

# ENERGÍA GERMINATIVA EN GUAJE (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) CON DIFERENTES MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN DE LA SEMILLA

## GERMINATIVE ENERGY IN GUAJE (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) WITH DIFFERENT METHODS OF SEED SCARIFICATION

Adrián Sánchez-Gómez<sup>1</sup>, Adalberto Rosendo-Ponce<sup>1</sup>, J. Manuel Vargas-Romero<sup>2</sup>, Froylan Rosales-Martínez<sup>3</sup>,  
D. Esteban Platas-Rosado<sup>1</sup>, Carlos M. Becerril-Pérez<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Campus Veracruz. Colegio de Postgraduados. 91690, Veracruz, México. (adrian.gomez@colpos.mx), (color@colpos.mx). <sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. San Rafael Atlixco 186. Colonia Vicentina, Iztapalapa, Ciudad de México, D.F., México. (jmvr@xanum.uam.mx). <sup>3</sup>Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México, 56230.

### RESUMEN

La velocidad de germinación del guaje (*Leucaena leucocephala*) después de la siembra debe tenerse en cuenta en la reforestación de espacios dedicados al pastoreo en la zona intertropical de climas cálidos. En este estudio se compararon tratamientos de escarificación en semillas de guaje con el objetivo de evaluar su efecto sobre la energía germinativa y el valor de germinación. El diseño experimental fue completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento y las unidades experimentales fueron grupos de 100 semillas. Los tratamientos fueron: 1) sin escarificación; 2) inmersión en agua a 80 °C por 3 min (hidrotérmico); inmersiones por 12 h en 3) agua a 24 °C; 4) alcohol etílico de 70 °GL; 5) diluyente orgánico thinner, y 6) peróxido de hidrógeno diluido a 2 %. Las semillas se depositaron en un sustrato de suelo tipo franco arcilloso y permanecieron expuestas a la intemperie protegidas con malla sombra. La germinación total fue mayor con la escarificación hidrotérmica (55 %) respecto a los demás tratamientos excepto para la inmersión en agua ( $p > 0.05$ ), pero con este tratamiento la energía germinativa y viabilidad fue la más baja. La inmersión en agua presentó la mayor energía germinativa (31.66 %), por lo que mejoró la velocidad de germinación de las semillas de guaje sin afectar su valor de germinación y viabilidad. La escarificación hidrotérmica estimuló la germinación total y valor de germinación, pero redujo la velocidad de germinación con respecto a los otros tratamientos, los cuales mostraron valores intermedios de energía germinativa. La escarificación con diluyente orgánico causó el valor más bajo de germinación (4 %) y de germinación total (31 %), respectivamente. Este estudio permite concluir que en semillas de

### ABSTRACT

The germination velocity of guaje (*Leucaena leucocephala*) after planting should be considered in the reforestation of spaces dedicated to grazing in the intertropical zone of hot climates. In the present study scarification treatments were compared in guaje seeds with the objective of evaluating its effect on germinative energy and germination value. The experimental design was completely randomized, with three replications per treatment, and the experimental units were groups of 100 seeds. The treatments were as follows: 1) without scarification; 2) immersion in water at 80 °C for 3 min (hydrothermal); immersions for 12 h in 3) water at 24 °C; 4) ethylic alcohol of 70 °GL; 5) organic thinner diluent, and 6) hydrogen peroxide diluted to 2 %. The seeds were deposited in a clay loam soil substrate and remained exposed to the weather protected by shade mesh. Total germination was higher with hydrothermal scarification (55%) with respect to the other treatments, except for immersion in water ( $p > 0.05$ ), but with this treatment the germinative energy and viability was the lowest. Immersion in water presented the highest germinative energy (31.66 %), thus it improved germination velocity of the guaje seeds without affecting their germination value and viability. The hydrothermal scarification stimulated total germination and germination value, but it reduced germination velocity with respect to the other treatments, which showed intermediate values of germinative energy. Scarification with organic diluent caused the lowest value of germination (4 %) and total germination (31 %), respectively. The present study makes it possible to conclude that in guaje seeds scarification by immersion in water at 24 °C for 12 h and in water at 80 °C for 3 min favored total germination, but immersion in water increased germination velocity.

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2017. Aprobado: mayo, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 52: 863-874. 2018.

**guaje la escarificación por inmersión en agua a 24 °C por 12 h y en agua a 80 °C por 3 min favorecieron la germinación total, pero la inmersión en agua incrementó la velocidad de germinación.**

**Palabras clave:** *Leucaena leucocephala*, velocidad de germinación, valor de germinación, sistemas silvopastoriles.

## INTRODUCCIÓN

La ganadería basada en el pastoreo es responsable del cambio en el paisaje de bosques y selvas tropicales; además, es una actividad económica con repercusiones ambientales y sociales (Chará *et al.*, 2011). *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (guaje) es una alternativa sostenible para la reforestación de espacios dedicados a la producción pecuaria en la zona intertropical de climas cálidos (Bacab *et al.*, 2013), debido al impacto positivo en el restablecimiento del estrato arbóreo que contribuye a contrarrestar la desertificación, proporcionar servicios ambientales y aumentar la productividad y calidad de los productos de origen animal (Cuartas *et al.*, 2014).

Las semillas ortodoxas de guaje (Arriaga *et al.*, 1994) están cubiertas por una ligera capa de los polisacáridos galactosa y manosa (Gutiérrez *et al.*, 2007) que impide el paso de agua y oxígeno, disminuye el vigor germinativo y propicia porcentajes de germinación inferiores a 20 %, lo cual limita su utilización (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos, 2006). Los tratamientos pregerminativos, como la escarificación, ayudan a incrementar la respuesta de germinación de diversas semillas, incluyendo las de guaje, interrumpiendo su periodo de dormancia. Los métodos de escarificación son mecánicos y químicos, como la remoción manual de la testa, escarificación con papel lija, tratamientos hidrotérmicos, inmersión en agua a temperatura ambiente o inmersión en ácido sulfúrico (Teles *et al.*, 2000; Gómez-Merino *et al.*, 2010; González *et al.*, 2012). Para la escarificación de semillas duras como las de los géneros *Prosopis* y *Acacia*, Ffolliott y Thames (1983) recomiendan el alcohol etílico y para la escarificación de semillas de *Heliconia* diluyentes orgánicos como el aguarrás. Barba-Espín *et al.* (2012) consideran al peróxido de hidrógeno como potenciador metabólico de la germinación en otras leguminosas.

La germinación total de semillas de guaje aumentó en más de 20 % al escarificar con agua a 80 °C con

**Key words:** *Leucaena leucocephala*, germination velocity, germination value, silvopastoral grazing systems.

## INTRODUCTION

Grazing based cattle production is co-responsible for the change in the landscape of tropical forests; furthermore, it is an economic activity with environmental and social repercussions (Chará *et al.*, 2011). *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (guaje) is a sustainable alternative for reforestation in spaces dedicated to livestock production in the intertropical zone of hot climates (Bacab *et al.*, 2013), due to the positive impact in the reestablishment of the arboreal strata that contributes to countering desertification, as well as providing environmental services and increasing the productivity and quality of products of animal origin (Cuartas *et al.*, 2014).

