siembra se realizó en la temperatura óptima de germinación.

Palabras clave: *Albizia lebbbeck*, *Bauhinia purpurea*, germinación, *Gliricidia sepium*

Abstract

Fresh and aged seeds of the trees *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* and *Bauhinia purpurea* from the Experimental Station of Pastures and Forages "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba, were used. A simple classification experiment and five replications were designed for the germinative response to different temperatures of the substratum (constant 25°C and three alternate ones: 25/30°C, 25/35°C and 25/40°C). Before seeding the seeds of *A. lebbbeck* were scarified (water at 80°C/2'). For the imbibition pattern the seeds were put on filter paper moist with purified water according to the optimum germination temperature, under white fluorescent light and at different imbibition times. In the fresh seeds of all the species the highest percentages of final germination were obtained at alternate temperature of 25/35°C and in the aged ones at 25/30°C. With regards to the imbibition pattern they all followed a three-phase pattern of water absorption. The fresh and aged seeds of *G. sepium* showed a very similar imbibition pattern, however the fresh seeds of the other species presented higher

hydration rate than the aged ones and consequently they reached faster the start of phase III of the imbibition pattern (i.e. visible germination). The range of optimum temperature for the germination of aged seeds was concluded to be 25/30 °C and for the fresh ones it was 25/35 °C and both showed a three-phase pattern of water absorption when the seeding was carried out at optimum germination temperature.

Key Words: *Albizia lebbbeck*, *Bauhinia purpurea*, germination, *Gliricidia sepium*

Introducción

La Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", centro nacional de introducción para la rama de los pastos, forrajes y plantas arbóreas, tiene entre sus tareas la de conservar el germoplasma introducido en el país y el obtenido como producto de las colectas y la mejora genética, para cuyo mantenimiento es incuestionable la necesidad de introducir mecanismos que estimulen la germinación y el vigor de las plantas durante la emergencia; a través de estos se espera lograr valores aceptables para la posterior regeneración, ya que el deterioro de las semillas se debe, entre otras causas, a agentes mutágenos y a la desnaturalización de los ácidos nucleicos y las proteínas (Mc Donald, 2000). Entre los tratamientos más utilizados se encuentran los pregerminativos de hidratación-deshidratación (Sánchez, Orta y Muñoz, 2001), que parecen activar los mecanismos de reparación de ADN y proteínas (Bailly, Benamar, Corbineau y Côme, 2000) así como una disminución de las aberraciones cromosómicas (Rao, Roberts y Ellis, 1987), lo que conllevaría a la recuperación de las características botánicas originales en las plantas resultantes.

En Cuba se han obtenido incrementos notables, con el empleo de estos tratamientos, en la germinación y en el establecimiento en condiciones de déficit hídrico, con respecto al testigo, tanto en semillas de plantas cultivadas (Sánchez y Muñoz, 2004; Orta, Sánchez, Muñoz, Calvo, Hernández y Prede, 2004) como en forestales pioneras (Sánchez, Muñoz y Montejo, 2004). También se logró un efecto positivo cuando se combinaron los tratamientos hídricos con los de choque térmico en semillas sin germinar (Sánchez, 2003), en accesiones de leguminosas herbáceas envejecidas y en la arborea *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham.

Introduction

The Experimental Station of Pastures and Forages "Indio Hatuey", national center of introduction of pastures, forages and trees, has among its tasks the preservation of the germplasm introduced in the country and the one obtained as a product of collections and breeding, for which maintenance the need to introduce mechanisms that stimulate plant germination and vigor during emergence is unquestionable; through these mechanisms acceptable values for the posterior regeneration are expected to be achieved, because seed deterioration is due, among other causes, to mutagenic agents and the denaturation of nucleic acids and proteins (Mc Donald, 2000). Among the most used treatments are the hydration-dehydration pre-germinative ones (Sánchez, Orta and Muñoz, 2001), which seem to activate DNA and protein repair mechanisms (Bailly, Benamar, Corbineau and Côme, 2000), as well as a decrease of the chromosomal aberrations (Rao, Roberts and Ellis, 1987), which would lead to the recovery of the original botanical characteristics in the resulting plants.

