

Respuesta a tratamientos pregerminativos y caracterización morfológica de plántulas de *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce* y *Ziziphus mauritiana*

Response to pregerminative treatments and morphological characterization of seedlings of *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce* and *Ziziphus mauritiana*

Maribel Ramírez¹, Hallely Suárez¹, Marines Regino¹, Brigida Caraballo¹ y D. E. García²

¹Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. Apartado 15205. ZU4005.
E-mail: mcramire@fa.luz.edu.ve

²Departamento de Ciencias Agrarias, Núcleo Universitario "Rafael Rangel"
Universidad de Los Andes (ULA), Venezuela

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo estudiar el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos en las semillas de leucaena (*Leucaena leucocephala*), yacure (*Pithecellobium dulce*) y manzanita (*Ziziphus mauritiana*), así como las características morfológicas de las plántulas emergidas, mediante un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones y con arreglo factorial en yacure y en leucaena. En yacure se estudiaron, como factores, la aplicación de ácido giberélico (AG) (0 y 100 mg/L) y el tiempo de remojo (TR) (0, 3, 6, 12, 24, 48 y 96 h); mientras que en manzanita y en leucaena se aplicó el TR en agua (0, 24, 48 y 96 h), además de un testigo. En esta última especie también se analizó la escarificación con lija 80 (EL), con tiempos de aplicación de 0, 20 y 40 min. En cada especie se evaluó: el porcentaje de emergencia (PE), la tasa de emergencia (TE), la altura de las plántulas, la longitud de la raíz, el número de hojas y de nudos, así como el grosor del tallo. En leucaena la interacción entre TR y EL presentó diferencias significativas ($P > 0,05$) en el PE; las semillas con EL por 20 min y con TR en agua por 24 h presentaron PE de 86,67% a los 14 días. En yacure, el TR mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en el PE y los tiempos de 48 y 96 h redujeron el PE. En yacure y manzanita hubo un PE de 91,3% (a los 14 días) y de 98,4% (a los 21 días), y una TE de 4,61 y de 8,93 días, respectivamente. Se concluye que sólo las semillas de leucaena necesitaron tratamiento pregerminativo y que las plántulas de las tres especies mostraron un desarrollo homogéneo y rápido.

Palabras clave: Emergencia, *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce*, plántulas, tratamiento de semillas y *Ziziphus mauritiana*

Abstract

The objective of this research was to study the effect of different pregerminative treatments on the *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce* and *Ziziphus mauritiana* seeds, as well as the morphological characteristics of the emerged seedlings, by means of a randomized block design with four repetitions and with factorial arrangement in *P. dulce* and *L. leucocephala*. In *P. dulce* the factors studied were: the application of gibberellic acid (GA) (0 and 100 mg/L) and the soaking time (ST) (0, 3, 6, 12, 24, 48 and 96 h); while in *Z. mauritiana* and *L. leucocephala* the ST (0, 24, 48 and 96 h) in water was applied, in addition to a control. In the latter, the scarification with sandpaper (SS) was also analyzed, with application times of 0, 20 and 40 min. In each species, the following was evaluated: emergence percentage (EP), emergence rate (ER), seedling height, root length, number of leaves and nodes, as well as stem diameter. In *L. leucocephala* the interaction between ST and SS showed significant differences ($P > 0,05$) in the EP; the seeds with SS for 20 min and with ST in water for 24 h showed EP of 86,67% after 14 days. In *P. dulce* the ST showed significant differences ($P < 0,05$) in the EP and the times 48 and 96 h reduced the EP. In *P. dulce* and *Z. mauritiana* there was an EP of 91,3% (after 14 days) and 98,4% (after 21 days), and an ER of 4,61 and 8,93 days, respectively. It is concluded that only the *L. leucocephala* seeds needed pregerminative treatment and that the seedlings of the three species showed homogeneous and fast growth.

Key words: Emergence, *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce*, seedlings, seed treatment and *Ziziphus mauritiana*

Introducción

En Venezuela existe una gran diversidad de hierbas, arbustos y árboles silvestres con un alto potencial de uso en diversas áreas, los cuales son poco conocidos (Hoyos, 1992) en comparación con los árboles de uso agrícola, pero no por ello son menos importantes (Caraballo, 2008). En los sistemas agroforestales de Latinoamérica, la cantidad de especies que pueden ser usadas en sistemas asociados es superior con relación a las utilizadas o estudiadas (García y Medina, 2011).

Los sistemas agroforestales tienen el potencial de permitir la conservación de los recursos naturales a través de la reducción de los daños ocasionados por la variabilidad climática, y contribuyen al aumento de la calidad del forraje y su producción continua (Sierra y Nygren, 2006; Lamela *et al.*, 2010; Petit *et al.*, 2010). En la actualidad, la asociación de las especies arbóreas con los pastos mejorados en toda el área de pastoreo es una práctica agroforestal que ha tenido una alta aceptación por los productores e investigadores (Pérez *et al.*, 2008; Lamela *et al.*, 2010). Estos sistemas sostenibles incluyen especies que tienen cualidades multipropósito y son de gran adaptación.

La amplia distribución de la leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) y del yacure (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) se debe a su adaptación a diversas condiciones de clima y suelo, así como a la resistencia al calor y a la sequía. Ambas especies tienen gran habilidad para la fijación de nitrógeno y son una fuente altamente productiva y de excelente calidad de forraje, con un alto contenido de proteína al emplearlas como complemento en la alimentación animal en los trópicos (Razz y Clavero, 2003; Sánchez y Ramírez, 2006; Vergara *et al.*, 2006). El yacure se cultiva también como especie ornamental, para leña y cortinas rompevientos (Parrota, 1991; García y Medina, 2006).

La manzanita (*Ziziphus mauritiana* Lam.) es un árbol que, habitualmente, alcanza entre 2,5 y 4,0 m de altura; se considera promisorio para el ornato de las áreas verdes urbanas como árbol de sombra, así como cerca viva por su gran

Introduction

In Venezuela there is a large diversity of wild grasses, shrubs and trees with high potential of use in different areas, which are little known (Hoyos, 1992) as compared to agricultural trees, but they are not less important for such reason (Caraballo, 2008). In Latin American agroforestry systems, the amount of species that can be used in associated systems is higher than the studied or used ones (García and Medina, 2011).

