

# **Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la germinación, la emergencia y el vigor de las plántulas de *Albizia lebbek* y *Gliricidia sepium***

## **Effect of hydration-dehydration treatments on the germination, emergence and vigor of *Albizia lebbek* and *Gliricidia sepium* seedlings**

Yolanda Gonzalez<sub>1</sub>, J. A. Sánchez<sub>2</sub>, J. Reino<sub>1</sub> y Laura A. Montejo<sub>2</sub>

<sup>1</sup>*Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"*  
*Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba.*  
*E-mail: yolanda.gonzalez@indio.atenas.inf.cu*

<sup>2</sup>*Instituto de Ecología y Sistemática CITMA, La Habana, Cuba*

### **Resumen**

Se investigó el efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la respuesta germinativa, la emergencia y el vigor de las plántulas de *Albizia lebbek* y *Gliricidia sepium*, a diferentes condiciones controladas de estrés calórico del sustrato. Los tratamientos fueron: semillas no hidratadas (T1); semillas hidratadas hasta el final de la fase I (T2); semillas hidratadas hasta dos horas antes del inicio de la germinación visible (T3), y posteriormente se deshidrataron durante 48 horas. Las semillas de *A. lebbek* se escarificaron con agua a 80°C durante 2' antes de hidratar. La germinación de las semillas de ambas especies dependió significativamente de la interacción entre la temperatura del sustrato y la hidratación ( $P < 0,001$ ). En *G. sepium* los mejores resultados en la germinación se obtuvieron con largos períodos (fase III), y en *A. lebbek* con períodos cortos (fase I). La emergencia mostró diferencias significativas debido al efecto positivo de los tratamientos de escarificación - hidratación parcial en *A. lebbek* (34 vs 10% en las semillas frescas y envejecidas, respectivamente) y sin la combinación de estos en *G. sepium* (12 vs 8% en semillas frescas y envejecidas, respectivamente). Hubo un incremento significativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se concluye que los tratamientos hídricos revigorizaron las semillas envejecidas y frescas de *A. lebbek* y *G. sepium*, por lo que se recomienda su aplicación en condiciones similares a las del presente estudio.

Palabras clave: *Albizia lebbek*, germinación, *Gliricidia sepium*, semillas

### **Abstract**

The effect of hydration-dehydration treatments on the germinative response, emergence and vigor of *Albizia lebbek* and *Gliricidia sepium* seedlings was studied under different controlled conditions of caloric stress of the substratum. The treatments were: non hydrated seeds (T1); seeds hydrated until the end of stage I (T2); seeds hydrated until two hours before the beginning of visible germination (T3) and they were later dehydrated for 48 hours. *A. lebbek* seeds were scarified with water at 80°C for 2' before hydrating. The seed germination of both species depended significantly on the interaction between the substratum temperature and hydration ( $P < 0,001$ ). In *G. sepium* the best results in germination were obtained with long periods (stage III), and in *A. lebbek* with short periods (stage I). The emergence showed significant effects due to the positive effects of scarification-partial hydration treatments in *A. lebbek* (34 vs 10% in fresh and aged seeds, respectively) and without their combination in *G. sepium* (12 vs 8% in fresh and aged seeds, respectively). There was a significant increase in plant growth and development. The hydric treatments were concluded to revigorate the aged and fresh seeds from *A. lebbek* and *G. sepium*; for which their application under similar conditions as in this study is recommended.

Key words: *Albizia lebbek*, germination, *Gliricidia sepium*, seeds

## Introducción

Las semillas de las plantas arbóreas pertenecientes al germoplasma de la EEPF “Indio Hatuey”, institución encargada de conservar el germoplasma forrajero de origen foráneo y nacional, en su mayoría sufren deterioro y excepcionalmente han sido sometidas a un proceso de revitalización óptima que permite recuperar su germinación después del deterioro o cuando son frescas, así como determinar bajo condiciones de estrés calórico, la tolerancia de estas plantas a posibles escenarios ambientales provocados por el cambio climático.