Orthodox guaje seeds (Arriaga *et al.*, 1994) are covered with a light coating of the polysaccharides galactose and mannose (Gutiérrez *et al.*, 2007) which impedes the passage of water and oxygen, decreases germinative vigor and propitiates germination percentages below 20 %, which limits their use (Sánchez-Paz and Ramírez-Villalobos, 2006). The pre-germinative treatments, such as scarification help to increment the germination response of diverse seeds, including those of guaje, interrupting their period of dormancy. The scarification methods are mechanical and chemical, such as the manual removal of the shell, scarification with sandpaper, hydrothermal treatments, immersion in water at room temperature or immersion in sulfuric acid (Teles *et al.*, 2000; Gómez-Merino *et al.*, 2010; González *et al.*, 2012). For the scarification of hard seeds such as those of the genera *Prosopis* and *Acacia*, Ffolliott and Thames (1983) recommend ethylic alcohol and for scarification of seeds of *Heliconia*, organic diluents such as turpentine. Barba-Espín *et al.* (2012) consider hydrogen peroxide as a metabolic potentiator of germination in other legumes.

Total germination of guaje seeds increased by more than 20 % with scarification with water at 80 °C with 2 to 10 min immersion (Sánchez-Paz and Ramírez-Villalobos, 2006; González and Mendoza, 2008; González *et al.*, 2009; González *et al.*, 2012). According to Teles *et al.* (2000), germination was higher than 90 % using scarification with water at 80 °C for 5 and 10 min. When scarification

2 a 10 min de inmersión (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos, 2006; González y Mendoza, 2008; González *et al.*, 2009; González *et al.*, 2012). Según Teles *et al.* (2000), la germinación fue superior a 90 % al escarificar con agua a 80 °C por 5 y 10 min. Al escarificar con agua caliente ocurre un efecto positivo en la germinación total, pero en los estudios realizados no se consideró la velocidad de germinación. El comportamiento heliófilo del guaje, su lento crecimiento y desarrollo en los primeros 90 d después de la siembra, indican que se debe tratar la semilla para mejorar su establecimiento y tener una germinación temprana menor a 7 d, porque la plántula tiene dificultades para propagarse debido a la competencia con otras especies en terrenos con dosel denso (Calle *et al.*, 2011).

La energía germinativa definida como el porcentaje de semillas de una muestra que emerge hasta llegar al momento de germinación máxima (Pece *et al.*, 2010b) o un periodo corto de 7 d para especies forestales, y el valor de germinación, que combina la energía germinativa y la velocidad de germinación (Djavanshir y Pourbeik, 1976), son indicadores pertinentes del vigor de la semilla durante los primeros días de la germinación. Estos indicadores son apropiados porque las semillas que germinan con rapidez y vigor en condiciones controladas, tienen mayor probabilidad de generar plántulas vigorosas en terrenos naturales (Ffolliott y Thames, 1983). Aunque el tratamiento hidrotérmico de la semilla de guaje ha mostrado efectos positivos en la germinación total, se desconoce su efecto en la velocidad de germinación, por lo que es conveniente compararlo con otros tratamientos que han mostrado mejor efecto en la viabilidad y velocidad de germinación y se usan para escarificar semillas.

Por lo tanto, el objetivo de estudio fue comparar la germinación total y viabilidad de cinco métodos de escarificación de la semilla de guaje, considerando el efecto en su energía germinativa y valor de germinación, como indicadores de la velocidad de germinación en condiciones semicontroladas de invernadero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El estudio se realizó en el predio El Huilango, municipio de Cotaxtla, Veracruz, México, a 18° 53' N y 96° 15' O y 30 msnm durante octubre y noviembre de 2014. La temperatura y precipitación media

with hot water is applied, a positive effect occurs in total germination, but in the studies that were performed, germination velocity was not considered. The heliophyllic behavior of guaje, its slow growth and development in the first 90 d after planting, indicate that the seed should be treated to improve its establishment and to have an early germination in under 7 d, because the seedling has difficulties in propagation due to competition with other species in land with dense canopy (Calle *et al.*, 2011).

Germinative energy, defined as the percentage of seeds of a sample that emerge until reaching the moment of maximum germination (Pece *et al.*, 2010b) or a short period of 7 d for forest species, and the germination value, which combines germinative energy and germination velocity (Djavanshir and Pourbeik, 1976), are indicators pertinent to seed vigor during the first days of germination. These indicators are appropriate because the seeds that germinate with speed and vigor under controlled conditions have a higher probability of generating vigorous seedlings in natural plots (Ffolliott and Thames, 1983). Although the hydrothermal treatment of the guaje seed has shown positive effects in total germination, its effect on germination speed is unknown, therefore it is convenient to compare it with other treatments that have shown better effect on the viability and speed of germination and which are used to scarify seeds.

Therefore, the objective of this study was to compare total germination and viability of five scarification methods of the guaje seed, considering the effect on its germinative energy and germination value, as indicators of germination velocity under semi-controlled greenhouse conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### Location

The study was carried out in the El Huilango plot, municipality of Cotaxtla, Veracruz, Mexico, at 18° 53' N and 96° 15' W and 30 masl during October and November of 2014. Mean annual temperature and rainfall are 25.4 °C and 1042 mm, climate Aw0(w) (i)g hot sub-humid, with scant Ganges type thermic oscillation, without heatwave and with rains in summer (García, 1988).

### Plant material

The guaje seed used was from the Fall-Winter 2012/2013 production cycle, treated with N-trichloromethylthium-

anuales son 25.4 °C y 1,042 mm, clima Aw0(w)(i')g cálido sub-húmedo, con poca oscilación térmica tipo Ganges, sin canícula y con lluvias en verano (García, 1988).

### Material vegetal

La semilla de guaje utilizada fue del ciclo de producción Otoño-Invierno 2012/2013, tratada con N-triclorometilitio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida 50 % (Captan®) y Deltametrina a una dosis de 1.5 L Mg<sup>-1</sup> y 60 mL Mg<sup>-1</sup>. Las semillas tenían 18 meses de almacenadas al realizar el estudio.

### Variables de respuesta

Las variables fueron la germinación total (GT, %), semillas viables no germinadas (SV, %) y viabilidad (VI, %, VI = GT + SV), medidas el día 25 después de la siembra. La germinación diaria acumulada (GDA, %) se determinó como la sumatoria del porcentaje de germinación diario al día de conteo, y la velocidad de germinación diaria (VGD, semillas d<sup>-1</sup>) como GDA d<sup>-1</sup>, donde d corresponde al día después de la siembra en que se realizó la observación.

La energía germinativa (EG, %) se estimó de manera indirecta calculando la germinación diaria acumulada al momento en que la mayoría de los tratamientos alcanzaron su velocidad de germinación diaria máxima, denominado periodo de energía (Pece *et al.*, 2010b), el día 7 después de iniciado nuestro estudio. El valor de germinación (VG) se obtuvo con la ecuación  $VG = VGDf \times EG$ , propuesta por Czabator (1962), donde VGDf es la velocidad de germinación diaria al final de la prueba, calculada 25 d después de la siembra y EG es la energía germinativa.