Agroforestry systems have the potential to allow the conservation of natural resources through the reduction of the damage caused by climate variability, and contribute to the increase of forage quality and its continuous production (Sierra and Nygren, 2006; Lamela *et al.*, 2010; Petit *et al.*, 2010). At present, the association of tree species with improved pastures throughout the grazing area is an agroforestry practice which has had high acceptance by farmers and researchers (Pérez *et al.*, 2008; Lamela *et al.*, 2010). These sustainable systems include species that have multipurpose qualities and are greatly adapted.

The wide distribution of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. and *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. is due to their adaptation to diverse climate and soil conditions, as well as to the resistance to heat and drought. Both species have great ability for nitrogen fixation and are a highly productive and excellent-quality forage source, with high protein content when used as supplement in animal feeding in the tropics (Razz and Clavero, 2003; Sánchez and Ramírez, 2006; Vergara *et al.*, 2006). *P. dulce* is also cultivated as ornamental species, for firewood and as windbreaker (Parrota, 1991; García and Medina, 2006).

Ziziphus mauritiana Lam. is a tree which usually reaches between 2,5 and 4,0 m of height; it is considered promising as ornamental for urban green areas as shade tree, as well as living fence for its high adaptation to drought and for being highly branched and irregular. It has thin and hanging branches, and alternate bright light green leaves with two thorny stipules at the base. This plant is propagated by seed (Avilan *et al.*, 1992)

adaptación a la sequía y su porte muy ramificado e irregular. Posee ramas delgadas y colgantes, y hojas alternas de color verde claro brillante con dos estípulas espinosas en su base. Esta planta se propaga por semilla (Avilan *et al.*, 1992) y es usual observarla como árbol de sombra en unidades de producción ganadera de las zonas áridas y semiáridas.

Se ha señalado que las semillas de leucaena y de yacure poseen bajos porcentajes de germinación, debido al endurecimiento de la capa superficial o de toda la cubierta (Razz y Clavero, 2003; Sánchez y Ramírez, 2006), y en el caso de las semillas de manzanita su cubierta es muy dura. Entre las técnicas más empleadas para la eliminación de este tipo de latencia se encuentra el remojo en agua o en ácido giberélico y la escarificación con lija, entre otros (Sánchez, 2002; Araoz y del Longo, 2006; Sánchez y Ramírez, 2006).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos en las semillas de *L. leucocephala*, *P. dulce* y *Z. mauritiana*, así como las características morfológicas de las plántulas emergidas.

Materiales y Métodos

Ubicación del experimento

Se realizó en el propagador del vivero universitario, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, estado Zulia, Venezuela, ubicado geográficamente a 10°41'12" de latitud Norte y 71°38'05" de longitud Oeste y a una altitud de 25 msnm. Está enmarcado en una zona ecológica de bosque muy seco tropical, con una precipitación de 500 a 600 mm/año, un promedio anual de temperatura de 29°C, la humedad relativa de 79% y la evapotranspiración de 2 500 mm (Ewel y Madriz, 1976).

Recolección y procesamiento del material vegetal

Las semillas de yacure, leucaena y manzanita se recolectaron de árboles localizados en las áreas verdes de la Facultad de Agronomía y la Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia. Se

and it is usual to observe it as shade tree in livestock production units of arid and semiarid zones.

It has been stated that *L. leucocephala* and *P. dulce* seeds have low germination percentages, due to the hardening of the surface layer or the whole coat (Razz and Clavero, 2003; Sánchez and Ramírez, 2006), and in the case of *Z. mauritiana* seeds their seed coat is very hard. Among the most used techniques for the elimination of this dormancy is soaking in water or in gibberellic acid and scarification with sandpaper, etc. (Sánchez, 2002; Araoz and del Longo, 2006; Sánchez and Ramírez, 2006).

The objective of this study was to evaluate the effect of different pregerminative treatments on the *L. leucocephala*, *P. dulce* and *Z. mauritiana* seeds, as well as the morphological characteristics of the emerged seedlings.

Materials and Methods

Trial location

It was conducted in the propagator of the university nursery, School of Agronomy, University of Zulia, Zulia state, Venezuela, geographically located at 10°41'12" latitude north and 71°38'05" longitude west and an altitude of 25 masl. It is framed in an ecological zone of very dry tropical forest, with rainfall from 500 to 600 mm/year, average annual temperature of 29°C, relative humidity 79% and evapotranspiration 2 500 mm (Ewel and Madriz, 1976).

Collection and processing of the plant material

The *P. dulce*, *L. leucocephala* and *Z. mauritiana* seeds were collected from trees located in the green areas of the School of Agronomy and the School of Sciences, University of Zulia. Mature pods were taken before dehiscence in *L. leucocephala* (Sánchez and Ramírez, 2006) and before seed fall in the case of *P. dulce*, because they remain adhered to the pod for a certain period after dehiscence. The *L. leucocephala* seeds were extracted, selected and stored according to the description made by

tomaron legumbres maduras (marrones) antes de que ocurriera la dehiscencia en la leucaena (Sánchez y Ramírez, 2006) y antes de la caída de las semillas en el caso del yacure, debido a que estas permanecen adheridas por cierto tiempo a la legumbre después de la dehiscencia. Las de leucaena se extrajeron, se seleccionaron y se almacenaron según lo descrito por Sánchez y Ramírez (2006). En yacure se seleccionaron las semillas negro brillante de mayor tamaño, y se descartaron las deformes y las aplanadas, las de los extremos de la legumbre y las que tenían daños mecánicos. Las de manzanita se extrajeron de frutos maduros, de color marrón o amarillo con tonos marrones, a los cuales se les retiró la parte carnosa con ayuda de un cuchillo; se remojaron en agua potable por 12 h y se frotaron con una malla metálica varias veces hasta retirar los restos del fruto. En esta especie se descartaron las semillas muy pequeñas.

