



Artículo / Article

Análisis de semilla, tratamientos pregerminativos de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. y su crecimiento inicial

Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb. seed analysis, pre-germination treatments and initial growth

Héctor Viveros Viveros¹, Juan Diego Hernández Palmeros², Mario Valerio Velasco García³, René Robles Silva³, César Ruiz Montiel¹, Armando Aparicio Rentería¹, María de Jesús Martínez Hernández², Julia Hernández Villa¹ y María Luisa Hernández Hernández³

Resumen

Enterolobium cyclocarpum es utilizada en la recuperación de zonas deforestadas del bosque seco subtropical. Sin embargo, sus semillas tienen una testa dura e impermeable al agua, lo que ocasiona una germinación lenta y dispareja. Por tal motivo, antes de iniciar la producción de planta de esta especie para reforestaciones y plantaciones, se deben conocer los tratamientos pregerminativos que favorezcan su germinación. Se determinó el peso, el contenido de humedad y la viabilidad de las semillas. Los tratamientos aplicados fueron: testigo, lijado de la semilla, remojo en agua a temperatura ambiente (20 °C) por 96 h, remojo en agua caliente (75 °C) durante 4 h y remojo en ácido sulfúrico concentrado durante 30 min. Las semillas se sembraron en charolas de unicel; como sustrato una mezcla de 75 % de arena y 25 % de tierra de monte; el diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones de 100 semillas por tratamiento. Se evaluó la capacidad germinativa, germinación media diaria, valor pico y germinativo, altura y diámetro basal de las plántulas a los seis meses de edad. Existieron diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre los tratamientos evaluados en los parámetros germinativos y de crecimiento. Los mejores tratamientos pre-germinativos para la semilla de *E. cyclocarpum* fueron el remojo en ácido sulfúrico y el lijado de la semilla; sin embargo para el crecimiento en diámetro basal y altura de la plántula fueron el lijado y el remojo en agua a temperatura ambiente por 96 h.

Palabras clave: Capacidad germinativa, contenido de humedad de la semilla, germinación media diaria, peso de la semilla, valor germinativo, viabilidad de la semilla.

Abstract

Enterolobium cyclocarpum is used in the recovery of deforested areas of subtropical dry forests. However, seeds are hard-coated and impermeable to water, so that germination is slow and uneven. Therefore, before starting the production of seedlings of this species for reforestation and plantations, appropriate pre-germination treatments to encourage germination should be determined. In this study, seed weight, moisture content and viability were estimated, and pre-germination treatments applied, including: controls, sanding the seeds, and soaking the seeds in water at room temperature (20 °C) for 96 h, in hot water (75 °C) for 4 h, and in concentrated sulfuric acid for 30 minutes. The seeds were sown in Styrofoam trays, using as substrate mixture of 75 % sand and 25 % forest soil. A completely randomized design was used with four replications of 100 seeds for treatment. The germination capacity, mean daily germination, peak and germination value, height and basal diameter of seedlings at six months of age were evaluated. There were significant differences ($P < 0.0001$) among treatments for all germination and growth parameters. The best pre-germination treatments for prompt seeds germination of *E. cyclocarpum* were soaking in sulfuric acid and sanding the seed, while sanding and soaking in water at room temperature during 96 h proved best for basal diameter growth and seedling height.

Key words: Germination capacity, seed moisture content, mean daily germination, seed weight, germination value, seed viability.

Fecha de recepción/date of receipt: 27 de abril de 2014; Fecha de aceptación/date of acceptance: 3 de marzo de 2015.

¹ Instituto de Investigaciones Forestales, Universidad Veracruzana. Correo-e: heviveros@hotmail.com

² Facultad de Ciencias Agrícolas Campus Xalapa, Universidad Veracruzana.

³ Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido.