### Desarrollo experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento y las unidades experimentales fueron grupos de 100 semillas. Los tratamientos fueron: 1) sin escarificación; 2) inmersión por 3 min en agua a 80 °C (hidrotérmico); inmersión por 12 h en 3) agua a 24 °C; 4) alcohol etílico de 70 °GL; 5) diluyente orgánico thinner (tolueno 50 %, alcohol metílico 15 %, acetona 5 %, hexano 5 %, alcohol etílico 5 %, xileno 5 % y acetato de etilo 15 %); y 6) peróxido de hidrógeno diluido a 2 %. Las semillas, después de escarificadas, se enjuagaron a chorro de agua y se colocaron 3 h en papel absorbente a la intemperie.

Todas las semillas se sembraron en charolas de plástico termoformado de 200 cavidades y 3.81 cm de altura con un sustrato de suelo franco arcilloso (pH de 6.8, 2.15 % de materia orgánica y densidad aparente de 1.1 g cm<sup>-3</sup>), a una profundidad

4-ciclohexano-1,2-dicarboximida 50 % (Captan®) and Deltametrine at a dose of 1.5 L Mg<sup>-1</sup> and 60 mL Mg<sup>-1</sup>. The seeds had been stored for 18 months at the time of the study.

### Response variables

The variables were total germination (TG, %), non-germinated viable seeds (VS, %) and viability (VI, %, VI = TG + SV), measured 25 days after planting. Accumulated daily germination (ADG, %) was determined as the sum of the percentage of daily germination on the day of counting, and the daily germination velocity (DGV), seeds d<sup>-1</sup>) such as ADG d<sup>-1</sup>, where d corresponds to the day after planting on which the observation was made.

Germinative energy (GE, %) was estimated indirectly, calculating daily germination accumulated at the moment in which most of the treatments reached their maximum daily germination, know as energy period (Pece *et al.*, 2010b), in our study 7 d after the start of the test.

Germination value (GV) was obtained with the equation  $GV = DGV \times GE$ , proposed by Czabator (1962), where DGVf is the velocity of daily germination at the end of the test, calculated 25 d after planting and GE is germinative energy.

### Experimental design

The experimental design was completely randomized, with three replications per treatment and the experimental units were groups of 100 seeds. Treatments were as follows: 1) without scarification; 2) immersion for 3 min in water at 80 °C (hydrothermal); immersion for 12 h in 3) water at 24 °C; 4) ethylic alcohol of 70 °GL; 5) organic diluent thinner (toluene 50 %, methylic alcohol 15 %, acetone 5 %, hexane 5 %, ethylic alcohol 5 %, xylene 5 % and ethyl acetate 15 %); and 6) hydrogen peroxide diluted to 2 %. The seeds, after scarification, were rinsed under running water and were placed for 3 h in absorbent paper in the open air.

All of the seeds were planted in thermoformed plastic trays of 200 cavities and 3.81 cm height with a substrate of clay loam soil (pH 6.8, 2.15 % organic matter and apparent density of 1.1 g cm<sup>-3</sup>), at a planting depth of 1 cm. The trays were maintained in a nursery covered with shade mesh (50 % filtration of solar radiation) to prevent the rain from uncovering the seeds. The conditions of temperature and rainfall during the experiment are shown in Figure 1; auxiliary irrigations were applied on days 0, 2 and 13 of the test.

The germinated seeds were counted every 48 h from the date of planting during 25 d; the seed was considered germinated when the hypocotyl and the cotyledons emerged to the surface.

de siembra de 1 cm. Las charolas se mantuvieron en un vivero cubierto con malla sombra (50 % filtración de irradiación solar) para evitar que la lluvia descubriera las semillas. Las condiciones de temperatura y precipitación durante el experimento se muestran en la Figura 1. Los riegos de auxilio se aplicaron los días 0, 2 y 13 de la prueba.

Las semillas germinadas se contaron cada 48 h desde la fecha de siembra durante 25 d, y se consideró como semilla germinada cuando el hipocótilo y los cotiledones emergieron a la superficie. El día 25 después de la siembra se extrajeron de las charolas las semillas no germinadas y se consideraron como semillas viables no germinadas aquellas que no mostraban daño físico evidente.

### Análisis estadístico

Para analizar los resultados de germinación total, semillas viables no germinadas, viabilidad, energía germinativa y valor de germinación se utilizó un modelo correspondiente a un diseño experimental completamente al azar, en tanto que los datos de germinación diaria acumulada se analizaron con un modelo mixto con mediciones repetidas:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_{k(i)} + D_j + (TD)_{ij} + E_{ijk}$$

donde,  $Y_{ijk}$  = medición del  $i$ -ésimo tratamiento del  $j$ -ésimo día de la  $k$ -ésima repetición;  $\mu$  = constante que caracteriza a la población;  $T_i$  = efecto fijo del  $i$ -ésimo tratamiento ( $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ );  $R_{k(i)}$  = efecto aleatorio de la  $k$ -ésima repetición anidada en el

At day 25 after planting, the trays of un-germinated seeds were extracted and those that showed no evident physical damage were considered un-germinated viable seeds.

### Statistical analysis

To analyze the results of total germination, un-germinated viable seeds, viability, germinative energy and germination value, a completely randomized experimental design was used, while the data of accumulated daily germination were analyzed with a mixed model with repeated measurements:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_{k(i)} + D_j + (TD)_{ij} + E_{ijk}$$

where  $Y_{ijk}$  = measurement of the  $i$ -th treatment of the  $j$ -th day of the  $k$ -th replication;  $\mu$  = constant that characterizes the population;  $T_i$  = fixed effect of the  $i$ -th treatment ( $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ );  $R_{k(i)}$  = random effect of the  $k$ -th replication nested in the  $i$ -th treatment ( $k = 1, 2, 3$ ),  $R_{k(i)} \sim \text{IIDN}(0, \sigma^2)$ ;  $D_j$  = fixed effect of the  $j$ -th day ( $j = 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25$ );  $(TD)_{ij}$  = effect of the interaction treatment per day;  $E_{ijk}$  = experimental error,  $E_{ijk} \sim \text{IDN}(0, \sigma^2)$ .