Preparación y almacenamiento de las semillas

Después de la selección, las semillas se lavaron durante 5 min en agua con jabón líquido (Brisol®) al 2% (compuesto activo: dodecil-benceno, sulfonato de sodio) y cloro Nevex® al 5% (compuesto activo: hipoclorito de sodio 0,26%). Posteriormente se enjuagaron varias veces con agua hasta que desapareció el olor a cloro y, para protegerlas, se sumergieron en el fungicida Vitavax® (17% Carboxin + 17% Thiram) al 1% por 15 min, se secaron sobre papel absorbente bajo condiciones de laboratorio (26°C) por 24 h y se almacenaron a 10°C durante 15 días.

Tratamientos pregerminativos

En las semillas de yacure se utilizaron 14 tratamientos pregerminativos, obtenidos de la combinación de la exposición en 0 y 100 mg/L de ácido giberélico, durante 0, 3, 6, 12, 24, 48 y 96 h, con cambios de agua cada 12 h. En leucaena se usaron 12 tratamientos, generados de la combinación de la escarificaron con lija No. 80, durante 0, 20 y 40 min –realizada en cuatro y ocho sesiones de 5 min, respectivamente– con el remojo en agua por 0, 24, 48 y 96 h. En las

Sánchez and Ramírez (2006). In *P. dulce*, the higher-size brilliant black seeds were selected, and the misshapen and flattened ones, those from the pod ends and the ones with mechanical damage were discarded. The *Z. mauritiana* seeds were extracted from mature fruits, brown or yellow in color with brown shades, which fleshy part was taken away with the aid of a knife; they were soaked in drinkable water for 12 h and they were rubbed with a metallic net several times until taking away the remainders of the fruit. In this species the very small seeds were discarded.

Seed preparation and storage

After selection, the seeds were washed during 5 min in water with liquid soap (Brisol®) at 2% (active compound: dodecyl-benzene sodium sulfonate) and Nevex® chlorine at 5% (active compound: sodium hypochlorite 0,26%). Afterwards, they were repeatedly washed with water until the chlorine smell disappeared and, to protect them, they were submerged in the fungicide Vitavax® (17% Carboxin + 17% Thiram) at 1% for 15 min and they were dried on absorbent paper under laboratory conditions (26°C) during 24 h and stored at 10°C for 15 days.

Pregerminative treatments

In the *P. dulce* seeds 14 pregerminative treatments were used, obtained from the combination of the exposition in 0 and 100 mg/L of gibberellic acid, during 0, 3, 6, 12, 24, 48 and 96 h, changing water every 12 h. In *L. leucocephala* 12 treatments were used, generated from the combination of the scarification with sandpaper No. 80 during 0, 20 and 40 min –conducted in four and eight sessions of 5 min, respectively– with soaking in water during 0, 24, 48 and 96 h.

Seeding

Afterwards, seeding was done in beds, with a substratum of sand (plant layer) and organic matter (washed cattle manure) at a 2:1 rate, previously disinfected with hot water. In each treatment four 90-cm long rows were used with

semillas de manzanita sólo se evaluaron los tiempos de remojo en agua de 0, 24, 48 y 96 h.

Siembra de las semillas

A continuación se realizó la siembra de las semillas en canteros, con sustrato de arena (capa vegetal) y materia orgánica (estiércol de bovino lavado) en proporción 2:1, previamente desinfectado con agua caliente. En cada tratamiento se utilizaron cuatro hileras de 90 cm de largo con una separación de 5 cm. En cada hilera se colocaron 35 semillas con una separación de 2,5 cm y profundidad de 1 cm, con excepción de la leucaena, donde se sembraron 40 semillas por hilera. El riego se realizó de forma manual, con una frecuencia interdiaria.

Variables medidas

Se efectuaron conteos del número de semillas emergidas; se consideró la emergencia de la plúmula para determinar el porcentaje de emergencia (PE) y la tasa de emergencia (TE) (Perozo *et al.*, 2006). Transcurridos 14 días en yacure y leucaena, y 28 días en manzanita, se evaluaron las siguientes variables: la altura de plántula (AP), la longitud de raíz (LR), el número de hojas (NH), el número de nudos (NN) y el grosor del tallo (GT). La AP y la LR se midieron en centímetros, con una regla graduada, la AP desde el ápice del vástago hasta la base de la plántula y la LR desde esta última hasta el ápice de la raíz principal. En el caso del NH y el NN se contó el número de hojas y de nudos presentes en cada plántula, y el GT se midió en milímetros con un pie de rey.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones y con arreglo factorial en yacure y leucaena. En manzanita se empleó un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones.

El análisis estadístico en manzanita se hizo a través de un análisis de varianza, y en yacure y leucaena mediante el procedimiento GLM (modelo lineal general) del programa SPSS versión 12 (Statistical Package for the Social Sciences) (Pérez, 2005). El estudio de las interacciones se

a 5-cm separation. In each row 35 seeds were placed with a separation of 2,5 cm and at a depth of 1 cm, except in *L. leucocephala*, of which 40 seeds were planted per row. Irrigation was manually carried out every other day.

Measured variables

Counts were made of the number of emerged seeds; the plumule emergence was considered to determine the emergence percentage (EP) and the emergence rate (ER) (Perozo *et al.*, 2006). After 14 days in *P. dulce* and *L. leucocephala*, and 28 days in *Z. mauritiana*, the following variables were evaluated: seedling height (SH), root length (RL), number of leaves (NL), number of nodes (NN) and stem diameter (SD). SH and RL were measured in centimeters, with a graduated ruler, SH from the shoot apex to the seedling basis and RL from the latter to the apex of the main root. In the case of NL and NN the number of leaves and nodes present in each seedling was counted, and the SD was measured in millimeters with a caliper.

Experimental design and statistical analysis

A randomized block experimental design with four repetitions and factorial arrangement was used in *P. dulce* and *L. leucocephala*. In *Z. mauritiana* a randomized block design with four repetitions was used.

