

## **Efecto de los tratamientos de hidratación-deshidratación en la emergencia y el rendimiento de *Macroptilium atropurpureum* y *Crotalaria spectabilis***

### **Effect of hydration-dehydration treatments on the emergence and yield of *Macroptilium atropurpureum* and *Crotalaria spectabilis***

Yolanda González<sup>1</sup>, J.A. Sánchez<sup>2</sup>, J. Reino<sup>1</sup> y Carmen Fung<sup>1</sup>

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

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

#### **Resumen**

Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado para estudiar el efecto de la combinación de tratamientos (escarificación ácida o térmica más hidratación parcial en agua) en la emergencia y el rendimiento de *Macroptilium atropurpureum* y *Crotalaria spectabilis*, respectivamente. Hubo diferencias significativas para la emergencia final respecto al control en ambas especies. En *C. spectabilis* hubo un incremento de 8%; mientras que en *M. atropurpureum* fue de 2% cuando se aplicó la combinación de tratamientos. Ello también propició la aceleración de la emergencia y el inicio de este proceso demoró menos a favor de esta combinación, con 0,5 y 0,7 días de ventaja para *C. spectabilis* y *M. atropurpureum* con relación al control, respectivamente. Aunque los indicadores de crecimiento y desarrollo de estas especies no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, a los 90 días se observó una tendencia a que en ambas especies fueran superiores cuando se combinaron los tratamientos. Se recomienda aplicar a las semillas de *M. atropurpureum* y *C. spectabilis* (envejecidas) el tratamiento pregerminativo de escarificación ácida o térmica más hidratación parcial-deshidratación (dos horas-72 horas), respectivamente, antes de la siembra.

Palabras clave: *Crotalaria spectabilis*, emergencia, *Macroptilium atropurpureum*, rendimiento, semilla

#### **Abstract**

A completely randomized design was used in order to study the effect of the combination of treatments (acid or thermal scarification plus partial hydration in water) on the emergence and yield of *Macroptilium atropurpureum* and *Crotalaria spectabilis*, respectively. There were significant differences for the final emergence as compared to the control in both species. In *C. spectabilis* there was an 8% increase; while in *M. atropurpureum* the increase was 2% when the combination of treatments was applied. That also propitiated the acceleration of the emergence and the beginning of this process took less long in favor of this combination, with 0,5 and 0,7 days of advantage for *C. spectabilis* and *M. atropurpureum* as compared to the control, respectively. Although the growth and development indicators of these species did not show significant differences among the treatments applied, 90 days after seeding they tended to be higher in both species when the treatments were combined. It is recommended to apply to the seeds of *M. atropurpureum* and *C. spectabilis* (aged) the pregerminative treatment of acid or thermal scarification plus partial hydration-dehydration (two hours – 72 hours), respectively, before seeding.

Key Words: *Crotalaria spectabilis*, emergence, *Macroptilium atropurpureum*, seed, yield

### Introducción

La Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", desde su fundación, tiene el compromiso estatal de conservar el germoplasma de especies pratenses y forrajeras introducidas en el país, así como el obtenido como producto de la colecta y del trabajo de la mejora genética y la biotecnología. Sin embargo, muchas de las semillas conservadas han sufrido un progresivo deterioro (envejecimiento) provocado por las condiciones no óptimas de almacenamiento. Esto hace incuestionable la necesidad de buscar métodos para su posterior regeneración y conservación.

Entre los métodos más utilizados para incrementar la germinación de las semillas se encuentran los tratamientos de hidratación-deshidratación (Bradford, 1986; McDonald, 2000; Sánchez, Orta y Muñoz, 2001), que se basan fundamentalmente en la inmersión de las semillas en agua o soluciones osmóticas durante cierto tiempo, con o sin deshidratación previa a la siembra (Heydecker, Higgins y Gulliver, 1973; Henckel, 1982), lo que permite que un gran número de ellas alcancen rápidamente la humedad y el estado metabólico deseado, como consecuencia de la activación de numerosos procesos bioquímico-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y a la autorreparación enzimática de las membranas celulares (Heydecker y Coolbear, 1977; Bray, 1995).