The data were processed with the procedures GLM and MIXED of SAS<sup>®</sup> 9.4 with structure of covariances in integrated autoregressive model of mobile averages (SAS Institute, 2010). The comparison of means of treatments was made with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

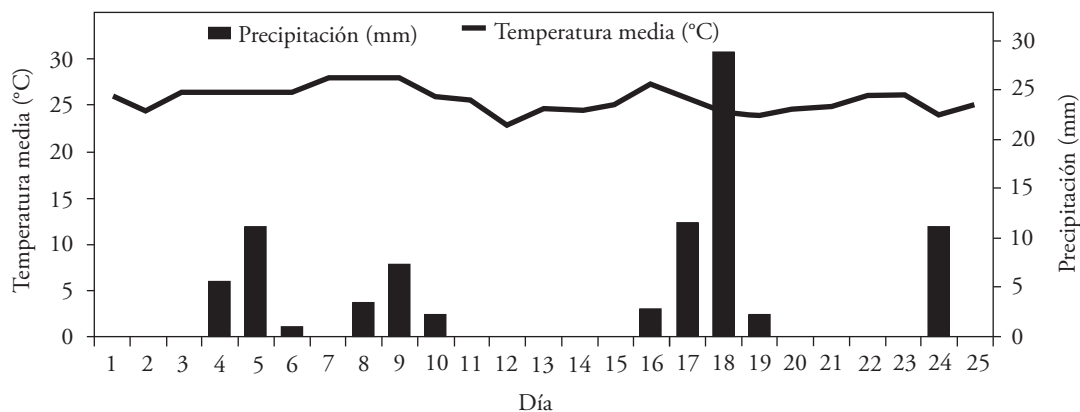


Figura 1. Climograma, precipitación (mm) y temperatura media (°C) registradas en el periodo 15/oct/2014 – 08/nov/2014 (INI-FAP, 2014).

Figure 1. Climogram, rainfall (mm) and mean temperature (°C) registered in the period 15/Oct/2014 - 08/Nov/2014 (INIFAP, 2014).



i-ésimo tratamiento ( $k = 1, 2, 3$ ),  $R_{k(t)} \sim \text{IIDN}(0, \sigma^2)$ ;  $D_j$  = efecto fijo del j-ésimo día ( $j = 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25$ );  $(TD)_{ij}$  = efecto de la interacción tratamiento por día;  $E_{ijk}$  = error experimental,  $E_{ijk} \sim \text{IDN}(0, \sigma^2)$ .

Los datos se procesaron con los procedimientos GLM y MIXED del SAS<sup>®</sup> 9.4 con estructura de covarianzas en modelo autorregresivo integrado de promedios móviles (SAS Institute, 2010). La comparación de medias de tratamientos se realizó con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El intervalo de germinación total fue 45 a 55 % en los tratamientos hidrotérmico e inmersión en agua (Cuadro 1). El tratamiento hidrotérmico mostró la germinación total más alta respecto a los demás tratamientos, excepto para la inmersión en agua ( $p > 0.05$ ). Los demás tratamientos no mostraron diferencias respecto a las semillas sin escarificar ( $p > 0.05$ ), y sus porcentajes de germinación fueron inferiores a 40 %.

Las semillas viables no germinadas fueron superiores a 40 % en todos los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ), excepto en el hidrotérmico, en el cual fue menor a 1 % y solo se encontraron restos de semilla en estado de descomposición al finalizar el experimento. Con el diluyente orgánico las semillas no viables tuvieron un

### RESULTS AND DISCUSSION

The interval of total germination was 45 to 55 % in the hydrothermal and immersion treatments in water (Table 1). The hydrothermal treatment showed the highest total germination with respect to the other treatments, except for immersion in water ( $p > 0.05$ ). The other treatments did not show differences with respect to the seeds without scarification ( $p > 0.05$ ), and their percentages of germination were lower than 40 %.

The un-germinated viable seeds were more than 40 % in all of the treatments ( $p \leq 0.05$ ), except in the hydrothermal treatment, in which it was lower than 1 % and only remains of seeds in a state of decomposition were found at the end of the experiment. With the organic diluent the non-viable seeds had a dry and porous appearance, which was probably due to physical damage from the solvent used.

Viability was higher than 90 %, except in the hydrothermal treatment (55.7 %) and the organic diluent (71.3 %) ( $p \leq 0.05$ ).

On day 3 of the test, all of the treatments had an accumulated daily germination of under 5 % (Figure 2). At 5 and 7 d, accumulated daily germination was variable in all of the treatments with difference of 20 % between

**Cuadro 1. Comportamiento germinativo de las semillas de guaje (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) con diferentes métodos de escarificación.**

**Table 1. Germinative behavior of the guaje seeds (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) with different methods of scarification.**

| Tratamiento      | GT (%)             | SV (%)            | Variable de respuesta |                    |                   |
|------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|
|                  |                    |                   | VI (%)                | EG (%)             | VG                |
| SE               | 39.0 <sup>b</sup>  | 54.3 <sup>a</sup> | 93.3 <sup>a</sup>     | 20.3 <sup>bc</sup> | 5.0 <sup>ab</sup> |
| IA80             | 55.0 <sup>a</sup>  | 0.7 <sup>b</sup>  | 55.7 <sup>c</sup>     | 10.3 <sup>c</sup>  | 8.1 <sup>a</sup>  |
| IA24             | 45.3 <sup>ab</sup> | 48.7 <sup>a</sup> | 94.0 <sup>a</sup>     | 31.7 <sup>a</sup>  | 8.9 <sup>a</sup>  |
| IAE              | 36.0 <sup>b</sup>  | 54.0 <sup>a</sup> | 90.0 <sup>a</sup>     | 26.3 <sup>ab</sup> | 5.9 <sup>ab</sup> |
| IDO              | 31.0 <sup>b</sup>  | 40.3 <sup>a</sup> | 71.3 <sup>b</sup>     | 22.0 <sup>ab</sup> | 4.0 <sup>b</sup>  |
| IPH              | 37.0 <sup>b</sup>  | 53.0 <sup>a</sup> | 90.0 <sup>a</sup>     | 26.0 <sup>ab</sup> | 5.7 <sup>ab</sup> |
| Error Estándar ± | 2.6                | 2.9               | 2.2                   | 2.6                | 0.8               |

\*SE: sin escarificación; IA80: inmersión en agua a 80 °C por 3 min; IA24: inmersión en agua a 24 °C por 12 h; IAE: inmersión en alcohol etílico de 70 °GL por 12 h; IDO: inmersión en diluyente orgánico thinner por 12 h; IPH: inmersión en peróxido de hidrógeno diluido al 2 % por 12 h. GT: germinación total; SV: semillas viables no germinadas; VI: viabilidad (GT + SV); EG: energía germinativa; VG: valor de germinación. Medias con diferente literal en cada variable son estadísticamente diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ) ♦ \*SE: without scarification; IA80: immersion in water at 80 °C for 3 min; IA24: immersion in water at 24 °C for 12 h; IAE: immersion in ethylic alcohol of 70 °GL for 12 h; IDO: immersion in organic thinner diluent for 12 h; IPH: immersion in hydrogen peroxide diluted to 2 % for 12 h. GT: total germination; SV: non-germinated viable seeds; VI: viability (TG + SV); GE: germinative energy; GV: germination value. Means with different literal in each variable are statistically different (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

aspecto seco y poroso, lo que probablemente se debió a daño físico por el solvente utilizado.

La viabilidad fue superior a 90 %, excepto en el tratamiento hidrotérmico (55.7 %) y el diluyente orgánico (71.3 %) ( $p \leq 0.05$ ).