Introducción

Enterlobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb. es una especie con amplia distribución natural, desde México hasta el norte de Sudamérica, así como en Jamaica, Cuba, Trinidad y Guyana (Espejel y Martínez, 1979). En México, se le encuentra en la vertiente del Golfo de México (desde el sur de Tamaulipas hasta la Península de Yucatán), y en la del Pacífico (desde Sinaloa hasta Chiapas) (Manzanilla *et al.*, 2001).

Su importancia ecológica radica en que es utilizada en la recuperación de zonas deforestadas del bosque seco subtropical, y sirve de albergue a la fauna silvestre. Se recomienda en programas de enriquecimiento y restauración (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). Desde el punto de vista económico, la madera de *E. cyclocarpum* está considerada como preciosa, y como tal, es muy cotizada; con ella se elaboran productos que brindan bienes y servicios en las regiones rurales como leña, postes, cercas vivas, sombra, madera industrial rural, forraje y mejoradores de suelo (Espejel y Martínez, 1979; Serratos, 2000). Por sus atributos se espera que en los próximos años se apoye el establecimiento de plantaciones forestales con esta especie (Benítez *et al.*, 2004).

Sin embargo, las semillas de *E. cyclocarpum* tienen una testa impermeable al agua (latencia física) (Baskin y Baskin, 2004), lo que hace que su germinación sea lenta y dispereja. De acuerdo a la literatura existen diferentes taxa leñosos con dicha forma de latencia, como *Caesalpinia velutina* (Britton & Rose) Standl., *Leucaena*, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Mimosa aculeaticarpa* Ortega (Buch *et al.*, 1997; Young y Young, 1992).

Ante esta situación es necesario aplicar tratamientos pregerminativos para obtener una germinación rápida y uniforme pues de no hacerlo *E. cyclocarpum* tiene un porcentaje de germinación de 8 %, aproximadamente (Buch *et al.*, 1997). Por lo anterior, para que se produzca en forma masiva y se incorpore a reforestaciones y plantaciones de manera efectiva se debe identificar cuál es la mejor opción (Hernández *et al.*, 2001). Según Napier (1985) bajo condiciones naturales y con suficiente tiempo, los bloqueos a la germinación se eliminan.

Los tratamientos pregerminativos pueden consistir en la escarificación manual de la semilla, la inmersión en agua caliente o fría, en ácido sulfúrico, entre otros (Vázquez-Yanes y Pérez, 1977; Hernández y García, 1980). Su finalidad es romper la latencia inducida por la testa al ablandar, perforar, rasgar o abrirla para hacerla permeable sin dañar el endospermo y el embrión (Padilla, 1995). Algunos de ellos, aplicados en semillas de árboles aceleran y aumentan su germinación (Somarriba y Ferreiro, 1984; Hernández *et al.*, 2001); sin embargo, no todos son eficientes para cualquier especie, por lo que se debe definir el indicado para cada una.

Introduction

Enterlobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb. is a species with a wide natural distribution from Mexico to northern South America, as well as in Jamaica, Cuba, Trinidad and Guyana (Espejel and Martínez, 1979). In Mexico, it is found in the Gulf of Mexico watershed (from southern Tamaulipas to the Yucatán peninsula) and in the Pacific watershed (from Sinaloa to Chiapas) (Manzanilla *et al.*, 2001).

Its ecological importance lies in that it is used in the recovery of deforested areas of the sub-tropical dry forest and provides shelter to the wild fauna. It has been recommended in enrichment and restoration programs (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). From the economic point of view, *E. cyclocarpum* wood is regarded as precious, and as such is highly valued; products made from it to provide goods and services in rural regions include firewood, poles, living fences, shade, rural industrial wood, fodder, and soil enhancers (Espejel and Martínez, 1979; Serratos, 2000). Given its attributes, it is expected that the establishment of forest plantations of this species will be supported in the years to come (Benítez *et al.*, 2004).

Nevertheless, *E. cyclocarpum* seeds have a coat that is impermeable to water (physical latency) (Baskin and Baskin, 2004), and consequently have a slow, uneven germination. According to the literature, there are various woody species with this form of latency, such as *Caesalpinia velutina* (Britton & Rose) Standl., *Leucaena*, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit and *Mimosa aculeaticarpa* Ortega (Buch *et al.*, 1997; Young and Young, 1992).