En Cuba, con el empleo de estos tratamientos pregerminativos, se han obtenido incrementos notables tanto en la germinación como en el establecimiento, en condiciones de déficit hídrico, con respecto al testigo en semillas de varias especies como *Macroptilium atropurpureum* Urb (Orta, Pozo, Pérez y Espinosa, 1983); en hortalizas (Orta, Sánchez, Muñoz y Calvo, 1998; Sánchez, Calvo, Muñoz y Orta, 1999) y en leguminosas no arbóreas de interés forrajero (Sánchez, Muñoz, Reino y Montejo, 2003). Estos últimos autores obtuvieron los mejores incrementos de la germinación en *M. atropurpureum* y *Crotalaria spectabilis*, en condiciones de laboratorio, con la combinación de tratamientos de escarificación ácida o térmica más hidratación parcial en agua-deshidratación, por lo que el objetivo de la pre-

### Introduction

The Experimental Station of Pastures and Forages, since its creation, has the state commitment of preserving the germplasm of grass and forage species introduced to the country, as well as the germplasm obtained as product of collection and the work of genetic improvement and biotechnology. However, many of the seeds preserved have suffered progressive deterioration (aging) caused by storage conditions that are not optimal. This justifies the need to search for methods for their posterior regeneration and conservation.

Among the most used methods to increase seed germination are the hydration-dehydration treatments (Bradford, 1986; McDonald, 2000; Sánchez, Orta and Muñoz, 2001), which are based mainly on the immersion of seeds in water or osmotic solutions, with or without dehydration previous to seeding (Heydecker, Higgins and Gulliver, 1973; Henckel, 1982), which allows a great number of them to reach rapidly the desired humidity and metabolic condition, as a consequence of the activation of numerous biochemical-physiological processes related to germination, tolerance to environmental stress and enzymatic auto-reparation of the cell membranes (Heydecker and Coolbear, 1977; Bray, 1995).

In Cuba, with the use of these pregerminative treatments, remarkable increases have been obtained in germination as well as in the establishment under water deficiency conditions, with regards to the control in seeds from several species such as *Macroptilium atropurpureum* Urb (Orta, Pozo, Pérez and Espinosa, 1983); in vegetables (Orta, Sánchez, Muñoz and Calvo, 1998; Sánchez, Calvo, Muñoz and Orta, 1999) and in herbaceous legumes of forage interest (Sánchez, Muñoz, Reino and Montejo, 2003). These last authors obtained the best increases of germination in *M. atropurpureum* and *Crotalaria spectabilis*, under laboratory conditions, with the combination of treatments of acid or thermal scarification plus partial hydration in water-dehydration, for which the objective of the present research was to study the effect of this treatment on the emergence and yield of these plants under nursery conditions.

sente investigación fue estudiar el efecto de este tratamiento en la emergencia y el rendimiento de estas plantas en condiciones de vivero.

### Materiales y Métodos

**Diseño y tratamientos.** Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con 10 réplicas por tratamiento en cada especie, para la comparación de dos tratamientos: 1) control (escarificación térmica o ácida) y 2) combinación de tratamientos: escarificación ácida o térmica más hidratación parcial en agua-deshidratación (dos horas-72 horas), aplicado anteriormente por Machado y Sánchez (2001).

**Procedimiento experimental.** El experimento se sembró en los primeros días de abril del 2003. Las semillas envejecidas de *M. atropurpureum* y *C. spectabilis* (cosechadas en 1975 y 1984, respectivamente) procedían del germoplasma de la EEPF "Indio Hatuey" y se sometieron al tratamiento pregerminativo de combinación de tratamientos, lo que se efectuó en el Instituto de Ecología y Sistemática (IES) tres días antes de la siembra.

La siembra se efectuó en bolsas de polietileno negro de 25,8 cm de ancho y 31,5 cm de altura, a una profundidad de 2 cm; el sustrato se preparó con suelo Ferralítico Rojo más materia orgánica, en una proporción 3:1, y el riego se realizó diariamente a capacidad de campo. En cada bolsa se colocaron 50 semillas, en un vivero a cielo abierto.

El conteo de la emergencia se realizó diariamente durante 21 días (ISTA, 1999), una vez iniciado el proceso; se determinó el porcentaje de emergencia final de las plántulas y se estableció el día de inicio de la emergencia y la duración del proceso, así como la altura de las plántulas a los 21 días.

A los 25 días posteriores a la siembra se practicó el raleo de las plántulas y se dejó un individuo (el más robusto) por bolsa.

A los 90 días de la siembra se midió la altura (cm), el rendimiento de materia seca de la parte aérea y la parte subterránea (g), así como la distribución de la biomasa en sus componentes aéreos y subterráneos, que se calculó por la relación masa seca raíz/masa seca parte aérea ( $g\ g^{-1}$ ).