En el día 3 de la prueba todos los tratamientos tuvieron una germinación diaria acumulada menor de 5 % (Figura 2). A los 5 y 7 d, la germinación diaria acumulada fue variable en todos los tratamientos con diferencia de 20 % entre los de mayor y menor respuesta ( $p \leq 0.05$ ). El tratamiento hidrotérmico mostró la menor germinación diaria acumulada durante los primeros 7 d, con respuesta a los otros tratamientos a los 9 d ( $p > 0.05$ ), con tendencia superior a los demás desde el día trece, y mayor que el diluyente orgánico, alcohol etílico y peróxido de hidrógeno ( $p \leq 0.05$ ).

La velocidad de germinación diaria alcanzó valores máximos a los 5 d para los tratamientos de inmersión en agua y diluyente orgánico, y a los 7 d para el alcohol etílico y peróxido de hidrógeno, mientras que las semillas sin escarificar y el tratamiento hidrotérmico presentaron el valor máximo a los 9 d y 11 d, respectivamente (Figura 3). El periodo de energía considerado para el

those of the highest and lowest response 9 ( $p \leq 0.05$ ). The hydrothermal treatment showed the lowest accumulated daily germination during the first 7 d, with respect to the other treatments at 9 d ( $p > 0.05$ ), with tendency higher than the rest starting from day thirteen, and higher than the organic diluent, ethylic alcohol and hydrogen peroxide ( $p \leq 0.05$ ).

Daily germination velocity reached maximum values at 5 d for the treatments of immersion in water and organic diluent, and at 7 d for the ethylic alcohol and hydrogen peroxide, while the seeds without scarification and the hydrothermal treatment presented the maximum value at 9 d and 11 d, respectively (Figure 3). The energy period considered for the calculation of germinative energy was 7 d, because most of the treatments reached the maximum value of DGV during this period (Ffolliott and Thames, 1983).

Daily germination velocity was higher for immersion in water with respect to the other treatments until day nine ( $p \leq 0.05$ ), after which the treatments were similar and with negative biases (Figure 3). For germinative energy immersion in water (31.7 %) was higher than the hydrothermal (10.3 %)

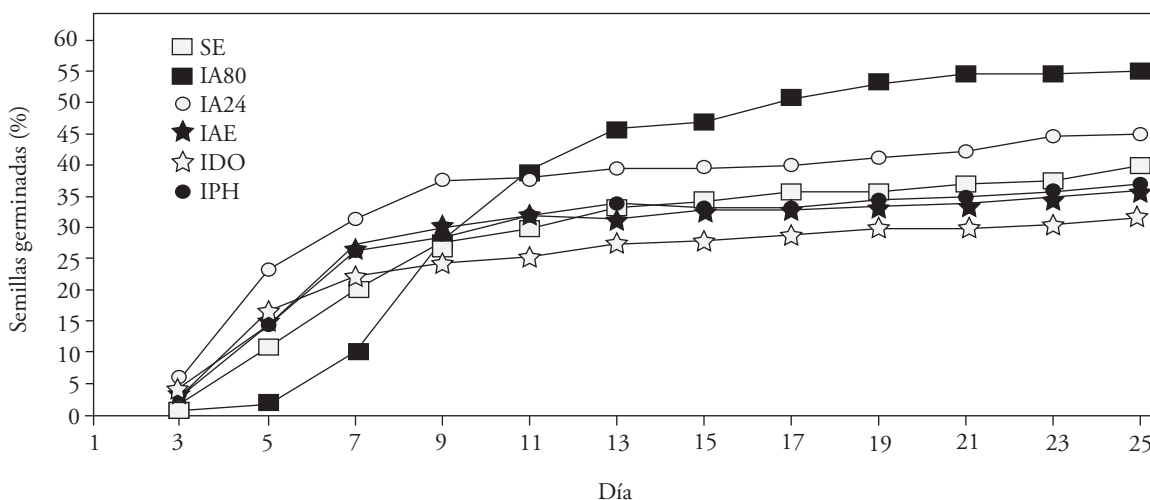


Figura 2. Germinación diaria acumulada (GDA) de semillas de guaje (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) bajo seis métodos de escarificación. SE: sin escarificación; IA80: inmersión en agua a 80 °C por 3 min; IA24: inmersión en agua a 24 °C por 12 h; IAE: inmersión en alcohol etílico de 70 °GL por 12 h; IDO: inmersión en diluyente orgánico thinner por 12 h; IPH: inmersión en peróxido de hidrógeno diluido al 2 % por 12 h.

Figure 2. Daily accumulated germination (DAG) of guaje seeds (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) under six scarification methods. SE: without scarification; IA80: immersion in water at 80 °C for 3 min; IA24: immersion in water at 24 °C for 12 h; IAE: immersion in ethylic alcohol of 70 °GL for 12 h; IDO: immersion in organic thinner diluent for 12 h; IPH: immersion in hydrogen peroxide diluted to 2 % for 12 h.

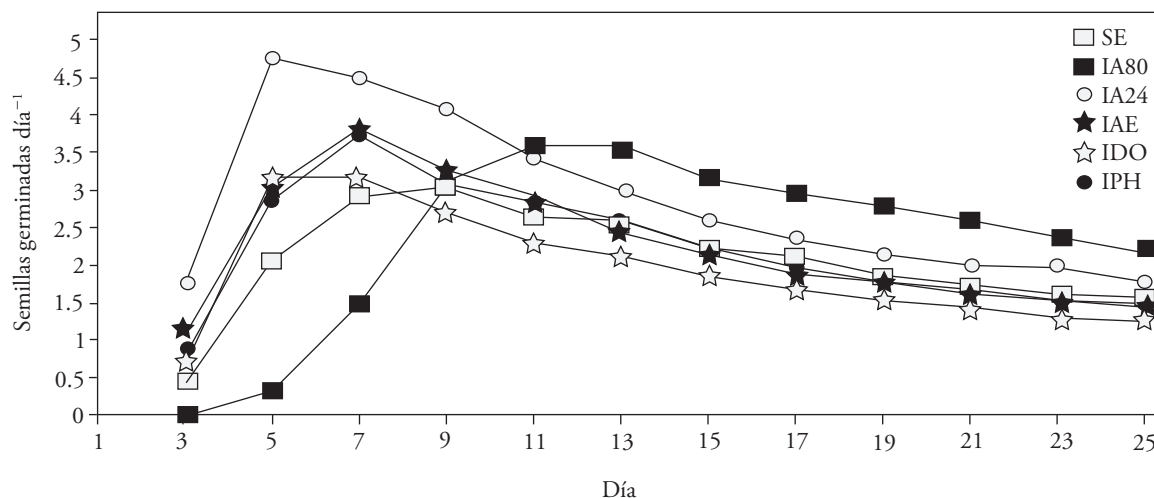


Figura 3. Velocidad de germinación diaria (VGD) de semillas de guaje (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) bajo seis métodos de escarificación. SE: sin escarificación; IA80: inmersión en agua a 80 °C por 3 min; IA24: inmersión en agua a 24 °C por 12 h; IAE: inmersión en alcohol etílico de 70 °GL por 12 h; IDO: inmersión en diluyente orgánico thinner por 12 h; IPH: inmersión en peróxido de hidrógeno diluido al 2% por 12 h.