The statistical analysis in *Z. mauritiana* was made through a variance analysis and in *P. dulce* and *L. leucocephala* by means of the GLM procedure of the program SPSS version 12 (Statistical package for the Social Sciences) (Pérez, 2005). The study of the interactions was conducted through the least square differences test (LSD). The EP was transformed by the equation $\arcsin(x+1)/2$ to adjust it to the normality. Descriptive statistics were calculated: means, standard deviations, minimum and maximum values, modes and medians of SH, RL, NL, NN and SD.

Results and Discussion

In *L. leucocephala*, the treatment which consisted in scarifying with sandpaper the seeds for 20 min and soaking them during 24 hours in

realizó a través de la prueba de diferencias mínimas cuadráticas (LSD). El PE se transformó mediante la ecuación arco seno $(x+1)/2$ para ajustarla a la normalidad. Se calcularon estadísticas descriptivas: medias, desviaciones estándar, valores mínimos y máximos, modas y medianas de AP, LR, NH, NN y GT.

Resultados y Discusión

En leucaena, el tratamiento que consistió en escarificar con lija las semillas durante 20 min y remojarlas por 24 h en agua antes de la siembra permitió el máximo porcentaje de emergencia (86,7%) y fue diferente ($P<0,05$) del resto (tabla 1). Después le siguieron el remojo en agua por 24 ó 48 h sin lija y el de escarificación con lija por 40 min más el remojo en agua por 24 h.

Tabla 1. Efecto de tratamientos pregerminativos en la emergencia de semillas de leucaena, después de 14 días de la siembra.

Table 1. Effect of pregerminative treatments on the emergence of *L. leucocephala* seeds, 14 days after seeding.

Escarificación con lija No. 80	Tiempo de remojo (h)	Emergencia (%)
0	0	4,9 ^g
	24	63,7 ^b
	48	59,0 ^b
	96	28,7 ^{de}
20 min	0	21,3 ^{ef}
	24	86,7 ^a
	48	38,4 ^{cd}
	96	10,2 ^{fg}
40 min	0	47,5 ^c
	24	65,1 ^b
	48	16,8 ^f
	96	4,6 ^g
ES+		2,3 ^{**}

Medias con letras distintas difieren significativamente ($P<0,01$)

** $P<0,01$

Los tiempos de remojo de 48 y 96 h disminuyeron significativamente la emergencia en esta especie. El porcentaje de emergencia en las semillas escarificadas con lija durante 40 min y remojadas por 96 h no difirió del de 20 min de escarificación con lija y 96 h de remojo, ni del testigo (sin remojo y sin lija). La baja respuesta

water before seeding, allowed the maximum emergence percentage (86,7%) and was different ($P<0,05$) from the rest (Table1). Afterwards, soaking in water for 24 or 48 hours without sandpaper and scarification with sandpaper during 40 min plus soaking in water during 24 h followed.

The soaking times 48 and 96 h significantly decreased the emergence in this species. The emergence percentage in the seeds scarified with sandpaper during 40 min and soaked for 96 h did not differ from the treatment 20 min of scarification with sandpaper and 96 h of soaking, or from the control (without soaking and sandpaper). The low response observed in the treatments with 96-h soaking was associated to the reduction of oxygen supply, in spite of the water changes made every 12 h, which prevented the gaseous exchange essential for the respiration process in seeds, when the metabolic transformations necessary for germination and seedling development occur (Atencio *et al.*, 2003). The emergence percentage of the control (4,9%) indicated the presence of 95,1% of dormancy in the *L. leucocephala* seeds.

On the other hand, no significant differences were found among the different treatments for emergence, which was 5,39 days.

The best results in the emergence of *L. leucocephala* were obtained when the seeds were imbibed during 24 h, after the scarification of the seed coat, with sandpaper for 20 min. This scarification and the imbibitions in water allowed withdrawing the first layers of lignified cells present on the seed coat and softening it (Sánchez and Ramírez, 2006), which facilitated the hydration stage and the onset of the enzymatic processes which accelerated the seedling emergence.

In addition, such treatment allowed advancing the emergence if it is compared to the reports by Sánchez and Ramírez (2006), who when imbibing the seeds in hot water at 80°C during 10 min achieved, 20 days after seeding, an emergence percentage very similar to the one obtained in this study with *L. leucocephala*. Other reports have shown 95% of emergence 30 days after planting (Medina *et al.*, 2007) and 89,7%

observada en los tratamientos con 96 h de remojo se asoció a la reducción de la provisión de oxígeno, a pesar de los cambios de agua realizados cada 12 h, lo que impidió el intercambio gaseoso imprescindible para el proceso de respiración en las semillas, cuando ocurren las transformaciones metabólicas necesarias para la germinación y el desarrollo de la plántula (Atencio *et al.*, 2003). El porcentaje de emergencia del testigo (4,9 %) indicó la presencia de un 95,1% de latencia en las semillas de leucaena.

Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos para la tasa de emergencia, la cual fue de 5,39 días.

Los mejores resultados en la emergencia de la leucaena se obtuvieron cuando las semillas se embebieron por un tiempo de 24 h, después de la escarificación de la cubierta, con lija, por 20 min. Esta escarificación y el remojo en agua permitieron retirar las primeras capas de células lignificadas presentes en la cubierta de la semilla y suavizarla (Sánchez y Ramírez, 2006), lo que facilitó la fase de hidratación y el inicio de los procesos enzimáticos que aceleraron la emergencia de las plántulas.

Adicionalmente, dicho tratamiento permitió adelantar la emergencia si se compara con lo informado por Sánchez y Ramírez (2006), quienes al remojar las semillas en agua caliente a 80°C durante 10 min lograron, a los 20 días después de la siembra, un porcentaje de emergencia muy parecido al que se obtuvo en esta investigación con leucaena. Otros reportes han mostrado un 95% de emergencia a los 30 días después de la siembra (Medina *et al.*, 2007) y 89,7% de germinación, a los 21 días, cuando las semillas recién cosechadas se sumergieron en agua caliente a 80°C por 2 min (González y Mendoza, 2008).