In the face of this situation, pre-germination treatments must be applied to obtain a rapid, even germination, without which the species has a germination rate of approximately 8 % (Buch *et al.*, 1997). Therefore, it is necessary to identify the best treatments in order to attain mass germination and to effectively incorporate this species to reforestations and plantations (Hernández *et al.*, 2001). According to Napier (1985), germination blocks are removed under natural conditions and with sufficient time.

Pre-germination treatments may consist in manual scarification of the seed, immersion in hot or cold water and in sulphuric acid, among others (Vázquez-Yanes and Pérez, 1977; Hernández and García, 1980). The purpose of the treatments is to break the latency induced by the coat by softening, piercing, nicking or chipping it to make it permeable without damaging the endosperm and the embryo (Padilla, 1995). Some of these treatments applied to tree seeds accelerate and increase their germination (Somarriba and Ferreiro, 1984; Hernández *et al.*, 2001); however, not all treatments are effective for all species; therefore, the appropriate treatment for each must be defined.

Por lo antes mencionado se plantean los siguientes objetivos: determinar el tratamiento físico o químico más eficiente para la germinación de la semilla de *E. cyclocarpum* y evaluar el efecto que tiene la aplicación de tratamientos pregerminativos en el crecimiento inicial de sus plántulas.

Materiales y Métodos

Recolección de las semillas

Las semillas utilizadas en el presente estudio fueron recolectadas de marzo a mayo de 2008, en la región Costa de Oaxaca (16°27' - 15°49' N y 96°27' - 98°16' O). Para ello, se seleccionaron de 7 a 12 individuos mayores a 2 m de altura, libres de plagas y enfermedades, con fustes rectos y limpios. La recolección de frutos se hizo a partir de material depositado en el suelo, o del presente en la copa del árbol, con cuerdas y pértigas; se colocaron en costales etiquetados con la ubicación geográfica del sitio y la fecha de muestreo para ser transportadas a las instalaciones de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido.

Para extraer las semillas, los frutos se secaron al sol directo y al calor del fuego sobre un comal; una vez secos se depositaron en costales, y mediante impacto físico propinado con una pieza de madera, se les trituro. El material derivado de esta operación se vació en una superficie plástica. Las impurezas tales como semillas vanas, trozos de material vegetal y piedras fueron eliminadas de forma manual. Las semillas limpias se deshidrataron al sol para uniformizar su contenido de humedad. Posteriormente fueron almacenadas a temperatura ambiente en bolsas de plástico oscuro, previo etiquetado con los siguientes datos: fecha de recolecta y de almacenamiento, así como el lugar de colecta. Una vez extraída la semilla, se mezcló y se trasladó a un vivero de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana, en Xalapa, Veracruz.

Análisis de las semillas

Peso de la semilla. Se tomaron ocho réplicas de 100 semillas; cada una se pesó con una balanza analítica (Precisión en mg, marca *Scientech*™ modelo SA 210). Con estos valores se estimó el peso de 1 000 semillas mediante la siguiente fórmula (ISTA, 1993):

A continuación se calculó el número de semillas que contiene un kilogramo:

$$\text{Peso de 1000 semillas} = \sum \text{de los pesos de ocho repeticiones individuales} \times 1.25$$

Contenido de humedad de la semilla. El contenido de humedad de la semilla se determinó tanto en semilla entera como en semilla triturada. Para realizar la prueba se utilizaron dos

All this has led to formulate the following objectives: to determine the most effective physical or chemical treatment for the germination of *E. cyclocarpum* seeds, and evaluate the effect of pre-germination treatments on the initial growth of the seedlings.