Figure 3. Daily germination velocity (DGV) of guaje seeds (*Leucaena leucocephala* cv. Cunningham) under six scarification methods. SE: without scarification; IA80: immersion in water at 80 °C for 3 min; IA24: immersion in water at 24 °C for 12 h; IAE: immersion in ethylic alcohol of 70 °GL for 12 h; IDO: immersion in organic thinner diluent for 12 h; IPH: immersion in hydrogen peroxide diluted to 2 % for 12 h.

cálculo de energía germinativa fue de 7 d, porque la mayoría de los tratamientos alcanzaron el valor máximo de VGD durante ese periodo (Ffolliott y Thames, 1983).

La velocidad de germinación diaria fue superior para la inmersión en agua con respecto a los demás tratamientos hasta el día nueve ( $p \leq 0.05$ ), después del cual los tratamientos fueron similares y con pendientes negativas (Figura 3). Para la energía germinativa, la inmersión en agua (31.7 %) fue superior al hidrotérmico (10.3 %) ( $p \leq 0.05$ ; Cuadro 1), aunque ambos tratamientos tuvieron un valor de germinación superior de 8 unidades, a diferencia del diluyente orgánico con 4 unidades ( $p \leq 0.05$ , Cuadro 1); los demás tratamientos mostraron valores en el intervalo de 5 a 6 unidades.

La germinación total de 55 % de la semilla de guaje con el tratamiento hidrotérmico fue mayor a la de otras leguminosas tropicales de uso forrajero como *Neonotonia wightii* (Wight & Arn.) Verdc. (soya forrajera) 33.5 %, *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth (kudzú) 39 % y *Macrotiloma axilare* (E. Mey.) Verdc. 18.8 %. Un efecto similar se observó en las semillas de guaje sin escarificar 39 % y 26, 18 y 24.5 % para

( $p \leq 0.05$ ; Table 1), although both treatments had a germination value higher than 8 units, in contrast to the organic diluent with 4 units ( $p \leq 0.05$ , Table 1); the other treatments showed values in the interval of 5 to 6 units.

Total germination of 55 % of the guaje seed with the hydrothermal treatment was higher than that of other tropical legumes for forage use such as *Neonotonia wightii* (Wight & Arn.) Verdc. (forage soybean) 33.5 %, *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth (kudzu) 39 % and *Macrotiloma axilare* (E. Mey.) Verdc. 18.8 %. A similar effect was observed in the guaje seeds without scarification 39 % and 26, 18 and 24.5 % for the same forage legumes, respectively (Morais, 2014). For guaje seeds from different cultivars and accessions without scarification, the values of total germination oscillated from 5 to 35 % and with the hydrothermal treatment from 45 to 96 % (González *et al.*, 2009).

With cv. Peru guaje seeds stored 18 months to the environment without scarification and immersion in water at 80 °C for 2 min, total germination was 81.8 and 97.7 % (González and Mendoza, 2008), higher than those of our study. However, González



las mismas leguminosas forrajeras, respectivamente (Morais, 2014). Para semillas de guaje provenientes de diferentes cultivares y accesiones y sin escarificar, los valores de germinación total oscilaron de 5 a 35 % y con el tratamiento hidrotérmico de 45 a 96 % (González *et al.*, 2009).

Con semillas de guaje cv. Perú almacenadas 18 meses al ambiente sin escarificar e inmersión en agua a 80 °C por 2 min, la germinación total fue 81.8 y 97.7 % (González y Mendoza, 2008), superiores a las de nuestro estudio. Pero González *et al.* (2012) reportaron germinaciones totales de 51 % en semillas sin escarificar y de 61.3 % en semillas con tratamiento hidrotérmico, similares a las de nuestro estudio. Lo anterior sugiere una alta variabilidad en la germinación total de esta especie entre cultivares y para mismos tiempos de almacenamiento.

La temperatura ambiental pudo afectar la germinación total y durante el experimento las temperaturas medias 21.5 a 26.6 °C (Figura 1) pudieron disminuir la respuesta de germinación en las semillas de guaje, porque una mejor respuesta se obtiene entre 25 y 30 °C (Sánchez *et al.*, 2005). Sin embargo, una germinación total inferior de 60 % en semillas escarificadas es frecuente en leguminosas poco domesticadas debido a que la latencia actúa como mecanismo evolutivo para obtener la probabilidad más alta de sobrevivencia de la semilla y de la progenie (Jara, 1996).

González *et al.* (2012) contaron semillas podridas (no viables) y reportan de 30 a 40 % con tratamiento hidrotérmico más un periodo de hidratación parcial de 28 h en semillas de guaje almacenadas 18 meses; ello es similar a la viabilidad en nuestro estudio. Estos resultados sugieren que la escarificación en agua a 80 °C por 3 min puede afectar negativamente la viabilidad de la semilla por exceso de humedad Doria (2010) señaló que semillas en humedad excesiva son vulnerables al ataque por hongos y a deficiencias en la disponibilidad de oxígeno para el embrión.

La germinación diaria acumulada está relacionada con la velocidad de germinación diaria; una alta acumulación de semillas germinadas por periodo indica una mayor velocidad de germinación. Una pendiente positiva en la curva de germinación diaria acumulada mayor a la de la semilla sin escarificar (Figura 2) sugiere el inicio del efecto del tratamiento y una pendiente casi constante el final. La menor germinación diaria durante el intervalo de 3-7 d en el tratamiento

*et al.* (2012) reported total germinations of 51 % in seeds without scarification and 61.3 % in seeds with hydrothermal treatment, similar to those of our study. The above suggests a high variability in total germination of this species among cultivars and for same times of storage.

The environmental temperature could have affected total germination and during the experiment the mean temperatures 21.5 to 26.6 °C (Figure 1) could diminish the germination response in the guaje seeds, because a better response is obtained between 25 and 30 °C (Sánchez *et al.*, 2005). However, a total germination below 60 % in scarified seeds is frequent in scantily domesticated legumes due to the fact that latency acts as an evolutive mechanism to obtain the highest probability of survival of the seed and of the progeny (Jara, 1996).

González *et al.* (2012) counted rotten seeds (unviable) and reported from 30 to 40 % with hydrothermal treatment plus a partial hydration period of 28 h in guaje seeds stored 18 months, which is similar to the viability in our study. These results suggest that the scarification in water at 80 °C for 3 min can negatively affect the viability of the seed due to excess moisture. Doria (2010) indicated that seeds in excessive moisture are vulnerable to attack by fungi and to deficiencies in the availability of oxygen for the embryo.

Accumulated daily germination is related to daily germination velocity; a high accumulation of germinated seeds per period indicates a higher germination velocity. A positive slope in the accumulated daily germination curve higher than that of the seed without scarification (Figure 2) suggests the start of the effect of the treatment and an almost constant slope at the end. The lower daily germination during the interval of 3-7 d in the hydrothermal treatment indicated a germination velocity close to zero and delayed 2-4 d the initial rise of the curve with respect to the other treatments.