El porcentaje de emergencia obtenido se encuentra por encima de los reportados en otras investigaciones (Razz y Clavero, 2003; Bosco, 2008; Pérez *et al.*, 2008). En algunas de ellas la escarificación de las semillas se realizó mediante el uso de ácidos fuertes (Razz y Clavero, 2003; Bosco, 2008), como el ácido sulfúrico, sustancia costosa de alta peligrosidad, nociva para el operador y contaminante para el ambiente.

germination after 21 days, when the newly-harvested seeds were submerged in hot water at 80°C for 2 min (González and Mendoza, 2008).

The emergence percentage obtained is found to be above the ones reported in other studies (Razz and Clavero, 2003; Bosco, 2008; Pérez *et al.*, 2008). In some of them seed scarification was made through the use of strong acids (Razz and Clavero, 2003; Bosco, 2008), such as sulfuric acid, highly dangerous and costly substance, noxious for the operator and contaminant for the environment.

Regarding the soaking time in water, Sánchez (2002) indicated that 48 h increased emergence and reduced the days to emergence, when the seeds were previously scarified during 45 seconds with hot water (80 and 100°C). This differs from the results of this research, in which the times equal to or higher than 48 h decreased seed emergence, with or without scarification with sandpaper. It should be emphasized that the soaking treatment, independently from the scarification or not with sandpaper, obtained emergence percentages higher than 63%, which has high practical usefulness, due to the bothersome work of applying sandpaper to the seed under production conditions.

In the *P. dulce* seeds, 14 days after planting, the treatments with imbibitions times of 48 and 96 h in water or gibberellic acid were observed to show an inhibiting or reducing effect on emergence, which was more stressed in the 96-h time, which significantly differed ($P < 0,05$) from the other treatments. The *P. dulce* intact or control seeds had a high emergence percentage (91,3%), which turned out to be similar to that of the seeds soaked in water or gibberellic acid for times lower than or equal to 24 h. The emergence percentage in *P. dulce* indicated that pregerminative treatments are not necessary in this species, which coincides with the report by Parrota (1991); besides, it exceeded the 61,5% indicated by Razz and Clavero (2003) in seeds treated with hot water at 60°C for 5 min.

The *P. dulce* emergence began two days after planting, towards day four it had an accelerated increase, followed by small increases in day six

En cuanto al tiempo de remojo en agua, Sánchez (2002) indicó que el de 48 h incrementó la emergencia y redujo los días para la emergencia, cuando las semillas se escarificaron, previamente, durante 45 segundos con agua caliente (80 y 100°C). Ello difiere de los resultados de esta investigación, en la cual los tiempos mayores o iguales a 48 h disminuyeron la emergencia en las semillas, con o sin escarificación con lija. Es de destacar que el tratamiento de 24 horas en remojo, independientemente de que fuera escarificado con lija o no, obtuvo valores de emergencia superiores a 63%, lo que confiere gran utilidad práctica, por lo engorroso de aplicar la lija a la semilla en condiciones de producción.

En las semillas de yacure se observó, a los 14 días después de la siembra, que los tratamientos con tiempos de imbibición por 48 y 96 h en agua o ácido giberélico mostraron un efecto inhibitorio o de reducción en la emergencia, que fue más acentuado en el de 96 h, lo que difirió significativamente ($P < 0,05$) de los demás tratamientos. Las semillas intactas o testigo de yacure tuvieron un alto porcentaje de emergencia (91,3%), que resultó semejante al de las semillas remojadas en agua o en ácido giberélico por tiempos menores o iguales a 24 h. El porcentaje de emergencia en yacure indicó que los tratamientos pregerminativos no son necesarios en esta especie, lo cual coincide con lo señalado por Parrota (1991); además, superó el 61,5% indicado por Razz y Clavero (2003) en semillas tratadas con agua caliente a 60°C por 5 min.

La emergencia del yacure se inició a los dos días después de la siembra, hacia el día cuatro tuvo un aumento acelerado, seguido por pequeños incrementos en el día seis y se hizo constante a partir del día ocho (fig. 1). La AG, el TR y la interacción entre la AG y el TR no mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la tasa de emergencia, la cual fue de 4,61 días.

El tiempo de remojo en agua (0, 24, 48 y 96 h) en las semillas de manzanita no influyó significativamente en el porcentaje de emergencia, ni en la tasa de emergencia, a los 21 días después de la siembra. El porcentaje de emergencia fue alto (98,4%); los valores de la

and it became constant since day eight. The GA, ST and the interaction between GA and ST did not show significant differences ($P < 0,05$) in the emergence rate, which was 4,61 days.

The soaking time in water (0, 24, 48 and 96 h) in the *Z. mauritiana* seeds did not significantly influence the emergence percentage, or the emergence rate, 21 days after seeding. The emergence percentage was high (98,4%), the values of the standard deviation, maximum value, minimum value, mean and mode of both variables showed that there was little variability ($VC = 5,7\%$) during the emergence of this species (table 2).

The fact that the soakings in water or moist scarification did not influence *Z. mauritiana* emergence, is analogous to the report in *Z. mistol* Gris. (Araoz and del Longo, 2006). Although it is contrasting as compared to other species from the *Ziziphus* genus (Araoz and del Longo, 2006), possibly due to the differences in morphology, chemical composition, thickness and/or permeability of the seed coats which can vary within the same species, which determines variation in the effectiveness of the treatments to break down the physical dormancy.

The values of the standard deviation of seedling height, root length, number of nodes and number of leaves, in *P. dulce* and *L. leucocephala* 14 days after seeding and in *Z. mauritiana* after 28 days, showed low variability because the variation coefficients were below or very close to 20% (table 3), with the exception of root length and stem diameter in *P. dulce* and the number of nodes in *Z. mauritiana*, which were considered to have moderate variability. The *L. leucocephala* seedlings showed the lowest variation coefficients, and those of *Z. mauritiana* showed the highest. In the minimum and maximum values a wide range was detected in seedling height, root length, number of nodes, number of leaves and stem diameter of *P. dulce*, *L. leucocephala* and *Z. mauritiana*.