In Cuba, remarkable increases have been obtained with the use of these treatments, in germination and establishment under water deficit conditions, with regards to the control, in seeds from cultivated plants (Sánchez and Muñoz, 2004; Orta, Sánchez, Muñoz, Calvo, Hernández and Prede, 2004) and in pioneer forestry seeds (Sánchez, Muñoz and Montejo, 2004). A positive effect was also achieved when the hydric treatments were combined with the thermal shock ones in non germinated seeds (Sánchez, 2003); in accessions of aged herbaceous legumes and in the tree *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham.

Due to all the above-explained facts, the objective of this work was to standardize the

Por todo lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo fue estandarizar la tecnología de hidratación-deshidratación en accesiones de leguminosas arbóreas envejecidas y frescas (*Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*), a partir de la determinación de la temperatura óptima del sustrato para la germinación y los patrones de imbibición para cada lote de semilla estudiado.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Se utilizaron semillas frescas y envejecidas de *A. lebbbeck*, *G. sepium* y *B. purpurea*. Estas procedían de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba. La recolección de las semillas frescas se realizó en el 2005 y la de las envejecidas en el 2004. Todas las semillas se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso.

Determinación de la temperatura óptima de germinación. Se diseñó un experimento de clasificación simple unifactorial y cinco réplicas para conocer la respuesta germinativa de las semillas a diferentes temperaturas del sustrato. Antes de la siembra las semillas de *A. lebbbeck* se sometieron a la inmersión en agua a 80°C durante 2', de acuerdo con lo recomendado por González y Navarro (2001), para la eliminación de la dormancia exógena (por impermeabilidad de las cubiertas al agua) que presentan las semillas frescas y envejecidas de esta especie. Se utilizó una temperatura constante de 25°C y tres niveles de temperatura alterna: 25/30°C, 25/35°C y 25/40°C, con una fluctuación de ocho horas para la temperatura más elevada y 12 horas para 25°C, y una transición de cuatro horas. Las pruebas de germinación se realizaron en placas de Petri (9 cm de diámetro) que se colocaron en cámara de crecimiento (Gallenkamp, Londres) equipada con lámparas fluorescentes de 40 W situadas a 20 cm del nivel de las placas, con un fotoperíodo de 8 horas-luz que coincidió con el termoperíodo de mayor temperatura. Se determinó el porcentaje de germinación final, la velocidad de germinación (T20) y el porcentaje de semillas muertas, esta última variable según las normas del ISTA (1999).

technology of hydration-dehydration in accessions of aged and fresh legume trees (*Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* and *Bauhinia purpurea*), from the determination of the optimum temperature of the substratum for germination and the imbibition patterns for each seed lot studied.

Materials and Methods

Plant material. Fresh and aged seeds from *A. lebbbeck*, *G. sepium* and *B. purpurea* were used. Their provenance was the Experimental Station of Pastures and Forages "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba. The collection of the fresh seeds was carried out in 2005 and the collection of aged seeds in 2004. All the seeds were stored at ambient temperature until their use.

Determination of the optimum germination temperature. A unifactorial simple classification experiment was designed with five replications to obtain the germinative response of the seeds to different temperatures of the substratum. Before seeding the seeds of *A. lebbbeck* were subject to immersion in water at 80°C for 2', according to the recommendations made by González and Navarro (2001), for eliminating the exogenous dormancy (due to impermeability of the coats to water) shown by fresh and aged seeds of this species. A constant temperature of 25°C and three levels of alternate temperature, 25/30°C, 25/35°C and 25/40°C, were used, with a fluctuation of eight hours for the highest temperature and 12 hours for 25°C and a four-hour transition period. The germination tests were made in Petri dishes (diameter 9 cm) which were placed in a growth chamber (Gallenkamp, London), equipped with 40-W- fluorescent lights located 20 cm away from the level of the dishes, with a photoperiod of eight hours-light that coincided with the thermoperiod of highest temperature. The final germination percentage, germination rate (T20) and dead seed percentage were determined, the last variable according to the rules of ISTA (1999).

Determination of the imbibition pattern of the seeds in water. The seeds were placed in Petri dishes (diameter 9 cm), on filter paper moist with

Determinación del patrón de imbibición de las semillas en agua. Las semillas se colocaron en placas de Petri (9 cm de diámetro) sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, a temperatura alterna de 25/30°C para el caso de las envejecidas y a 25/35°C para las semillas frescas (rango de temperatura óptimo para la germinación) y en luz blanca fluorescente (con similar termoperíodo y fotoperíodo al anteriormente descrito). En diferentes tiempos de imbibición, de dos horas, se pesaron para determinar la dinámica de absorción de agua en relación con el peso fresco. Para tal propósito se tomaron cinco réplicas de 50 semillas cada una por punto de imbibición. El contenido de humedad inicial se determinó mediante su secado durante 17 horas en una estufa mantenida a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (ISTA, 1999). La hidratación de estas se consideró completa hasta el inicio de la germinación visible.