In our study accumulated daily germination of the hydrothermal treatment at 7 d was 10.3 %. Sánchez-Paz and Ramírez-Villalobos (2006) report 22 % with a hydrothermal treatment of 10 min and an almost constant germination after day 20, which is similar to our study.

Arboreal legumes germinate at a more rapid velocity than non-leguminous species, and when the external protective coating of legume seeds was

hidrotérmico indicó una velocidad de germinación cercana a cero y retrasó 2-4 d el ascenso inicial de la curva respecto a los demás tratamientos.

En nuestro estudio la germinación diaria acumulada del tratamiento hidrotérmico a los 7 d fue 10.3 %. Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) reportan 22 % con un tratamiento hidrotérmico de 10 min y una germinación casi constante desde el día 20, lo cual es similar a nuestro estudio.

Las leguminosas arbóreas germinan a mayor velocidad que las no leguminosas y al remover por completo la capa externa protectora de semillas de leguminosas la germinación diaria aumentó de 15 a 33 % a 10 d después de la siembra (Vargas *et al.*, 2015). En nuestro estudio, las semillas de guaje escarificadas con agua a los 7 d de sembradas se comportaron de manera similar a semillas de leguminosas sin capa externa, con 31 % de germinación diaria acumulada, mientras que para las semillas no escarificadas y el tratamiento hidrotérmico fueron de 20 y 10 % (Figura 2). Es posible incrementar la energía germinativa (Cuadro 1) utilizando un método de escarificación que suprime la dormancia de las semillas en leguminosas, como ocurrió en el guaje en nuestro estudio y en otras leguminosas (Vargas *et al.*, 2015).

Para *Pterogyne nitens* (Tul.), leguminosa arbórea de América del Sur, la inmersión en agua por 1.5 h también mejoró la energía germinativa cercano a 10 %, respecto a la semilla sin escarificar (Pece *et al.*, 2010a), y en nuestro estudio el aumento fue 11.4 %. La energía germinativa es un indicador de la germinación de la semilla durante los primeros días postsiembra; con más semillas que germinen durante los primeros días postsiembra se reduce el riesgo de afectación por plagas y enfermedades, lo que posibilita el desarrollo de plántulas con mecanismos adaptativos, como una mayor tasa de crecimiento bajo condiciones adversas.

El peróxido de hidrógeno actúa como potenciador de la germinación durante los primeros días en algunas leguminosas como el guisante (Barba-Espín *et al.*, 2012). Pero en nuestro estudio la energía germinativa fue similar a los demás tratamientos y superó solo al tratamiento hidrotérmico. El peróxido de hidrógeno actúa a nivel metabólico a concentraciones de 20 a 40 mM y si no penetra la capa externa de la semilla de guaje, como lo hace en otras especies, su efecto es negligible.

La imbibición en agua favorece la remoción de sustancias inhibitorias del tegumento de la semilla y

removed, daily germination increased from 15 to 33 % at 10 d after planting (Vargas *et al.*, 2015). In our study, the guaje seeds scarified with water at 7 days after planting behaved in a manner similar to legume seeds without an external coating, with 31 % of accumulated daily germination, while for the non-scarified seeds and the hydrothermal treatment it was from 20 and 10 % (Figure 2). It is possible to increment germinative energy (Table 1) utilizing a scarification method which suppresses dormancy of seeds in legumes, such as what occurred in the guaje in our study and in other legumes (Vargas *et al.*, 2015).

For *Pterogyne nitens* (Tul.), arboreal legume of South America, immersion in water for 1.5 h also improved germinative energy by close to 10 %, with respect to the seed without scarification (Pece *et al.*, 2010a), and in our study the increase was 11.4 %. Germinative energy is an indicator of germination during the first days post-planting; with more seeds that germinate during the first days post-planting the risk of affectation by pests and diseases is reduced, which enables the development of seedlings with adaptive mechanisms, such as a higher growth rate under adverse conditions.

The hydrogen peroxide acts as a potentiator of germination during the first days in some legumes such as pea (Barba-Espín *et al.*, 2012). However, in our study the germinative energy was similar to the other treatments and only surpassed the hydrothermal treatment. The hydrogen peroxide acts at the metabolic level at concentrations of 20 to 40 mM and if the external coating of the guaje seed is not penetrated, as it does in other species, its effect is negligible.

Imbibement in water favors the removal of inhibiting substances of the tegument of the seed and accelerates water absorption (Pece *et al.*, 2010a). In our study, all of the treatments of immersion of the guaje seed in a liquid substance during 12 h showed a germinative energy superior to the hydrothermal treatment ( $p \leq 0.05$ ). This treatment did not have an imbibement period prior to planting, thus its germinative energy could have been affected due to a delay in water absorption or to the effect of the high temperature of the treatment on the metabolism, which could have induced low viability.

The germination value is the only indicator which fits in a single value the germinative capacity of the

acelera la absorción de agua (Pece *et al.*, 2010a). En nuestro estudio, todos los tratamientos de inmersión de la semilla de guaje en una sustancia líquida durante 12 h mostraron una energía germinativa superior al tratamiento hidrotérmico ( $p \leq 0.05$ ). Dicho tratamiento no tuvo un periodo de imbibición previo a la siembra, por lo que su energía germinativa pudo ser afectada debido a un retraso en la absorción de agua o al efecto de la alta temperatura del tratamiento en el metabolismo, que puede inducir baja viabilidad.

El valor de germinación es el único indicador que ajusta en un solo valor la capacidad germinativa de la semilla al final de una prueba de germinación y la velocidad con que ésta germina, pero es muy sensible a cambios en sus componentes (Djavanshir y Pourbeik, 1976). Los tratamientos de inmersión en agua e hidrotérmico, con valores de germinación similares ( $p > 0.05$ ), fueron favorecidos por su alta velocidad de germinación diaria máxima y final, respectivamente. Esto es similar al valor de germinación de 1.76 en las semillas de la leguminosa arbórea *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb tratadas con escarificación hidrotérmico, debido a sus valores bajos de velocidad de germinación máxima (Suárez *et al.*, 2014). Al usar el valor de germinación como criterio para seleccionar un método de escarificación en semillas de guaje, se debe tener en cuenta el método de siembra, porque el tratamiento de inmersión en agua aumenta la velocidad de germinación en los primeros días. Esto implica reducir las prácticas de control de especies no deseadas y plántulas más vigorosas cuando la siembra de la semilla se realiza en campo, mientras que la escarificación con el tratamiento hidrotérmico favorece el porcentaje de germinación total y puede ser favorable cuando la siembra se realiza en viveros y después se trasplanta a campo.