### Materials and Methods

**Design and treatments.** A completely randomized design was used with 10 replications per treatment in each species, for the comparison of two treatments: 1) control (thermal or acid scarification) and 2) combination of treatments: acid or thermal scarification plus partial hydration in water-dehydration (two hours-72 hours), previously applied by Machado and Sánchez (2001).

**Experimental procedure.** The experiment was sown in the first days of April, 2003. The aged seeds of *M. atropurpureum* and *C. spectabilis* (harvested in 1975 and 1984, respectively) were from the germplasm of the EEPF "Indio Hatuey" and were subject to the pregerminative treatment of combination of treatments, which was carried out at the Institute of Ecology and Systematics (IES) three days before sowing.

The sowing was performed in black polyethylene bags, 25,8 cm wide and 31,5 cm high, at a depth of 2 cm; the substratum was prepared with Ferralitic Red soil plus organic matter, in a 3:1 proportion, and the irrigation was carried out daily at field capacity. In each bag 50 seeds were sown, and placed in a nursery without covering.

The emergence count was performed daily for 21 days (ISTA, 1999), once the process had started; the percentage of final emergence of the seedlings was determined and the day of the beginning of the emergence and the duration of the process were established, as well as the height of the seedlings 21 days after.

The thinning of the seedlings was practiced 25 days after the sowing and one individual (the most robust) was left per bag.

Ninety days after the seeding, the height (cm), the dry matter yield of the aerial and the underground part (g) were measured, as well as the distribution of the biomass in the aerial and underground components, which was calculated by the root dry matter/aerial part dry matter relationship ( $g\ g^{-1}$ ).

The values expressed in percent were transformed according to  $\text{sen}^{-1}\sqrt{\%}$  and re-transformed afterwards.

Los valores expresados en por ciento fueron transformados según  $\text{sen}^{-1}\sqrt{\%}$  y retransformados posteriormente.

**Análisis estadístico.** Las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan (1955).

### Resultados y Discusión

En la tabla 1 se exponen los resultados de la emergencia final (EF), así como el inicio de esta (IE) y su duración (DE).

Como se puede apreciar, para la emergencia final hubo diferencias significativas en ambas especies, lo que demuestra el efecto positivo que ejerció la combinación de los tratamientos de escarificación más hidratación parcial en este indicador. En *C. spectabilis* hubo un incremento de 8%; mientras que en *M. atropurpureum* fue de 2%. Esto demuestra el sinergismo que establece la combinación de ambos procedimientos para incrementar la emergencia de estas especies cuando se compara con los tratamientos tradicionales de escarificación. Resultados positivos se han informado en otras especies, tanto para mejorar la germinación como la emergencia de las plántulas (Orta et al., 1998; Sánchez, Muñoz y Fresneda, 2001); también Sánchez et al. (2003), en un estudio de laboratorio realizado con estos mismos lotes de semillas de *C. spectabilis* y *M. atropurpureum*, obtuvieron incrementos significativos en la germinación.

**Statistical analysis.** The means were compared according to Duncan's multiple range test (1955).

### Results and Discussion

Table 1 shows the results of the final emergence (FE), as well as its beginning (EB) and duration (ED).

As can be noticed, for the final emergence there were significant differences in both species, which shows the positive effect exerted by the combination of the treatments of scarification plus partial hydration on this indicator. In *C. spectabilis* there was an 8% increase; while in *M. atropurpureum* it was 2%. This shows the synergism established by the combination of both procedures to increase the emergence of these species when compared to the traditional scarification treatments. Positive results have been reported in other species, to improve germination as well as emergence of the seedlings (Orta et al., 1998; Sánchez, Muñoz and Fresneda, 2001); also Sánchez et al. (2003), in a laboratory study carried out with these same seedlots from *C. spectabilis* and *M. atropurpureum*, obtained significant increases in germination.

The process of emergence was accelerated when combining the treatments, and although no significant differences were obtained the beginning of this process took less long in favor of this combination, with 0,5 days of advantage for *C.*

Tabla 1. Emergencia de las plántulas después de aplicados los tratamientos.  
Table 1. Emergence of seedlings after applying the treatments.