Las variables estudiadas fueron sometidas a las pruebas de Bartlett y Komolgorov-Smirnov para conocer si cumplían con las premisas de homogeneidad de varianza y normalidad, respectivamente. Los datos expresados en porcentaje se transformaron en $\text{arc sen } \sqrt{\%}$ y se procesaron por ANOVA de clasificación simple. Para la aplicación de las pruebas de comparaciones múltiples de medias *a posteriori* se siguió el criterio propuesto por Blanco (2001).

Resultados y Discusión

Germinación de semillas frescas y envejecidas. En las semillas frescas de todas las especies los mayores porcentajes de germinación final se obtuvieron a temperatura alterna de 25/35°C y en las envejecidas a 25/30°C (tabla 1). Resultados similares se obtuvieron en semillas de otras leguminosas herbáceas, como *Crotalaria spectabilis*, *Mimosa invisa*, *Macroptilium atropurpureum*, *Indigofera sp.*, *Desmanthus virgatus*, *Clitoria ternatea*, *Crotalaria sp.* y *Centrosema pubescens*, y en las arbóreas *Trichospermum grewiiifolium* (Kosterm), *Cecropia schreberiana* Miq e *Hibiscus elatus* y *L.leucocephala*, cuando fueron plantadas en condiciones de temperatura similares a las del presente experimento (Reino, 2005). Este resul-

distilled water, at alternate temperature of 25/30°C for the aged seeds and at 25/35°C for the fresh ones (optimum temperature range for germination) and under fluorescent white light (with similar thermoperiod and photoperiod to the above described ones). In different imbibition times, of two hours, the seeds were weighed to determine the water absorption dynamics with regards to fresh weight. For such purpose, five replications of 50 seeds each were taken per imbibition point. The initial moisture content was determined by drying them for 17 hours in a stove maintained at $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (ISTA, 1999). Their hydration was considered complete until the beginning of visible germination.

The studied variables were subject to the Bartlett's and Komolgorov-Smirnov tests in order to know if they fulfilled the premises of homogeneity of variance and normality, respectively. The data expressed in percentage were transformed in $\text{arc sinus } \sqrt{\%}$ and were processed by simple classification ANOVA. For the application of the *a posteriori* multiple mean comparison tests, the criterion proposed by Blanco (2001) was followed.

Results and Discussion

Germination of fresh and aged seeds. In the fresh seeds of all the species the highest final germination percentages were obtained at alternate temperature of 25/35°C and in the aged ones at 25/30°C (table 1). Similar results were obtained in seeds from other herbaceous legumes, such as *Crotalaria spectabilis*, *Mimosa invisa*, *Macroptilium atropurpureum*, *Indigofera sp.*, *Desmanthus virgatus*, *Clitoria ternatea*, *Crotalaria sp.* and *Centrosema pubescens*, and from the trees *Trichospermum grewiiifolium* (Kosterm), *Cecropia schreberiana* Miq and *Hibiscus elatus* and *L. leucocephala*, when they were planted under temperature conditions similar to the ones in this experiment (Reino, 2005). This result was possibly due to the vigor loss by the aged seeds, especially from *A. lebeck* and *B. purpurea*, which affected significantly their germinative response and increased the percentage of dead seeds in the thermoperiods

Tabla 1. Efecto de la temperatura del sustrato en la respuesta germinativa de la semilla.
Table 1. Effect of the substratum temperature on the germinative response of the seed.