La tecnología de hidratación-deshidratación propuesta por Sánchez *et al.* (1999) se aplicó para revitalizar las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham (Sánchez *et al.*, 2005) y se demostró que su efectividad dependió no solo de sus características, sino también del grado de madurez y de su edad fisiológica, ya que las semillas envejecidas y las frescas mostraron diferentes exigencias con esta tecnología para dar una respuesta positiva. Según los resultados de Machado y Sánchez (2003) esta técnica muestra especificidades, por lo que no se pueden aplicar los resultados de *L. leucocephala* en *Albizia lebbek* y en *Gliricidia sepium*, en las cuales se debe profundizar. *A. lebbek* es una planta que actualmente se encuentra introducida en los sistemas silvopastoriles y sus semillas, al ser almacenadas, pierden su potencialidad germinativa. Así se informó que a los 22 meses de cosechada su viabilidad fue de 44,5%; mientras que *L. leucocephala* con esa edad fisiológica alcanzó hasta 91% (González *et al.*, 2005); por otra parte, las semillas de *G. sepium* presentaron un marcado deterioro durante el almacenamiento (Navarro y González, 1999) con 0% a los 11 meses.

Sobre la base de estas premisas, el objetivo de este estudio fue identificar los tratamientos pregerminativos óptimos de hidratación-deshidratación para revigorizar las semillas envejecidas y las semillas frescas de *A. lebbek* y *G. sepium*, así como uniformar su germinación.

## Materiales y Métodos

*Material vegetal.* Se utilizaron semillas frescas y envejecidas de *A. lebbek* y *G. sepium*, procedentes de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba. La cosecha de las semillas frescas se realizó en el 2005 y la de las envejecidas en el 2004; todas se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso.

*Diseño y tratamientos.* Se aplicó un diseño de clasificación simple con arreglo factorial y cinco réplicas, para conocer la germinación de las semillas frescas y las envejecidas, sometidas a diferentes tratamientos pregerminativos y condiciones controladas de estrés calórico del sustrato.

Los tratamientos aplicados en las dos especies fueron los siguientes: T1) semillas no hidratadas o control; T2) semillas hidratadas hasta aproximadamente el final de la fase I; y T3) semillas hidratadas hasta dos horas antes del inicio de la germinación visible (fase III); estas se deshidrataron posteriormente durante 48 horas, antes de montar la prueba de germinación. Se emplearon tres niveles de temperatura alterna: 25/35°C, 25/40°C y 25/45°C, con una fluctuación de ocho horas para la temperatura más elevada y 12 horas para 25°C y una transición entre ambas de 4 horas.

*Procedimiento.* Antes de la aplicación de los tratamientos hídricos, las semillas de *A. lebbek* se escarificaron con agua a 80°C durante 2 minutos. La hidratación parcial se aplicó en los termoperíodos óptimos de germinación en las semillas envejecidas a temperatura alterna de 25/30°C y en las frescas a 25/35°C, según su patrón de absorción de agua informado por Reino *et al.* (2008).

Las pruebas de germinación se realizaron en placas de Petri (9 cm de diámetro), las cuales 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 ocho horas-luz que coincidió con el termoperíodo de mayor temperatura. Se determinó diariamente el porcentaje de germinación.

Con posterioridad se comprobó el efecto del tratamiento de hidratación-deshidratación óptimo (20-48 horas) en la emergencia y el vigor de las plántulas, en condiciones de vivero.

Para ello se empleó un diseño totalmente aleatorizado con diez repeticiones por especie, para comparar los tratamientos: 1) control (sin hidratar); y 2) hidratación-deshidratación (20-48 horas).

El segundo tratamiento se aplicó a las semillas en el Instituto de Ecología y Sistemática (La Habana) tres días antes de la siembra, para lo cual se emplearon bolsas de polietileno negro de 25,8 cm de ancho y 31,5 cm de altura, a una profundidad de 2 cm; el sustrato se preparó con suelo Ferralítico Rojo más materia orgánica (30%), y se regó diariamente hasta la capacidad de campo. En cada bolsa se colocaron 50 semillas y se expusieron a cielo abierto. El conteo de la emergencia se realizó diariamente durante 21 días; se determinó el porcentaje de emergencia total (ET) de las plántulas, el día de inicio de la emergencia (IE) y la duración del proceso (DE).