Regarding the central trend indicators (mode and median), the mode of each variable showed the value that was most repeated within the analyzed population. The median, which occupies

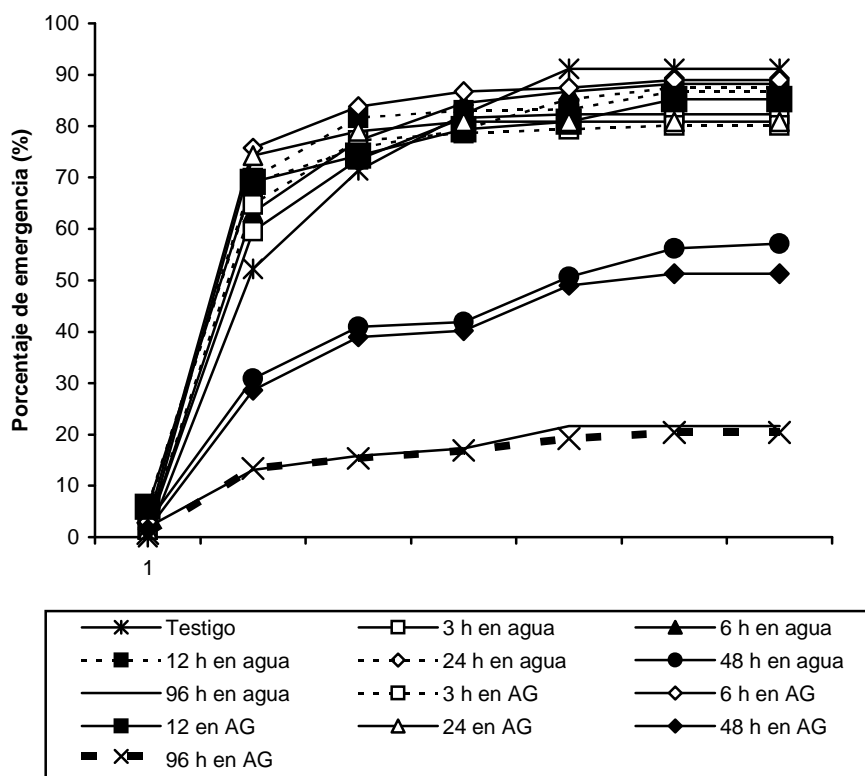


Figura 1. Efecto de los tratamientos pregerminativos en el porcentaje de emergencia en semillas de yacure, en función de los días después de la siembra.

Figure 1. Effect of pregerminative treatments on the emergence percentage of *P. dulce* seeds, with regards to days after seeding.

AG: 100 mg/L de ácido giberélico. Medias agrupadas con corchete e identificadas con las letras a, b y c, a los 14 días después de la siembra, difieren significativamente ($P < 0,05$).

desviación estándar, el valor máximo, el valor mínimo, la mediana y la moda de ambas variables mostraron que hubo poca variabilidad (CV=5,7%) durante la emergencia de esta especie (tabla 2).

El hecho de que los remojos en agua o la escarificación húmeda no influyeran en la emergencia de la manzanita tiene analogía con lo señalado

the central spot within the series of values of the studied population, arranged in increasing and decreasing order, turned out to be very similar to the median in all variables, which indicated that the variables had a normal trend.

The low variability in the *P. dulce*, *L. leucocephala* and *Z. mauritiana* seedlings was associated to the high quality of the seeds used,

Tabla 2. Porcentaje de emergencia y tasa de emergencia en semillas de manzanita, a los 21 días después de la siembra.

Table 2. Emergence percentage and emergence rate in *Z. mauritiana* seeds, 21 days after seeding.

Variable	Media	DE	Valor mínimo	Valor máximo	Moda	Mediana	CV (%)
Emergencia (%)	98,4	5,6	93,9	100,0	100,0	99,0	5,7
Tasa de emergencia (días)	8,9	1,0	6,3	10,8	8,8	9,1	11,2

DE: Desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

en mistol (*Z. mistol* Gris.) por Araoz y del Longo (2006), aunque es contrastante respecto a otras especies del género *Ziziphus* (Araoz y del Longo, 2006), debido posiblemente a las diferencias en la morfología, la composición química, el espesor y/o la permeabilidad de las cubiertas de la semilla, que pueden variar dentro de una misma especie; ello determina la variación en la efectividad de los tratamientos de ruptura de la latencia física.

Los valores de la desviación estándar de la altura de la plántula, la longitud de la raíz, el número de nudos y el número de hojas, en yacure y leucaena a los 14 días de la siembra y en manzanita a los 28 días, presentaron una variabilidad baja, debido a que los coeficientes de variación estuvieron por debajo o muy cercanos al 20% (tabla 3), con excepción de la longitud de

which was shown in normally and homogeneously grown seedlings, aspects which are very important in the measurement of such quality (Perozo *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2009). The variability detected in the seedlings was related to the heterozygous character and the crossed pollination of these species (Flores *et al.*, 2009; Sánchez and Ramírez, 2006); this leads to genetic segregation in the offspring, which is very important in sustainable development systems with low environmental impact, such as agroforestry and urban forestry.

The *P. dulce* and *L. leucocephala* (14 days after seeding) and *Z. mauritiana* seedlings (after 21 days) showed homogeneous and fast growth. Nevertheless, the first ones emerged were higher and showed higher values in the other variables, situation that allows suggesting that the transplant

Tabla 3. Características morfológicas de las plántulas de yacure, leucaena y manzanita.
Table 3. Morphological characteristics of the *P. dulce*, *L. leucocephala* and *Z. mauritiana* seedlings.