Especie/Temperatura(°C)	Germinación final (%)	Velocidad (días)♦	Semillas muertas (%)	Germinación final (%)	Velocidad (días)♦	Semillas muertas (%)
<i>Gliricidia sepium</i>						
25	96,6 ^b	1,1	3,4	90,0 ^c	0,8	5,0
25-30	100,0 ^a	0,5	nd	96,0 ^b	0,6	3,0
25-35	95,3 ^c	0,8	4,7	100,0 ^a	0,4	nd
25-40	89,6 ^d	1,0	13,4	73,3 ^c	0,7	25,0
ES ±	1,96***	0,1	3,1	0,14***	0,0	7,0
<i>Albizia lebbbeck</i>						
25	13,3 ^d	nd	86,7	37,3 ^b	3,4	46,6
25-30	26,4 ^a	5,0	73,6	31,0 ^d	4,3	44,0
25-35	17,6 ^b	nd	82,4	48,8 ^a	2,2	31,2
25-40	15,5 ^c	nd	84,5	35,5 ^c	4,3	46,6
ES ±	0,20		2,8	0,28***	0,4	3,6
<i>Bauhinia purpurea</i>						
25	3,3 ^b	nd	96,7	93,0 ^c	2,5	7,0
25-30	16,6 ^a	nd	83,4	96,6 ^b	2,4	3,0
25-35	0,0 ^c	nd	100,0	100,0 ^a	2,0	nd
25-40	0,0 ^c	nd	100,0	86,6 ^d	3,0	13,4
ES ±	12***		23,2	0,17***	0,2	3,0

a,b,c,d Media con diferentes superíndices en cada columna difieren a $P < 0,05$ (Duncan, 1955)

nd: Datos no disponibles.

♦Expresado por el T_{20}

*** $P < 0,001$

tado posiblemente se debió a la pérdida de vigor por parte de las semillas envejecidas, sobre todo de *A. lebbbeck* y *B. purpurea*, que afectó significativamente su respuesta germinativa y aumentó el porcentaje de semillas muertas en los termoperíodos de 25/35°C y 25/40°C con relación a los resultados en la temperatura de 25/30°C.

Es de resaltar que las semillas envejecidas de *B. purpurea* se hidrataron considerablemente en los termoperíodos de 25/35°C y 25/40°C, pero no lograron germinar. Al parecer, estos rangos de temperatura son letales para dichas semillas en esta especie. Por otra parte, las semillas envejecidas de *G. sepium* presentaron altos porcentajes de germinación final, lo cual demuestra que las condiciones y el tiempo de almacenamiento no afectaron su viabilidad.

En general, los resultados evidenciaron que la germinación de las semillas frescas y envejecidas de las tres especies estudiadas se desencadenó tanto a temperatura constante como alterna, aunque la máxima germinación se alcanzó en el rango de temperatura de 25/30°C ó 25/35°C.

of 25/35°C and 25/40°C with regards to the results obtained in the temperature 25/30°C.

It should be emphasized that the aged seeds of *B. purpurea* were considerably hydrated in the thermoperiods of 25/35°C and 25/40°C, but could not germinate. Seemingly, these temperature ranges are lethal for such seeds in this species. On the other hand, the aged sees of *G. sepium* showed high percentages of final germination, which proved that the storage conditions and time did not affect their viability.

In general, the results showed that the germination of the fresh and aged seeds of the three studied species was triggered, at constant as well as alternate temperature, although the highest germination was reached in the temperature range of 25/30°C or 25/35°C. Thus, this alternate temperatures can also be considered as the optimum temperature ranges for the imbibition of the aged and fresh seeds, respectively, because the highest germination was obtained in the lowest possible time.

Seed hydration pattern. When the aged and fresh seeds of the three studied species were

Por consiguiente, estas temperaturas alternas también pueden considerarse los rangos de temperatura óptimos para la imbibición de las semillas envejecidas y frescas, respectivamente, dado que se obtuvo la máxima germinación en el menor tiempo posible.

Patrón de hidratación de las semillas. Cuando las semillas envejecidas y frescas de las tres especies estudiadas se hidrataron a temperatura alterna de 25/30°C o de 25/35°C, respectivamente, siguieron un patrón trifásico de absorción de agua (fig. 1), como la generalidad de las semillas de las especies cultivadas (Bewley y Black, 1994; Bewley, 1997; Sánchez, Orta y Muñoz, 2001).

Las semillas frescas y envejecidas de *G. sepium* presentaron un patrón de imbibición muy similar, debido posiblemente al buen estado de conservación en que se encontraban las semillas viejas. Sin embargo, en el resto de las especies se observó una clara diferencia entre el patrón de imbibición de las semillas frescas y las envejecidas. Las frescas presentaron una mayor velocidad de hidratación que las envejecidas y, por consiguiente, alcanzaron el comienzo de la fase III del patrón de imbibición (i.e., germinación visible) más rápidamente. Estos resultados están en correspondencia con los obtenidos por otros autores cuando hidrataron semillas frescas y envejecidas de una misma especie (Sánchez, Calvo, Muñoz y Orta, 1999; Sánchez, Reino, Muñoz, González, Montejo y Machado, 2005).