A los 25 días posteriores a la siembra se entresacaron las plántulas y se dejó un individuo por bolsa. A los 75 días se midió la altura (cm) y el rendimiento de materia seca de la parte aérea y de la parte subterránea (vigor).

*Análisis de los datos.* Las variables estudiadas fueron sometidas a las pruebas de Bartlett y Kolmogorov-Smirnov para conocer si cumplían con las premisas de homogeneidad de varianzas y normalidad, respectivamente. Los datos expresados en porcentaje se transformaron en arc sen  $\sqrt{\%}$  y se procesaron por ANOVA de clasificación simple o factorial, según el diseño de cada estudio. Para la aplicación de las pruebas de comparación múltiple de medias se siguió el criterio propuesto por Blanco (2001).

### Resultados y Discusión

La germinación de las semillas dependió de la interacción entre la temperatura del sustrato y el tratamiento hídrico ( $P < 0,001$ ) y disminuyó significativamente, tanto en las envejecidas como en las frescas, cuando aumentó el estrés calórico del sustrato (tabla 1).

Tabla 1. Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la germinación final.

Table 1. Effect of hydration-dehydration treatments on final germination.

Especie/Tratamiento	Semillas envejecidas			Semillas frescas			
	25-35°C	25-40°C	25-45°C	25-35°C	25-40°C	25-45°C	
<i>Gliricidia sepium</i>	T1	94,3 <sup>ab</sup>	88,0 <sup>c</sup>	23,0 <sup>h</sup>	98,0 <sup>b</sup>	70,2 <sup>i</sup>	18,0 <sup>i</sup>
	T2	93,2 <sup>bc</sup>	90,1 <sup>d</sup>	32,0 <sup>g</sup>	95,3 <sup>c</sup>	88,0 <sup>c</sup>	26,0 <sup>h</sup>
	T3	95,2 <sup>a</sup>	92,3 <sup>c</sup>	40,0 <sup>f</sup>	100,0 <sup>a</sup>	90,0 <sup>d</sup>	53,0 <sup>g</sup>
	ES Int.±		0,38***			0,30***	
<i>Albizia lebbek</i>	T1	16,3 <sup>c</sup>	13,0 <sup>f</sup>	0,0 <sup>h</sup>	43,2 <sup>a</sup>	30,4 <sup>c</sup>	2,5 <sup>h</sup>
	T2	34,0 <sup>a</sup>	23,0 <sup>b</sup>	5,2 <sup>g</sup>	44,0 <sup>a</sup>	40,0 <sup>c</sup>	15,3 <sup>f</sup>
	T3	22,0 <sup>c</sup>	19,0 <sup>d</sup>	0,0 <sup>h</sup>	42,0 <sup>b</sup>	38,0 <sup>d</sup>	10,2 <sup>g</sup>
	ES Int.±		0,16***			0,29***	

T1) Semillas no hidratadas; T2) Semillas hidratadas hasta cerca del final de la fase I; T3) Semillas hidratadas hasta dos horas antes de la germinación visible

a,b,c,d,e,f,g,h,i Valores con diferentes superíndices en las columnas, por especie y edad, difieren a  $P < 0,05$  (Duncan, 1955)  
\*\*\* $P < 0,001$

En *G. sepium* los mejores resultados en el incremento de la germinación final se obtuvieron con largos períodos de hidratación parcial (fase III) para todas las temperaturas, tanto en las semillas envejecidas como en las frescas, lo cual pudo deberse al alto vigor germinativo que presentaron los lotes utilizados.