Materials and Methods

Harvesting of seeds

The seeds utilized in the present study were harvested from March to May, 2008, on the Coast of Oaxaca (16°27' - 15°49' N and 96°27' - 98°16' W). 7 to 12 trees over 2 m of height, free of pests and diseases, and with straight, clean stems. The fruits were harvested from the ground or from the tree crown, with ropes and poles; they were placed in sacks labeled with the geographical location of the site and the sampling date, and they were subsequently transported to the facilities of the *University del Mar, Puerto Escondido Campus*.

In order to extract the seeds, the fruits were dried under direct sunlight and in the heat of fire on a hotplate; once they were dry, they were placed in sacks and crushed by physical impact with a piece of wood. The material resulting from this operation was emptied on a plastic surface. Impurities such as hollow seeds, bits of vegetal matter and rock particles and stones were manually removed. Clean seeds were dehydrated under the sunlight in order to ensure uniform moisture content. They were then stored at room temperature in dark plastic bags previously labeled with the harvesting and storage dates, as well as the harvesting site. Once the seed was extracted, it was mixed and transferred to a nursery of the *Facultad de Ciencias Agrícolas* of the *Universidad Veracruzana* in Xalapa.

Seed analysis

Seed weight. Eight reps of 100 seeds were taken in order to determine the seed weight; each seed was weighed with a SA 210 *Scientech*™ analytical scale (precision in mg). Based on these values, the weight of 1 000 seeds using the following formula (ISTA, 1993):

With this information, the number of seeds per kilogram was estimated, using the following formula:

$$\text{Weight of 1000 seeds} = \sum \text{of the weights of eight individual repetitions} \times 1.25$$

Seed moisture content. The seed moisture content was determined in both whole and crushed seeds. Two samples of seeds between 4 and 5 g were used in the test; they were placed in separate containers and were dried during 17 hours at 103 °C (ISTA, 1993) in a 05015-58 *Cole Palmer*™ oven. The seeds were subsequently placed in a desiccator, where they

muestras de semillas de entre 4 y 5 g, las cuales se colocaron en recipientes separados para secarse durante 17 h a 103 °C en un horno de secado (ISTA, 1993) marca *Cole Palmer*TM modelo 05015-58. Al término de ese período se pusieron en un desecador para enfriarlas durante 30 minutos, y después se volvieron a pesar. El porcentaje del contenido de humedad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Número de semillas por kg} = \frac{1000 \times 1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}}$$

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{(M2 - M3)}{(M2 - M1)} \times 100$$

Donde:

M1 = Peso del recipiente en g

M2 = Peso del recipiente y su contenido en g antes del secado

M3 = Peso del recipiente y su contenido en g después del secado

Viabilidad de la semilla. Las pruebas de viabilidad se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Semillas de la Gerencia Estatal de Veracruz de la Comisión Nacional Forestal, ubicado en Banderilla, Ver. Se aplicaron dos métodos: 1) Contraste con tetrazolio, y 2) Contraste por rayos X.

En el primer método se mezclaron 0.75 g de cloruro de tetrazolio (2,3,5-cloruro de trifeníl tetrazolio) de la marca Sigma[®] al 1.5 % en 500 mL de agua destilada. Se remojaron cuatro muestras de 50 semillas llenas, previamente lijadas cada una (200 en total), durante 17 h en agua destilada a temperatura ambiente; se escarificaron y se les realizó un corte longitudinal. Después, se colocaron en la solución de cloruro de tetrazolio y se dejaron 24 h a 25 °C en completa oscuridad. Con la ayuda de un microscopio de disección (Nikon, Modelo SM5 61417) se analizaron las semillas y se consideraron viables las que se tiñeron de rojo en todas sus estructuras y no viables aquellas cuya tinción fue menor a 75 % o no se tiñeron (Kolotelo *et al.*, 2001).