Se concluye que el rango de temperatura óptima para la germinación de las semillas envejecidas y frescas de *A. lebeck*, *G. sepium* y *B. purpurea* fue de 25/30°C y 25/35°C, respectivamente. En todas las especies las semillas presentaron un patrón trifásico de absorción de agua cuando la siembra se realizó en la temperatura óptima de germinación.

Referencias bibliográficas

- Bailly, C.; Benamar, A; Corbineau, F. & Côme, D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Sci. Res.* 10:35
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell.* 9:1055
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. Seeds: Physiology of development and germination. Plenum Press, New York. 445 p.
- Blanco, F.A. 2001 Métodos apropiados de análisis estadísticos subsiguientes al análisis de varianza (ANDEVA). *Agronomía Costarricense.* 25:53
- González, Yolanda & Navarro, Marlen. 2001. Efecto de tratamientos pregerminativos en la ruptura de la dormancia en las semillas de *Albizia lebeck*. *Pastos y Forrajes.* 24:225
- ISTA. 1999. International rules for seed testing. Rules and annexus. *Seed Sci. & Technol.* 27:155
- Mc Donald, M.B. 2000. Seed priming. In: Seed technology and its biological basic (M. Black and J.D. Bewley, Eds.). Academic Press. London, UK. p. 286

hydrated at alternate temperature of 25/30°C or 25/35°C, respectively, they followed a three-phase water absorption pattern (fig. 1), as most of the seeds of the cultivated species (Bewley and Black, 1994; Bewley, 1997; Sánchez *et al.*, 2001).

The fresh and aged seeds of *G. sepium* showed a very similar imbibition pattern, possibly due to the good conservation condition of the old seeds. However, in the other species, a clear difference was observed between the imbibition pattern of the fresh and aged seeds. The fresh ones showed a higher hydration rate than the aged ones and, thus, reached the beginning of the stage III of the imbibition pattern (i.e. visible germination) faster. These results are in correspondence with those obtained by other authors when they hydrated fresh and aged seeds of the same species (Sánchez, Calvo, Muñoz and Orta, 1999; Sánchez, Reino, Muñoz, González, Montejo and Machado, 2005).

The optimum temperature range for the germination of the aged and fresh seeds of *A. lebeck*, *G. sepium* and *B. purpurea* was concluded to be 25/30°C and 25/35°C, respectively. In all the species the seeds showed a three-phase water absorption pattern when the seeding was performed at the optimum germination temperature.