En cambio, las semillas de *A. lebbek* mostraron la mejor respuesta germinativa con períodos cortos de hidratación parcial (fase I) para todas las temperaturas, lo cual evidenció que los mecanismos reparadores de daños celulares que se activaron durante la fase I fueron más eficientes para incrementar la germinación en los lotes de esta especie, que aquellos tratamientos con largos períodos de hidratación y que posiblemente agotaron el vigor de las semillas con bajo poder germinativo. Resultados similares obtuvieron Sánchez *et al.* (2004) al someter las semillas de especies forestales pioneras a diferentes ciclos de hidratación-deshidratación y tratamientos de envejecimiento acelerado.

Los resultados de la emergencia total, su inicio y duración se muestran en la tabla 2. En todas las semillas el IE fue significativamente menor ( $P < 0,001$ ) con la aplicación de hidratación-deshidratación, al igual que la DE, lo que demuestra que este proceso ocurrió más rápido que cuando no se sometieron a estos tratamientos.

Tabla 2. Emergencia de *A. lebbbeck* y de *G. sepium* según los tratamientos.

Table 2. Emergence of *A. lebbbeck* and *G. sepium* according to the treatments.

Indicador	Especie	Control	Tratamiento <sup>1</sup>	ES±
IE	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	9,0 <sup>a</sup>	4,0 <sup>b</sup>	9,12***
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	8,0 <sup>a</sup>	5,0 <sup>b</sup>	9,12***
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	6,0 <sup>a</sup>	5,0 <sup>b</sup>	9,12***
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	6,0 <sup>a</sup>	4,0 <sup>b</sup>	9,12***
DE	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	18,0 <sup>a</sup>	10,0 <sup>b</sup>	9,12***
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	21,0 <sup>a</sup>	18,0 <sup>b</sup>	9,13***
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	10,0 <sup>a</sup>	7,0 <sup>b</sup>	9,12***
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	15,0 <sup>a</sup>	10,0 <sup>b</sup>	9,12***
ET	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	7,0 <sup>b</sup>	41,0 <sup>a</sup>	0,402***
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	3,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>a</sup>	0,268***
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	7,0 <sup>b</sup>	19,0 <sup>a</sup>	0,222***
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	2,0 <sup>b</sup>	10,0 <sup>a</sup>	0,145***

<sup>1</sup>En *A. lebbbeck* se combinó con escarificación térmica.

F: semillas frescas E: semillas envejecidas

\*\*\* $P < 0,001$

En cuanto a la emergencia total hubo diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en ambas especies, lo que demostró el efecto positivo que ejercieron los tratamientos de escarificación más hidratación parcial en este indicador, y en *A. lebbbeck* hubo un incremento de 34 y 10% en las semillas frescas y las envejecidas, respectivamente; sin la combinación de ambos, el incremento en *G. sepium* fue de 12 y 8% (en semillas frescas y envejecidas, respectivamente). Ello demostró el sinergismo que se estableció entre la escarificación y la hidratación en *A. lebbbeck* para incrementar la emergencia de las semillas, cuando se comparó con el método tradicional de escarificación. Resultados positivos se han informado en otras especies con la aplicación de la tecnología de hidratación-deshidratación, tanto para mejorar la germinación como la emergencia de las plántulas (González *et al.*, 2006) en otras leguminosas herbáceas (Machado y Sánchez, 2003) y en *L. leucocephala* (Reino, 2005; González *et al.*, 2005a). También se apreció un incremento significativo en el crecimiento y el desarrollo de las plantas (tabla 3), ya que alcanzaron una mayor altura y rendimiento de la parte aérea y subterránea con la hidratación-deshidratación, lo que evidenció el incremento del vigor de las plántulas al aplicar esta tecnología en las semillas; similares resultados obtuvieron Sánchez *et al.* (2007) en *L. leucocephala* con estos tratamientos al aplicar choque ácido.

Tabla 3 Indicadores del crecimiento y desarrollo en *A. lebbbeck* y *G. sepium* según los tratamientosTable 3. Indicators of growth and development in *A. lebbbeck* and *G. sepium* according to the treatments.