El segundo método consistió en radiografía de rayos X a una muestra de 10 semillas con diez repeticiones (100 semillas) mediante un equipo marca *Faxitron X-ray*[®] modelo MX-20DC4. Se empleó una placa *Plexiglas*[®] de 5 mm de grueso, de 15 x 8 cm y un área central de 7 x 2 cm donde se dispuso la muestra compuesta por 10 semillas, a las cuales se les aplicaron rayos gamma con un potencial de tubo de 26 kV por tres segundos. Las semillas viables exhibieron el desarrollo completo de sus estructuras internas y las inviables no lo mostraron, o bien presentaron daños.

Tratamientos pregerminativos

Los tratamientos pregerminativos fueron los siguientes: 1) testigo (semilla sin tratamiento); 2) lijado (se lijó la testa de

were cooled during 30 minutes and then weighed again. The moisture content percentage was estimated using the following formula:

$$\text{Number of seeds per kg} = \frac{1\,000 \times 1000}{\text{Weight in grams of 1000 seeds}}$$

$$\text{Moisture content (\%)} = \frac{(M2 - M3)}{(M2 - M1)} \times 100$$

Where:

M1 = Container's weight in g

M2 = Weight of the container and its contents in g before drying

M3 = Weight of the container and its contents in g after drying

Seed viability. Viability tests were carried out in the Seed Analysis Laboratory of the Veracruz State Management of the National Forestry Commission, located in *Banderilla, Veracruz*. Two methods were applied: 1) Tetrazolium contrast and 2) X-ray contrast.

The first method involved mixing 0.75 g of Sigma[®] brand tetrazolium chloride (2,3,5- triphenyltetrazolium chloride) at 1.5 % in 500 mL of distilled water. Four samples of 50 whole seeds (200 seeds total), each previously sanded, were soaked during 17 hours in distilled water at room temperature; they were also scarified and longitudinally cut. They were subsequently placed in the tetrazolium chloride solution and were left in complete darkness for 24 hours at 25 °C. The seeds were analyzed using a Nikon, SM5 61417 Model dissecting microscope; those seeds that were completely stained red were scored as viable, while seeds of which less than 75 % was stained or that remained unstained were scored as non-viable (Kolotelo *et al.*, 2001).

The second method consisted in applying X rays to a sample of 10 seeds with ten reps each (100 seeds total), using an MX-20DC4 model Faxitron X-ray[®]. A 15 x 18 cm and 5 mm thick *Plexiglas*[®] plate was used, and the sample was placed on a 7 x 2 cm central area. This sample consisted of 10 seeds, to which gamma rays with a tube potential of 26 kV were applied during 3 seconds. The seeds that showed complete development of their inner structures were scored as viable, while seeds that did not, or those that exhibited damage, were scored as non-viable.

Pre-germination treatments

The applied pre-germination treatments were the following: 1) control (seed without treatment); 2) sanding (the seed coat was sanded until the embryo became visible); 3) soaking in water at room temperature (20 °C) during 96 hours; 4) soaking in hot water (at 75 °C) during 4 hours; and 5) soaking in concentrated sulphuric acid (H₂SO₄) during 30 min.

las semillas hasta que se observó el embrión); 3) remojo en agua a temperatura ambiente (20 °C) durante 96 h; 4) remojada en agua caliente (a 75 °C) durante 4 h; y 5) remojo en ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado durante 30 min.

A continuación, se sembraron las semillas en charolas de unicel para germinación. El sustrato estaba formado por una mezcla de 75 % de arena y 25 % de tierra de monte. Los riegos se aplicaron para conservar la humedad suficiente y no se adicionaron fertilizantes. Se siguió un diseño experimental completamente al azar, con seis tratamientos y cuatro repeticiones de 100 semillas por cada tratamiento, lo que dio un total de 2 400 semillas.