Indicador	Especie	Tratamiento		ES $\pm$
		Control	Combinación de tratamientos	
IE (días)	<i>C. spectabilis</i> <sup>1</sup>	3,5	3,0	0,80
	<i>M. atropurpureum</i> <sup>2</sup>	3,5	2,8	0,47
DE (días)	<i>C. spectabilis</i>	5,6	3,7	0,9
	<i>M. atropurpureum</i>	4,0	3,2	0,37
EF (%)	<i>C. spectabilis</i>	3,3 <sup>b</sup>	11,3 <sup>a</sup>	2,49*
	<i>M. atropurpureum</i>	2,0 <sup>b</sup>	4,0 <sup>a</sup>	0,15*

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

<sup>1</sup> Escarificación térmica (agua a 80°C/2 minutos)

<sup>2</sup> Escarificación ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 96%/5 minutos)

El proceso de emergencia se aceleró al combinar los tratamientos, y aunque no se obtuvieron diferencias significativas el inicio de este proceso demoró menos a favor de esta combinación, con 0,5 días de ventaja para *C. spectabilis* y 0,7 para *M. atropurpureum*. La duración de este proceso fue menor con este mismo tratamiento (1,9 y 0,8 días en *C. spectabilis* y *M. atropurpureum*, respectivamente), lo que evidencia su aceleración. Ello se ha planteado por otros investigadores como efecto de los tratamientos de hidratación parcial, sobre todo en el desarrollo vegetativo de las plántulas (Henckel, 1982; Sánchez, 2003), los cuales resultan beneficiosos para un buen establecimiento de los cultivos, ya que inciden indirectamente en los indicadores de crecimiento, así como en el rendimiento posterior de las plantas (tabla 2).

Aunque a los 90 días los indicadores de crecimiento y desarrollo de estas especies no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, se observó una tendencia a que en ambas especies fueran superiores cuando se combinaron los tratamientos, por lo que hubo una influencia positiva en estos con la inclusión de la hidratación parcial; ello se apreció desde los 47 días después de la siembra (fotos 1 y 2).

En las plantas de *C. spectabilis* se observó un mayor tamaño cuando se aplicó la combinación de tratamientos, al igual que en los estolones (ra-

*spectabilis* and 0,7 for *M. atropurpureum*. The duration of this process was less with the same treatment (1,9 and 0,8 days in *C. spectabilis* and *M. atropurpureum*, respectively), which evidences its acceleration. This has been stated by other researchers as effect of the partial hydration treatments, especially on the vegetative development of the seedlings (Henckel, 1982; Sánchez, 2003), which are beneficial for a good establishment of the crops, because they have direct incidence on the growth indicators, as well as on the posterior yield of the plants (table 2).

Although 90 days after sowing the growth and development indicators of these species did not show significant differences between the treatments, a trend was observed in the two species to be higher when the treatments were combined, for which there was a positive influence on them with the inclusion of the partial hydration; this was noticed 47 days after seeding (photographs 1 and 2).

In the plants of *C. spectabilis* a greater size was observed when the combination of treatments was applied, as in the stolons (branches) of *M. atropurpureum* with regards to the control. The results in the increase of the plant growth and development due to the application of the partial hydration techniques in the seeds of these species agree with the results obtained by Sánchez et al. (1999), who were able to improve germination,

Tabla 2. Indicadores del crecimiento y desarrollo en *C. spectabilis* y *M. atropurpureum*.  
Table 2. Growth and development indicators in *C. spectabilis* and *M. atropurpureum*.

Indicador	Especie	Tratamiento		ES ±
		Control	Combinación de tratamientos	
Altura (cm)	<i>C. spectabilis</i> <sup>1</sup>	5,5	6,2	0,43
	<i>M. atropurpureum</i> <sup>2</sup>	9,5	10,5	2,18
Peso parte aérea (g)	<i>C. spectabilis</i>	75,3	78,0	2,26
	<i>M. atropurpureum</i>	54,0	60,0	3,26
Peso raíz (g)	<i>C. spectabilis</i>	13,3	14,6	1,58
	<i>M. atropurpureum</i>	13,6	18,6	1,61
Peso raíz/peso parte aérea (g.g <sup>-1</sup> )	<i>C. spectabilis</i>	0,17	0,22	0,10
	<i>M. atropurpureum</i>	0,25	0,31	0,12

<sup>1</sup> Escarificación térmica (agua a 80°C/2 minutos)

<sup>2</sup> Escarificación ácida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 96%/5 minutos)

Foto 1. *M. atropurpureum*Foto 2. *C. spectabilis*

mas) de *M. atropurpureum* con respecto al control. Los resultados en el incremento del crecimiento y desarrollo de las plantas por la aplicación de las técnicas de hidratación parcial en las semillas de estas especies concuerdan con lo obtenido por Sánchez et al. (1999), quienes lograron mejorar la germinación, el establecimiento y la producción en las semillas de hortalizas, y con lo informado por Sánchez (2003) en *Trichospermum mexicanum* y por Reino (2005) en *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham.