Indicador	Especie	Control	Tratamiento*	ES ±
Altura	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	21,00 <sup>b</sup>	30,60 <sup>a</sup>	1,87**
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	20,20 <sup>b</sup>	26,80 <sup>a</sup>	1,40*
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	38,60 <sup>b</sup>	50,60 <sup>a</sup>	2,90*
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	27,15 <sup>b</sup>	41,73 <sup>a</sup>	1,30**
Peso parte aérea (g)	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	0,90 <sup>b</sup>	1,96 <sup>a</sup>	0,16*
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	0,30 <sup>b</sup>	0,92 <sup>a</sup>	0,17*
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	1,10 <sup>b</sup>	5,82 <sup>a</sup>	0,29***
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	1,03 <sup>b</sup>	3,06 <sup>a</sup>	0,20**
Peso raíz (g)	<i>Albizia lebbbeck</i> (F)	0,14 <sup>b</sup>	0,59 <sup>a</sup>	2,65***
	<i>Albizia lebbbeck</i> (E)	0,026 <sup>b</sup>	0,13 <sup>a</sup>	4,08***
	<i>Gliricidia sepium</i> (F)	0,21 <sup>b</sup>	1,36 <sup>a</sup>	3,23***
	<i>Gliricidia sepium</i> (E)	0,21 <sup>b</sup>	0,50 <sup>a</sup>	4,73***

F: semillas frescas E: semillas envejecidas

\*Hidratación-deshidratación (20-48 horas)

a, b Valores con diferentes superíndices en cada fila difieren a  $P < 0,05$  (Duncan, 1955)

\* $P < 0,05$  \*\* $P < 0,01$  \*\*\* $P < 0,001$

Según Bailly *et al.* (2000) y McDonald (2000) los referidos procedimientos no sólo promueven los mecanismos enzimáticos de reparación de las membranas, sino también activan los mecanismos antioxidantes, eliminadores de radicales libres. Estos últimos son los principales responsables del envejecimiento de las semillas (McDonald, 1999).

La efectividad de los tratamientos hídricos para incrementar y acelerar la emergencia de las plántulas no sólo se debe a la activación de eventos metabólicos relacionados con la fase pregerminativa, sino también a los profundos cambios bioquímico-fisiológicos que inducen la tolerancia de las plantas al estrés ambiental, como ha sido señalado por Henckel (1964), Kozlowski y Pallardy (2002) y Sánchez *et al.* (2004). Welbaum *et al.* (1998) plantearon que los tratamientos de hidratación parcial incrementan el establecimiento, debido a que aceleran la emergencia de las plántulas (lo que permite evadir la incertidumbre del ambiente) y disminuyen la pérdida de electrolitos por las semillas (i.e., aminoácidos y azúcares). Esto último contribuye considerablemente a la disminución de los ataques fúngicos.

De acuerdo con los resultados en las semillas frescas y en las envejecidas de *A. lebbbeck* y *G. sepium*, se concluye que los tratamientos de hidratación-deshidratación (20-48 horas) aceleraron e incrementaron la germinación, la emergencia y el vigor de las plántulas. Tales aspectos pueden considerarse satisfactorios, si se toma en consideración que en los experimentos de laboratorio y de vivero no se aplicaron aditivos químicos. Por consiguiente, la ecotecnología aplicada podría constituir una vía rápida, sencilla y alternativa para el desarrollo en Cuba de una agricultura sostenible o agroecológica. Los tratamientos hídricos contribuyen también a disminuir el número de semillas que se usan en los experimentos de vivero, así como el tiempo de permanencia de las plantas en este, por lo que se recomienda aplicarlos en condiciones similares a las del presente estudio.