Variables evaluadas

Se evaluaron los siguientes parámetros: la capacidad germinativa, la germinación media diaria, el valor germinativo y el valor pico. La capacidad germinativa se obtuvo como el porcentaje de semilla que germinó, con base en la cantidad de plántulas que emergieron del total sembrado durante 90 días; la germinación media diaria, al dividir los porcentajes de germinación acumulados diariamente entre la longitud en días del periodo de cada evaluación; el valor pico fue la máxima germinación acumulada y el valor germinativo se estimó mediante dos métodos, uno con la fórmula de Czabator (1962):

$$\text{Valor germinativo} = \text{Germinación media diaria} \times \text{el valor pico}$$

Y el otro, por la fórmula de Diavanshir y Pourbeik (1976):

$$\text{Valor germinativo} = \left(\sum \frac{DGS}{N} \right) \times (GP) \times (10)$$

Donde:

- DGS = Velocidad de germinación diaria
- N = Frecuencia del número de DGS que se calcularon durante la prueba
- GP = x Porcentaje de germinación al final de la prueba y 10 es una constante

Con la finalidad de evaluar el efecto de los tratamientos pre-germinativos en el crecimiento inicial de *E. cyclocarpum*, se midieron la altura total (cm) y el diámetro basal (mm) de la plántula, a los seis meses de edad.

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza para todas las variables evaluadas, incluyendo tanto los parámetros germinativos como las variables del crecimiento de las plántulas. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + T_i + E_i$$

Once the pre-germination treatments had been applied, the seeds were sown in Styrofoam trays. The substratum was a mixture of 75 % sand and 25 % forest soil. Irrigation was applied in order to maintain the appropriate moisture levels. Fertilization was not applied. A totally random experimental design was followed, with six treatments and four reps of 100 seeds per treatment, which gave a total of 2 400 seeds.

Assessed variables

The following germination parameters were assessed: germination capacity, mean daily germination, germinative value and peak value. Germination capacity was estimated as the percentage of seeds that germinated, based on the number of seedlings that emerged from the total seeds sown during 90 days. The mean daily germination was calculated by dividing the germinative percentages accumulated daily by the number of days of each evaluation period. The peak value was the maximum accumulated germination, and the germinative value was estimated using two methods, one with Czabator's formula (1962):

$$\text{Germinative value} = \text{Mean daily germination} \times \text{peak value}$$

And the other, with Diavanshir's and Pourbeik's formula (1976):

$$\text{Germinative value} = \left(\sum \frac{DGS}{N} \right) \times (GP) \times (10)$$

Where:

- DGS = Daily germination speed
- N = Frequency of the number of DGSs calculated during the test
- GP = Germination percentage at the end of the test, and 10 is a constant

In order to evaluate the effect of the pre-germination treatments on the initial growth of *E. cyclocarpum*, the total height (cm) and the basal diameter (mm) of the seedling were measured at the age of six months.

Statistical analyses

A variance analysis was carried out for all the evaluated variables, including both the germination parameters and the seedling growth variables. The model utilized was the following:

$$Y_i = \mu + T_i + E_i$$

Where:

- Y_i = Value of the ith observation
- μ = The overall mean
- T_i = The effect of the ith treatment, and
- E_i = The experimental error

Donde:

Y_i = Valor de la i -ésima observación

μ = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento y

E_i = Error experimental

En las variables que así lo requirieron se realizó una transformación con el arco seno de la raíz de los datos originales divididos entre 100.

Cuando existieron diferencias significativas entre tratamientos, se realizó la prueba de comparación de medias de *Tukey*. Los análisis se realizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (Statistical Analysis System, 2004).

Para conocer si existen diferencias estadísticas entre los tratamientos pregerminativos, a partir del conjunto de variables (capacidad germinativa, germinación media diaria, valor germinativo, valor pico, día de inicio de la germinación, día de máxima germinación, altura total y diámetro basal), se hizo un análisis multivariado de varianza (MANOVA). Asimismo, para conocer el mejor tratamiento pregerminativo, a partir del conjunto de variables, se llevó a cabo un análisis multivariado de componente principales (ACP), en combinación con un análisis de varianza (ANOVA). Al componente principal uno, como nueva variable, resultante ACP, se le realizó un ANOVA y una prueba de comparación de medias de *Tukey*. Debido a que las variables originales no tienen la misma escala de medición, se aplicó ACP a la matriz de correlación de respuestas, es decir a datos estandarizados (Johnson, 2000).