Se recomienda aplicar a las semillas envejecidas de *M. atropurpureum* y *C. spectabilis* del germoplasma de la EEPF "Indio Hatuey", el tratamiento pregerminativo de escarificación ácida o térmica más hidratación parcial-deshidratación (dos horas-72 horas), respectivamente, antes de la siembra.

### Referencias bibliográficas

- Bradford, K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hort Science*. 21:1105
- Bray, C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. In: *Seed development and germination*. (Eds. J. Kigel and G. Galili). Marcel Dekker, New York. 767 p.
- Henckel, P. 1982. Fisiología de la resistencia de las plantas al calor y a la sequía (en ruso). Nauka, Moscú. 280 p.
- Heydecker, W. & Coolbear, P. 1977. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. *Seed Sci. & Technol.* 5:353
- establishment and production in vegetables seeds, and the reports by Sánchez (2003) in *Trichospermum mexicanum* and by Reino (2005) in *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham.
- It is recommended to apply to aged seeds of *M. atropurpureum* and *C. spectabilis* from the germplasm of the EEPF "Indio Hatuey", the pregerminative treatment of acid or thermal scarification plus partial hydration-dehydration (two hours-72 hours), respectively, before sowing.
- End of the English version--
- Heydecker, W.; Higgins, J. & Gulliver, R.L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*. 246:42
- ISTA. 1999. International rules for seed testing. Rules and annexus. *Seed Sci. & Technol.* 27:155
- McDonald, M.B. 2000. Seed priming. In: *Seed technology and its biological basic*. (M. Black and J.D. Bewley, Eds.). Academic Press, Sheffield. p. 286
- Machado, R. & Sánchez, J.A. 2001. Informe parcial de tareas del Proyecto "Utilización de tratamientos pregerminativos en semillas envejecidas y frescas para la regeneración e incremento de la germinación". Instituto de Ecología y Sistemática. La Habana, Cuba. 12 p. (Mimeo)
- Orta, R.; Pozo, L.; Pérez, E. & Espinosa, I. 1983. Aplicación de tratamientos pregerminativos a semillas de siratro *Macroptilium atropurpureum* (Moc & Sessé) Urb. Memorias del I Simposio de Botánica. La Habana, Cuba. Tomo V, p. 251
- Orta, R.; Sánchez J.A.; Muñoz, Bárbara & Calvo, E. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua

- para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana*. 121:1
- Reino, J. 2005. Efectos de tratamientos de hidratación-deshidratación y choque ácido sobre la germinación y emergencia de *Leucaena leucocephala*. Tesis en opción al título de M.Sc. en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 71 p.
- Sánchez, J.A. 2003. Efectos de tratamientos de hidratación-deshidratación y choque térmico sobre la germinación y establecimiento de *Trichospermum mexicanum*. Tesis en opción al grado científico de Dr. en Ciencias Biológicas. Ministerio CITMA-IES. La Habana, Cuba. 87 p.
- Sánchez, J.A.; Calvo, E.; Muñoz, Bárbara & Orta, R. 1999: Efecto de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la germinación, establecimiento, floración y fructificación del pepino. *Agronomía Costarricense*. 23 (2):193
- Sánchez, J.A.; Muñoz, Bárbara & Fresneda, F. 2001. Combined effects of hardening hydration-dehydration and heat shock treatments on the germination of tomato, pepper and cucumber. *Seed Sci. & Technol.* 29:691
- Sánchez, J.A.; Muñoz, Bárbara; Reino, J. & Montejo, Laura. 2003. Efectos combinados de escarificación y de hidratación parcial en la germinación de semillas envejecidas de leguminosas. *Pastos y Forrajes*. 26:27
- Sánchez, J.A.; Orta, R. & Muñoz, Bárbara. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*. 25:67

Recibido el 8 de abril del 2005

Aceptado el 15 de diciembre del 2005