Variable	Media	DE	Valor mínimo	Valor máximo	Moda	Mediana	CV (%)
<i>Leucaena, 14 dds</i>							
Altura de plántula (cm)	17,5	1,6	10,0	18,6	15,35	13,21	9,1
Longitud de raíz (cm)	9,2	1,0	5,5	11,0	7,6	7,4	10,9
Numero de nudos	4,4	0,8	2,0	7,6	4,0	4,4	18,2
Número de hojas	4,8	0,8	3,0	17,7	5,7	4,7	16,7
Grosor del tallo (mm)	0,65	0,15	0,2	1,65	0,5	0,7	23,1
Observaciones = 1 348							
<i>Yacure, 14 dds</i>							
Altura de plántula (cm)	14,9	3,1	3,3	24,0	15,0	15,0	20,8
Longitud de raíz (cm)	8,7	3,0	1,0	23,3	8,0	8,6	34,5
Numero de nudos	7,7	1,6	1,0	14,0	8,0	8,0	20,1
Número de hojas	8,4	1,7	2,0	18,0	8,0	8,0	20,2
Grosor del tallo (mm)	0,6	0,25	0,2	0,65	0,5	0,7	41,6
Observaciones = 1 263							
<i>Manzanita, 28 dds</i>							
Altura de plántula (cm)	13,7	3,6	4,5	17,5	13,5	12,1	26,3
Longitud de raíz (cm)	15,1	4,2	4,3	20,8	12,5	12,5	27,8
Numero de nudos	7,4	2,4	4,0	13,0	7,0	7,5	32,4
Número de hojas	7,6	2,0	4,0	15,0	7,1	7,6	26,3
Grosor del tallo (mm)	1,45	0,37	0,6	1,8	1,2	1,1	25,5
Observaciones = 432							

DE: Desviación estándar; CV: coeficiente de variación; dds: días después de la siembra.

la raíz y el grosor del tallo en yacure y el número de nudos en manzanita, que se consideraron de mediana variabilidad. Las plántulas de leucaena mostraron los menores coeficientes de variación, y las de manzanita, los mayores. En los valores mínimo y máximo se detectó un rango amplio en la altura de la plántula, la longitud de la raíz, el número de nudos, el número de hojas y el grosor del tallo de yacure, leucaena y manzanita.

En cuanto a los indicadores de tendencia central (moda y mediana), la moda de cada variable mostró el valor que más se repitió dentro de la población analizada. La mediana, que ocupa el lugar central dentro de la serie de valores de la población estudiada, ordenada en sentido creciente y decreciente, resultó muy semejante a la media en todas las variables, lo que indicó que las variables tuvieron una tendencia normal.

La baja variabilidad en las plántulas de yacure, leucaena y manzanita se asoció a la alta calidad de las semillas empleadas, que se manifestó en plántulas con un desarrollo normal y homogéneo, aspectos muy importantes en la medición de dicha calidad (Perozo *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2009). La variabilidad detectada en las plántulas se relacionó con el carácter heterocigótico y el modo de polinización cruzada que poseen estas especies (Sánchez y Ramírez, 2006; Flores *et al.*, 2009); ello conduce a la segregación genética en la descendencia, la cual es muy importante en los sistemas de desarrollo sostenibles con bajo impacto ambiental, como el agroforestal y la silvicultura urbana.

Las plántulas de yacure y leucaena (a los 14 días) y de manzanita (a los 21 días) mostraron un desarrollo homogéneo y rápido. Sin embargo, las primeras que emergieron presentaron una mayor altura y valores más elevados en las otras variables, situación que permite sugerir que el trasplante a las bolsas debe realizarse cuando tengan dos o tres hojas, para lograr un mayor éxito.

Los altos porcentajes de emergencia y las características morfológicas de las plántulas demostraron que a los 14 días en yacure y leucaena, y a los 21 días en manzanita, se obtuvo un gran número de plántulas con adecuada altura y longitud de la raíz; ello indica que es conveniente y

to the bags must be done when they have two or three leaves, in order to achieve higher success.

The high emergence percentages and the morphological characteristics of the seedlings showed that 14 days after seeding in *P. dulce* and *L. leucocephala*, and after 21 days in *Z. mauritiana*, a large number of seedlings was obtained with adequate height and root length, indicating that direct seeding, in bags, which height is over 20 or 25 cm, or in trays with multiple holes, with a minimum time required to prevent damage or malformations in the root system, is convenient and necessary. In some works it has been reported that the success of transplant decreases as the plants are bigger, because it causes higher physiological stress (Flores *et al.*, 2009).

It is important to emphasize the relevance of the results, in terms of emergence, of *Z. mauritiana*, as well as the morphological characteristics in the *P. dulce* and *Z. mauritiana* seedlings, because in international literature there are no reports related to the emergence of *Z. mauritiana* or to the morphology of the seedlings of both species.

The height mean of the *L. leucocephala* seedlings, as well as the mode and median, largely exceeded those indicated by Medina *et al.* (2007); this is possibly due to the differences in the experimentation environment conditions, although the stem diameter of *L. leucocephala* was in correspondence with the one reported by those authors.

The treatment used in *L. leucocephala* in this study is considered a contribution, because, in other works (Razz and Clavero, 2003; Bosco, 2008) sulfuric acid was used, a substance which requires extreme care for its handling and contaminates the environment. The information presented sets the bases for continuing other studies in *P. dulce*, *L. leucocephala* and *Z. mauritiana*.

It is concluded that the pregerminative treatments allowed increasing and advancing emergence only in *L. leucocephala* seeds. The treatment, which consisted in the scarification of *L. leucocephala* seeds with sandpaper No. 80 during 20 min and soaking in water for 24 h, with

necesaria la siembra directa, en bolsas, de las semillas cuya altura sea superior a los 20 ó 25 cm, o bien en bandejas de múltiples hoyos, con un tiempo mínimo requerido para evitar daños o malformaciones en el sistema radical. En algunos trabajos se ha reportado que el éxito del trasplante disminuye en la medida que las plantas sean más grandes, debido a que se ocasiona un mayor estrés fisiológico (Flores *et al.*, 2009).

Es importante destacar la relevancia de los resultados de la manzanita en términos de emergencia, así como las características morfológicas en las plántulas de yacure y de manzanita, debido a que en la literatura internacional no hay reportes relacionados con la emergencia de la primera ni con la morfología de las plántulas de ambas especies.

La media de la altura de las plántulas en leucaena, así como la moda y la mediana, superaron ampliamente las indicadas por Medina *et al.* (2007); esto posiblemente se deba a las diferencias en las condiciones del ambiente de experimentación, aunque el diámetro del tallo de la leucaena se correspondió con el reportado por dichos autores.

El tratamiento utilizado en la leucaena en esta investigación se considera un aporte, debido a que, en otros trabajos (Razz y Clavero, 2003; Bosco, 2008) se usó el ácido sulfúrico, sustancia que requiere de extremos cuidados para su manipulación y contamina el ambiente. La información presentada sienta las bases para la continuación de otros estudios en el yacure, la leucaena y la manzanita.