--End of the English version--

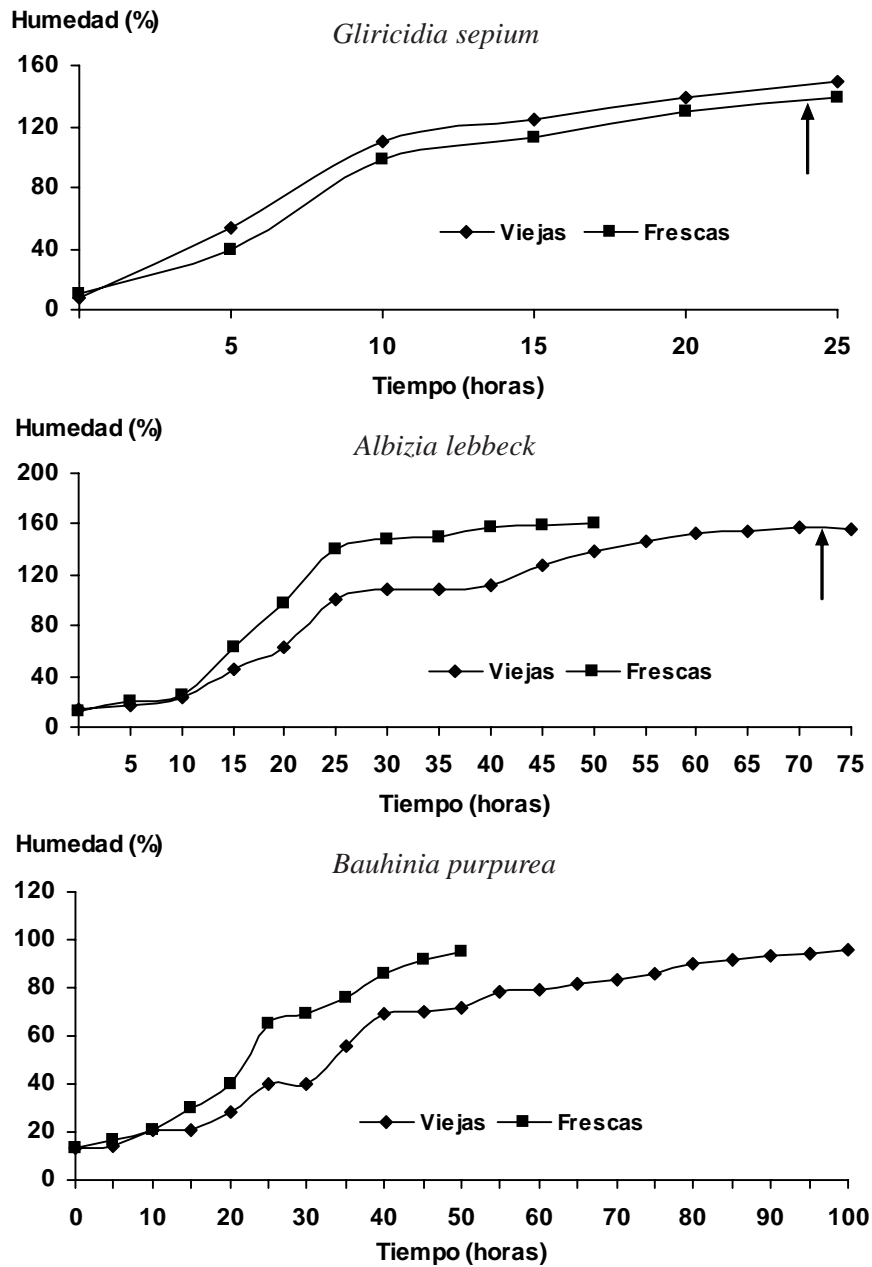


Fig. 1. Curvas de hidratación de semillas envejecidas y frescas de tres especies de leguminosas arbóreas (las flechas indican aproximadamente la primera señal visible de la germinación).

Fig. 1. Hydration curve of the aged and fresh seeds of three legume species (the arrows indicate approximately the first visible signal of germination).

Machado, R. & Sánchez, J.A. 2004. Informe final del PTCT Utilización de tratamientos pregerminativos en semillas envejecidas y frescas para la generación e incremento de la germinación. CITMA, Matanzas. 41 p.

Orta, R.; Sánchez, J.A; Muñoz, Bárbara; Calvo, E.; Hernández, L. & Prede, Miriam. 2004. Efectos de los tratamientos acondicionadores y robustecedores sobre el rendimiento de los cultivos. Siembra temprana del tomate. *Acta Botánica Cubana*. 176:19

- Rao, N.K.; Roberts, E.H. & Ellis, R.H. 1987. The influence of pre and post-storage hydration treatments, and viability of lettuce seeds. *Ann. Bot.* 60:97
- Reino, J. 2005. Efectos de tratamientos de hidratación-deshidratación y choque ácido sobre la germinación y la emergencia de *Leucaena leucocephala*. Tesis en opción al título de M.Sc. en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 71 p.
- Sánchez, J.A. 2003. Efectos de tratamientos de hidratación-deshidratación y choque térmico sobre la germinación y establecimiento de *Trichospermum mexicanum*. Tesis en opción al grado científico de Dr. en Ciencias Biológicas. Ministerio CITMA-IES. Ciudad de La Habana. 87 p.
- Sánchez, J.A.; Calvo, E.; Muñoz, Bárbara & Orta, R. 1999. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. *Cultivos Tropicales*. 20:51
- Sánchez, J.A. & Muñoz, Bárbara. 2004. Agrupamiento del comportamiento reproductivo del pepino procedente de semillas acondicionadas y robustecidas mediante análisis multivariado. *Acta Botánica Cubana*. 175:15
- Sánchez, J.A.; Muñoz, Bárbara & Montejo, Laura. 2004. Invigoration of pioneer tree seeds using prehydration treatments. *Seed Sci. & Technol.* 32:355
- Sánchez, J.A.; Orta, R. & Muñoz, Bárbara. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*. 25:67
- Sánchez, J.A.; Reino, J.; Muñoz, Bárbara; González, Yolanda; Montejo, Laura & Machado, R. 2005. Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la germinación y el vigor de plántulas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. *Pastos y Forrajes*. 28:209

Recibido el 19 de junio de 2008

Aceptado el 15 de julio de 2008