Resultados y Discusión

Análisis de semillas

Peso de la semilla. En la medición se observó que el coeficiente de variación fue menor a cuatro (valor máximo permisible establecido por el ISTA), por lo que se consideró que la muestra fue homogénea y no fue necesario tomar nuevas muestras. El peso de 1 000 semillas de *E. cyclocarpum* fue de 836.4 g, valor cercano al de Shannon *et al.* (1997) y Sautu *et al.* (2006) para la especie (892.9 y 807.8 g, respectivamente). Mientras que el número de semillas por kilogramo fue de 1 196, como lo registrado por los dos autores antes citados (1 120 y 1 238 semillas kg^{-1} , respectivamente).

Contenido de humedad de las semillas. El contenido de humedad varió de aproximadamente 9.4 a 10 %, con un promedio de 9.7 %, en semilla entera; y de casi 4.4 a 6.3 %, y un valor medio de 5.3 % en semilla triturada; por lo tanto, la media general en conjunto de ambas formas de semillas fue de 7.5 %. Los intervalos en la semilla entera de *E. cyclocarpum* quedan comprendidos entre los registrados por Buch *et al.* (1997), de 8 a 10 %, y el promedio es cercano al de Sautu *et al.* (2006) (12 %).

A transformation was carried out in those variables that required it, dividing the arcsine square root of the original data by 100.

Where significant differences existed between treatments, Tukey's mean comparison test was performed. The analyses were carried out using the SAS GLM procedure (Statistical Analysis System, 2004).

In order to find out whether there are statistical differences between the pre-germination treatments, taking into account all the variables (germination capacity, mean daily germination, germinative value, peak value, initial germination date, maximum germination date, total height and basal diameter), a multivariate analysis of variance (MANOVA) was carried out. Likewise, a multivariate principal component analysis (PCA) was performed in combination with an analysis of variance (ANOVA) in order to determine the best pre-germination treatment considering all the variables. Principal component number one, a new variable resulting from the PCA, was subjected to an ANOVA and to Tukey's mean comparison test. Because the original variables do not have the same measuring scale, a PCA was applied to the response correlation matrix, i.e. to standardized data (Johnson, 2000).

Results and Discussion

Seed analysis

Seed weight. The measurement showed that the variation coefficient was below four (maximum allowable value established by ISTA); therefore, the sample was considered to be homogenous, and it was not necessary to take new samples. The weight of 1 000 seeds was 836.4 g, a value close to those obtained by Shannon *et al.* (1997) and Sautu *et al.* (2006) for the species (892.9 and 807.8 g, respectively). While the number of seeds per kilogram was 1 196, as was registered by the two authors quoted above (1 120 and 1 238 seeds kg^{-1} , respectively).

Seed moisture content. The moisture content varied approximately from 9.4 to 10 %, with an approximate average of 9.7 % in whole seeds, and of almost 4.4 to 6.3 % and an average value of 5.3 % in crushed seeds. Therefore, the overall mean of both forms of seeds together was 7.5 %. The moisture content intervals found in the whole *E. cyclocarpum* seeds are within those registered by Buch *et al.* (1997), between 8 and 10 %, and the average is close to determined by Sautu *et al.* (2005) (12 %).

Seed viability. The viability of the *E. cyclocarpum* seeds evaluated using the tetrazolium method varied from 48 to 94 %, with an average of 75.5 % for the total 200 whole seeds tested, a figure very close to that registered by CATIE (2000) for freshly harvested seeds of this species (80 %), which means that the seed maintains a good viability.

Viabilidad de la semilla. La viabilidad de las muestras de semilla de *E. cyclocarpum* evaluadas mediante el método de tetrazolio, varió de 48 a 94 %, con un promedio de 75.5 % del total de las 200 semillas llenas probadas, cifra muy próxima a lo consignado por el CATIE (2000) en semilla recién recolectada de esta especie (80 %), lo que significa que mantiene buena viabilidad.