### Referencias bibliográficas

- Bailly, C. *et al.* 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. Seed Science Research. 10:35
- Blanco, F.A. 2001. Métodos apropiados de análisis estadísticos subsiguientes al análisis de varianza (ANDEVA). Agronomía Costarricense. 25:53

- González, Yolanda *et al.* 2005. Producción, beneficio y conservación de semillas de plantas arbóreas. En: El Silvopastoreo: Un nuevo concepto de pastizal. (Ed. L. Simón). EEPF "Indio Hatuey", Cuba-Universidad de San Carlos, Guatemala. p.53
- González, Yolanda *et al.* 2005a. Validación de la técnica de hidratación-deshidratación para grandes volúmenes de semillas de *L. leucocephala* cv. Cunningham. Pastos y Forrajes. 28:117
- González, Yolanda *et al.* 2006. Efecto de los tratamientos hídricos en la emergencia y el rendimiento de *Macroptilium atropurpureum* y *Crotalaria spectabilis*. Pastos y Forrajes. 29:31
- Henckel, P.A. 1964. Physiology of plant under drought. Annual Review of Plant Physiology. 15:363
- Kozlowski, T.T. & Pallardy, G.S. 2002. Acclimation and adaptive response of woody plants to environmental stress. The Botanical Review. 68:270
- Machado, R. & Sánchez, J.A. 2003. Utilización de tratamientos pregerminativos en semillas envejecidas y frescas para la generación e incremento de la germinación. Informe final del PTCT. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 41 p.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology. 27:177
- MacDonald, M.B. 2000. Seed priming. In: Seed technology and its biological basic. (Eds. M. Black y J. D. Bewley). Sheffield, Academic Press. p. 286
- Navarro, Marlen & González, Yolanda. 1999. Identificación del período de latencia en tres especies de árboles leguminosos. Pastos y Forrajes. 22:239
- Reino, J. 2005. Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación y de choque ácido sobre la germinación y la emergencia en semillas de *Leucaena leucocephala*. Tesis en opción al título de MSc. en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 71 p.
- Reino, J. *et al.* 2008. Temperatura óptima de germinación y patrones de imbibición de las semillas de *Albizia lebbek*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*. Pastos y Forrajes. 31:209
- Sánchez, J.A. *et al.* 1999. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. Cultivos Tropicales. 20 (4):51
- Sánchez, J.A. *et al.* 2004. Invigoration of pioneer tree seeds using prehydration treatments. Seed Sci. & Technol. 32:355
- Sánchez, J.A. *et al.* 2005. Germinación y vigor de plántulas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham en respuesta a tratamientos de hidratación-deshidratación. Pastos y Forrajes. 28:209
- Sánchez, J.A. *et al.* 2007. Enhanced germination, emergence and seedling vigour of *Leucaena leucocephala* using hardening hydration and acid shock treatments. Seed Sci. & Technol. 35:224
- Welbaum, G.E. *et al.* 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. Seed Science Research. 8:161

Recibido el 21 de mayo del 2009

Aceptado el 25 de junio del 2009

## Effect of hydration-dehydration treatments on the germination, emergence and vigor of *Albizia lebeck* and *Gliricidia sepium* seedlings

### Abstract

The effect of hydration-dehydration treatments on the germinative response, emergence and vigor of *Albizia lebeck* and *Gliricidia sepium* seedlings was studied under different controlled conditions of caloric stress of the substratum. The treatments were: non hydrated seeds (T1); seeds hydrated until the end of stage I (T2); seeds hydrated until two hours before the beginning of visible germination (T3) and they were later dehydrated for 48 hours. *A. lebeck* seeds were scarified with water at 80°C for 2' before hydrating. The seed germination of both species depended significantly on the interaction between the substratum temperature and hydration ( $P < 0,001$ ). In *G. sepium* the best results in germination were obtained with long periods (stage III), and in *A. lebeck* with short periods (stage I). The emergence showed significant effects due to the positive effects of scarification-partial hydration treatments in *A. lebeck* (34 vs 10% in fresh and aged seeds, respectively) and without their combination in *G. sepium* (12 vs 8% in fresh and aged seeds, respectively). There was a significant increase in plant growth and development. The hydric treatments were concluded to revigorate the aged and fresh seeds from *A. lebeck* and *G. sepium*; for which their application under similar conditions as in this study is recommended.