## CONCLUSIONES

En semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham la escarificación por inmersiones en agua a 80 °C por 3 min y a 24 °C por 12 h favorecieron la germinación; sin embargo, en el primero se redujo la viabilidad de la semilla y en el último se observó la mayor velocidad de germinación durante los primeros días después de la siembra.

seed at the end of a germination test and the velocity with which it germinates, but it is very sensitive to changes in its components (Djavanshir and Pourbeik, 1976). The water immersion and hydrothermal treatments, with similar germination values ( $p > 0.05$ ) were favorable for their high maximum and final daily germination velocity, respectively. This is similar to the germination value of 1.76 in the seeds of the arboreal legume *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb treated with hydrothermal scarification, due to its low values of maximum germination velocity (Suárez *et al.*, 2014). When using the germination value as criterion for selecting a scarification method in guaje seeds, it is important to consider the planting method, because the water immersion treatment increases germination velocity in the first days. This implies reducing the practices of control of undesired species and more vigorous seedlings when the planting is done in the field, whereas scarification with the hydrothermal treatment favors the percentage of total germination and can be favorable when the planting is done in nurseries and later transplanted to the field.

## CONCLUSIONS

In seeds of *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham, scarification by immersion in water at 80 °C for 3 min and at 24 °C for 12 h favored germination. However, in the former the viability of the seed was reduced and with the latter a higher germination velocity was observed during the first days after planting.

—End of the English version—

---\*---

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) el financiamiento otorgado para la realización de estudios de posgrado del primer autor; al Colegio de Postgraduados (CP) Campus Veracruz y a la Línea Prioritaria de Investigación

12 por los recursos materiales y económicos brindados; a la Fundación Produce Michoacán por la asesoría y material vegetativo otorgado; al equipo interdisciplinario de trabajo del Proyecto Criollo Lechero Tropical del CP por su apoyo y dedicación para la realizar este estudio, y a José Luis de la Cruz Martínez del Instituto Tecnológico Superior de Tantoyuca quien a través de su residencia profesional, contribuyó durante la fase experimental.

## LITERATURA CITADA

- Arriaga, M. V., V. Cervantes G., y A. Vargas-Mena. 1994. Manual de Reforestación con Especies Nativas: Colecta y Preservación de Semillas, Propagación y Manejo de Plantas. Instituto Nacional de Ecología. México. 186 p.
- Bacab, H. M., N. B. Madera, F. J. Solorio, F. Vera, y D. F. Marrufo. 2013. Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. AIA 17: 67-81.
- Barba-Espín, G., J. A. Hernández, y P. Díaz-Vivancos. 2012. Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in pea seed germination. Plant Sign. Behav. 7: 193-195.
- Calle, Z., E. Murgueitio, C. Giraldo, S. D. Ospina, A. Zapata, C. H. Molina, E. J. Molina, J. D. Chará, F. Uribe, y K. Reyes. 2011. La *Leucaena leucocephala* no se comporta como una planta invasora en Colombia. Cta. FEDEGAN 127: 70-80.
- Chará, J., E. Murgueitio, A. Zuluaga, y C. Giraldo (eds). 2011. Ganadería Colombiana Sostenible. Fundación CIPAV. Cali, Colombia. 158 p.
- Cuartas, C. A., J. F. Naranjo R., A. M. Tarazona M., E. Murgueitio R., J. D. Chará O., J. Ku V., F. J. Solorio S., M. X. Flores E., B. Solorio S., y R. Barahona R. 2014. Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. Rev. Col. Cienc. Pec. 27: 76-94.
- Czabator, F. J. 1962. Germination value: An index combining speed and completeness of pine seed germination. For. Sci. 8: 386-396.
- Djavanshir, K., and H. Pourbeik. 1976. Germination value: A new formula. Silvae Gen. 25: 79-83.
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Cult. Trop. 31: 74-85.
- Ffolliott, P. F. and J. L. Thames. 1983. Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de *Prosopis* en América Latina. FAO. Roma, Italia. 43 p.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM. México. 191 p.
- Gómez-Merino, F. C., B. Vidal-Morales, L. Trejo-Téllez, y C. Molinos da Silva. 2010. Escarificación y germinación *in vitro* de semillas de Heliconias. Univ. Ciencia 26: 293-297.
- González, Y., y F. Mendoza. 2008. Efecto del agua caliente en la germinación de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. Pas. For. 31: 47-52.
- González, Y., J. Reino, y R. Machado. 2009. Dormancia y tratamientos pregerminativos en las semillas de *Leucaena spp.* cosechadas en suelo ácido. Pas. For. 32: 1-6.
- González, Y., J. Reino, J. A. Sánchez, y R. Machado. 2012. Efecto del almacenamiento al ambiente en semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham sometidas a hidratación parcial. Pas. For. 35: 393-399.
- Gutiérrez G. O., O. Añez S., G. León P., D. Abed E., y E. Molina. 2007. Análisis fisicoquímico y estructural del polisacárido de la goma de semilla de *Leucaena leucocephala*. Ciencia 15: 481-487.
- INIFAP. 2014. Red de estaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Estación meteorológica Cotaxtla-Medellín. <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/est.aspx?est=35925> (Consulta: noviembre 2014).
- Jara, N. L. F. 1996. Biología de semillas forestales. CATIE - Danida Forest Seed Centre. Turrialba, Costa Rica. 32 p.
- Morais, F. L., J. C. C. Almeida, B. B. Deminici, F. T. Pádua, M. J. F. Morenz, J. B. R. Abreu, R. P. Araujo, and D. D. Nepomuceno. 2014. Methods for breaking dormancy of seeds of tropical legumes. Am. J. Plant Sci. 5: 1831-1835.
- Pece, M. G., C. Gaillard de Benítez, M. Acosta, C. Bruno y S. Saavedra. 2010a. Tratamientos pregerminativos para Tipa colorada (*Pterogyne nitens* Tul.). Foresta Ver. 12: 17-25.
- Pece, M. G., C. Gaillard de Benítez, M. Acosta, C. Bruno, S. Saavedra, y O. Buvenas. 2010b. Germinación de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (tipa blanca) en condiciones de laboratorio. Qebracho – Rev. Ciencia Fores. 18: 5-15.
- Sánchez, J. A., J. Reino, B. Muñoz, Y. González, L. Montejo, y R. Machado. 2005. Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la germinación, la emergencia y el vigor de las plántulas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. Pas. For. 28: 209-220.
- Sánchez-Paz, Y., y M. Ramírez-Villalobos. 2006. Tratamientos pre germinativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Rev. Fac. Agron. 23: 257-272.
- SAS Institute. 2010. User's Guide, version 9.4. Statistical Analysis System Institute. North Caroline, USA.
- Suárez, M. S. D., B. González-Rivas y O. G. Mendoza-Sánchez. 2014. Energía y valor de germinación en las especies arbóreas genízaro (*Phitecellobium saman* (Jacq.) Benth.) y guanacaste negro (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.). La Calera. 14: 28-32.
- Teles, M. M., A. Azevêdo A., J. C. Gomes de Oliveira, y A. M. Esmeraldo B. 2000. Métodos para quebra da dormência em sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Rev. Bras. Zoot. 29: 387-391.
- Vargas, G., L. K. Werden, and J. S. Powers. 2015. Explaining legume success in tropical dry forests based on seed germination niches: A new hypothesis. Biotrop. 47: 277-280.