Se concluye que los tratamientos pregerminativos permitieron incrementar y adelantar la emergencia solo en las semillas de leucaena. El tratamiento que consistió en la escarificación de las semillas de leucaena con lija No. 80 durante 20 min y el remojo en agua por 24 h, con cambios de agua cada 12 h, produjo un alto porcentaje de emergencia. Estos tratamientos pregerminativos son ambientalistas, fáciles y económicos para los productores y los viveristas.

En las semillas de yacure y de manzanita los tratamientos pregerminativos no influyeron en la emergencia y ambas especies mostraron un alto porcentaje en este indicador. Las plántulas de

water changes every 12 h, produced a high emergence percentage. These pregerminative treatments are environmentalists, easy and economical for farmers and nursery workers.

In the *P. dulce* and *Z. mauritiana* seeds the pregerminative treatments did not influence emergence and both species showed a high percentage in this indicator. The seedlings of the three species showed homogeneous and fast growth.

Acknowledgements

To CONDES-LUZ for the funding granted under the project no. 0574-10, "Propagation of species of horticultural interest and autochthonous species from the high plateau of Maracaibo and its surroundings with purposes of recovery of crops, forests and green areas". To the university nursery of LUZ, for providing its facilities to conduct this study.

--End of the English version--

las tres especies mostraron un desarrollo homogéneo y rápido.

Agradecimientos

Al CONDES-LUZ por el financiamiento otorgado bajo el proyecto no. 0574-10, "Propagación de especies de interés hortícola y autóctonas de la altiplanicie de Maracaibo y sus alrededores con fines de recuperación de siembra, bosques y áreas verdes". Al vivero universitario de LUZ por proporcionar sus instalaciones para llevar a cabo esta investigación.

Referencias bibliográficas

- Araoz, S. & del Longo, O. 2006. Tratamientos pregerminativos para romper la dormición física impuesta por el endocarpo en *Ziziphus mistol* Grisebach. *Quebracho*. 13:56
- Atencio, L. *et al.* 2003. Tratamientos pregerminativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 20:63
- Avilan, L. *et al.* 1992. Manual de Fruticultura. Principios y manejo de la producción. 2da. ed. Editorial América, C.A. Venezuela. 1469 p.

- Bosco, A. 2008. Germinação de sementes de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) var. K-72. *Revista de Biología e Ciências da Terra*. 8:166
- Caraballo, L. 2008. Evaluación de tratamientos para estimular la germinación de 2 especies de leguminosas forrajeras arbóreas, algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.) y cañafistolo llanero (*Cassia fistula*), y el desarrollo en fase de vivero de algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.). Trabajo de grado. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado", Decanato de Agronomía. Venezuela. 78 p.
- Ewel, J. & Madriz, A. 1976. Zonas de vida en Venezuela. Memoria explicativa sobre mapa ecológico. Ministerio de Agricultura y Cría (MAC). 2da. ed. Editorial Sucre, Caracas. 270 p.
- Flores, E. et al. 2009. Evaluación de la emergencia y las características morfológicas iniciales de *Tamarindus indica* L. con fines agroforestales. *Pastos y Forrajes*. 32:1
- García, D.E. & Medina, María G. 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical*. 24: 233
- García, D.E. & Medina, María G. 2011. Algunas consideraciones para la implementación de sistemas agroforestales en el estado Trujillo, Venezuela. Informe de investigación. Departamento de Ciencias Agrarias, Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela. 12 p.
- González, Yolanda & Mendoza, F. 2008. Efecto del agua caliente en la germinación de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes*. 31:47
- Hoyos, J. 1992. Árboles tropicales ornamentales cultivados en Venezuela. Monografía 38. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Venezuela. 265 p.
- Lamela, L. et al. 2010. Producción de leche de una asociación de *Leucaena leucocephala*, *Morus alba* y *Pennisetum purpureum* CT-115 bajo condiciones de riego. *Pastos y Forrajes*. 33:311
- Medina, María G.; García, D.E.; Clavero, T. & Iglesias, J. 2007. Estudio comparativo de *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* durante la germinación y la etapa inicial de crecimiento. *Zootecnia Tropical*. 25:83
- Parrotta J. 1991. *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. Guamúchil, Madrasthorn. SO-ITF-SM-40. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station, New Orleans. 5 p.
- Pérez, A. et al. 2008. Consideraciones acerca de la *Leucaena leucocephala* cv. X: una nueva opción forrajera para un ecosistema ganadero con suelos ácidos e infértiles. *Pastos y Forrajes*. 31:355
- Pérez, C. 2005. Técnicas estadísticas con SPSS 12. Aplicaciones al análisis de datos. Editorial Pearson Prentice Hall, Pearson Education, Madrid, España. 802 p.
- Perozo, A. et al. 2006. Germinación y caracterización morfológica de plántulas de merey (*Anacardium occidentale* L.) tipo Amarillo. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 23:17
- Petit, J. et al. 2010. Rendimiento de forraje de *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* y *Moringa oleifera* asociadas y en monocultivo en un banco de forraje. *Revista Forestal Venezolana*. 54:161
- Razz, R. & Clavero, T. 2003. Efecto de la escarificación, remojo y tiempos de almacenamiento sobre la germinación de *Pithecellobium dulce*. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 20:180
- Sánchez, A. 2002. Efecto del tratamiento con agua caliente e imbibición sobre la germinación de semillas de *L. leucocephala*. *Revista Científica*. 12: 581
- Sánchez, Y. & Ramírez, M. 2006. Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 23:257
- Sierra, J. & Nygren, P. 2006. Transfer of N fixed by a legume tree to the associated grass in a tropical silvopastoral system. *Soil Biology and Biochemistry*. <http://www.elsevier.com/locate/soilbio>. [Consulta: 07/09/2011].
- Vergara, J. et al. 2006. Efecto de la suplementación con leucaena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch). *Revista Científica*. 16:642

Recibido el 27 de septiembre del 2011

Aceptado el 16 de noviembre del 2011