Key words: *Albizia lebeck*, germination, *Gliricidia sepium*, seeds

### Introduction

The tree seeds belonging to the germplasm of the EEPF “Indio Hatuey”, institution in charge of preserving the foreign and national forage germplasm, mostly suffer deterioration and have been exceptionally subject to a process of optimum revitalization that allows to recover their germination after deterioration or when they are fresh, as well as to determine under caloric stress conditions, the tolerance of these plants to possible environmental scenarios caused by the climatic change.

The hydration-dehydration technology proposed by Sánchez et al (1999) was applied to revitalize seeds from *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham (Sánchez et al., 2005) and its effectiveness was proven to depend not only on seed characteristics, but also on the maturity degree and physiological age, because aged and fresh seeds showed different demands with this technology in order to give a positive response. According to the results obtained by Machado and Sánchez (2003) this technique shows specificities, for which the results from *L. leucocephala* can not be applied to *Albizia lebeck* and *Gliricidia sepium*, in which further studies must be done. *A. lebeck* is a plant currently introduced in silvopastoral systems and its seeds, when stored, lose their germination potential. Thus, it was reported that 22 months after being harvested its viability was 44,5%; while *L. leucocephala* with that physiological age reached 91% (González et al., 2005); on the other hand, the *G. sepium* seeds showed remarkable deterioration, during storage (Navarro and González, 1999) with 0 % 11 months after harvest.

Based on these premises, the objective of this study was to identify the optimum pregerminative treatments of hydration-dehydration to revigorate the aged and fresh seeds from *A. lebeck* and *G. sepium* as well as to uniform their germination.

### Materials and Methods

*Plant material.* Fresh and aged seeds of *A. lebeck* and *G. sepium*, from the Experimental Station of Pastures and Forages “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba were used. The harvest of fresh seeds was performed in 2005 and that of aged seeds in 2004; all of them were stored at room temperature until their use.

*Design and treatments.* A simple classification design was applied with factorial arrangement and five replications, to learn the germination of fresh and aged seeds, subject to different pregerminative treatments and controlled conditions of caloric stress of the substratum.

The treatments applied in the two species were the following: T1) non hydrated seeds or control; T2) seeds hydrated until approximately the end of stage I; and T3) seeds hydrated until two hours before the beginning

of visible germination (stage III); they were dehydrated afterwards for 48 hours, before setting the germination test. Three levels of alternate temperature were used: 25/35°C, 25/40°C and 25/45°C with a fluctuation of eight hours for the highest temperature and 12 hours for 25°C and a 4-hour transition between both.

*Procedure.* Before applying the hydric treatments, the *A. lebeck* seeds were scarified with water at 80°C during 2 minutes. Partial hydration was applied in the optimum germination thermoperiods in the aged seeds at alternate temperature of 25/30°C and in the fresh ones at 25/35°C, according to their water absorption pattern reported by Reino et al. (2008).

The germination tests were conducted on Petri dishes (9 cm diameter), which were placed in growth chambers (Gallenkamp, London) equipped with 40-w-fluorescent lamps, located 20 cm above the level of the Petri dishes with a photoperiod of 8 light-hours, coinciding with the highest temperature thermoperiod. The germination percentage was determined daily.

Afterwards, the effect of the optimum hydration-dehydration treatment on the emergence and vigor of the seedlings was observed, under nursery conditions.

For that purpose a completely randomized design was used with ten repetitions per species to compare the treatments: 1) control (without hydration); and 2) hydration-dehydration (20-48 hours).

The second treatment was applied to the seeds at the Institute of Ecology and Systematics (Havana) three days before seeding, for which black polyethylene bags 28,8 cm wide and 31,5 cm high were used, at a depth of 2 cm; the substratum was prepared with Ferralitic Red soil plus organic matter (30%), and it was irrigated daily up to field capacity. In each bag 50 seeds were put and exposed to open air. The emergence count was daily performed for 21 days; the percentage of total emergence (TE) of the seedlings, the day of emergence onset (EO) and the duration of the process (DE) were determined.

Twenty-five days after seeding the seedlings were thinned and one individual was left per bag. Seventy-five days after seeding the height (cm) and dry matter yield of the aerial and underground parts (vigor) were measured.

*Data analysis.* The studied variables were subject to the Bartlett and Kolmogorov-Smirnov tests to find out whether they fulfilled the premises of variance homogeneity and normality, respectively. The data expressed in percentage were transformed into arc sin  $\sqrt{\%}$  and were processed by simple or factorial classification ANOVA, according to the design of each study. For the application of the multiple mean comparison tests, the criterion proposed by Blanco (2001) was followed.

## Results and Discussion

Seed germination depended on the interaction between the substratum temperature and the hydric treatment ( $P < 0,001$ ) and decreased significantly in aged as well as fresh seeds, when the caloric stress of substratum increased (table 1).

In *G. sepium* the best results in the increase of final germination were obtained with long periods of partial hydration (stage II), for all temperatures, in aged as well as fresh seeds, which could have been due to the high germinative valve shown by the lots used.

On the contrary, the *A. lebeck* seeds showed the best germinative response with short periods of partial hydration (stage I), for all temperatures, which proved that the cell damage repairing mechanisms activated during stage I were more efficient to increase germination in the lots of this species, than those treatments with long hydration periods and which possibly depleted the vigor of seeds with low germinative capacity. Similar results were obtained by Sánchez et al. (2004) when placed seeds from pioneer forestry species under different hydration-dehydration cycles and accelerated ageing.

The results of total emergence, its onset and duration are shown in table 2. In all seeds the EO was significantly lower ( $P < 0,001$ ) with the application of hydration-dehydration, just like DE, which proves that this process occurred faster than when the seeds were not subject to these treatments.



Regarding total emergence there were significant differences ( $P < 0,001$ ) in both species, which proved the positive effect exerted by the scarification treatments plus partial hydration in this indicator, and in *A. lebeck*, there was an increase of 34 and 10 % in fresh and aged seeds, respectively without the combination of both, the increase in *G. sepium* was 12 and 8 % (in fresh and aged seeds, respectively). It showed the synergism established between scarification and hydration) in *A. lebeck* to increase the emergence of seeds, when compared to the traditional scarification method. Positive results have been reported in other species with the application of the hydration-dehydration technologies, to improve germination as well as seedling emergence (González et al., 2006) in other herbaceous legumes (Machado and Sánchez, 2003) and in *L. leucocephala* (Reino, 2005; González et al., 2005a).

A significant increase was also observed in plant development and growth (table 3), because they reached more height and yield of the aerial part, which showed the increase of seedling vigor when applying this technology in the seeds; similar results were obtained by Sánchez et al. (2007) in *L. leucocephala* with these treatments by applying acid shock.

According to Bailly et al. (2000) the referred procedures not only promote the enzymatic mechanisms of membrane repairing, but they also activate antioxidant mechanisms, which eliminate free radicals. The latter are the main responsible elements for seed ageing (McDonald, 1999).

The effectiveness of hydric treatments to increase and accelerate seedling emergence is not only due to the activation of metabolic events related to the pregerminative stage, but also to the deep biochemical-physiological changes that induce plant tolerance to the environmental stress, as reported by Henckel (1964), Kozłowski and Pallardy (2002) and Sánchez et al. (2004). Welbaum et al. (1998) stated that partial hydration treatments increase the establishment, because they accelerate seedling emergence (which allows to evade the environment uncertainty) and decrease electrolyte loss by seeds (i.e. aminoacids and sugars). The latter contributes considerably to the decrease of fungal attacks.

According to the results in fresh and aged seeds from *A. lebeck* and *G. sepium*, the hydration-dehydration treatments (20-48 hours) were concluded to accelerate and increase germination, as well as seedling emergence and vigor. Such aspects can be considered satisfactory, if it is considered that in the laboratory and nursery trials no chemical additives were applied. Consequently, the applied ecotechnology could constitute a fast, simple and alternative way for the development in Cuba of sustainable or agroecological agriculture. Hydric treatments also contribute to decrease the number of seeds used in nursery trials, as well as the permanence time of plants in the nursery, for which it is recommended to apply them under similar conditions as the ones in this study.