De un total de 10 semillas por repetición, el número medio de semillas con embriones desarrollados fue 9.8, mientras que solo dos repeticiones mostraron una semilla con embrión no desarrollado; el número promedio de semillas con cotiledones en esta condición fue de 9.3 y con cotiledones incipientes fue cercano a uno. La viabilidad de las muestras varió del 70 a 100 %, con un promedio de 98 %, que, mediante el método de tetrazolio fue menor a la estimada por el método radiográfico, mismo que refleja el estado de la semilla, pero no revela si está viva (Bonner *et al.*, 1994). El primer método da una mejor aproximación a la germinación promedio que se obtuvo de la semilla tratada con ácido sulfúrico, ya que indica el tejido vivo de la semilla.

Parámetros germinativos

Existieron diferencias significativas entre los tratamientos pregerminativos probados para todos los parámetros evaluados ($P < 0.0001$), lo que coincide con otros trabajos realizados anteriormente en *E. cyclocarpum* y otras latifoliadas (Somarriba y Ferreiro, 1984; Hernández *et al.*, 2001).

En la curva de acumulación de la germinación, como lo señala Come (1982), el porcentaje máximo se alcanza en un tiempo dado y luego se estabiliza (Figura 1). Los tratamientos de remojo de la semilla en ácido sulfúrico y de semilla lijada aceleraron el tiempo de germinación, ya que en ambos casos se inició el proceso a los siete días de sembradas. Del mismo modo, el remojo de semilla en agua caliente (75 °C) favoreció el ritmo de la misma, pues comenzó un día después de los tratamientos señalados. No se verificaron diferencias al principio de la germinación de la semilla remojada en agua a temperatura ambiente por 96 h y el testigo (aproximadamente al decimocuarto día).

En lo referente a los días que tardan en alcanzar la máxima germinación no hubo diferencias significativas entre los tratamientos probados (Figura 1). El tiempo en el que se inició la germinación de las semillas remojadas en ácido sulfúrico y las lijadas es muy similar al registrado por Hernández *et al.* (2001) en la especie de interés (séptimo día vs. sexto día), aunque la máxima tardó más tiempo en alcanzarse en la presente investigación (alrededor de 65 y 50, días) que en la de Hernández *et al.* (2001) (13 a 16 días). El inicio de la germinación de las muestras tanto del testigo, como del remojo en agua a temperatura ambiente durante 96 h se dio en el decimosegundo y

In average, 9.8 out of every 10 seeds per rep developed embryos, while only two reps exhibited each one seed with an undeveloped embryo; the average number of seeds with cotyledons in these conditions was 9.3, and the number of seeds with incipient cotyledons was close to one. The viability of the samples ranged between 70 and 100 %, with an average of 98 %; the figure estimated using the tetrazolium method was lower than the one estimated using the X-ray method, which reflects the development attained by the seed but not whether or not it is alive (Bonner *et al.*, 1994). The former method yields a better approximation to the average germination of seeds treated with sulphuric acid, as it shows the living tissue of the seeds.

Germination parameters

There were significant differences between the pre-germination treatments tested for all the evaluated parameters ($P < 0.0001$), which coincides with other works carried out previously in *E. cyclocarpum* and other broadleaves (Somarriba and Ferreiro, 1984; Hernández *et al.*, 2001).

In the accumulation curve of the germination, as Come (1982) points out, the maximum germination percentage is achieved at a given time and subsequently becomes stable (Figure 1). Soaking in sulphuric acid and sanding accelerated seed germination; in both cases the process was initiated seven days after sowing. Likewise, soaking the seeds in hot water (75 °C) favored the germination speed, as germination began one day later than with the abovementioned treatments. No differences in regard to the onset of germination were found between the seeds soaked in water at room temperature during 96 hours and the controls (approximately on the fourteenth day).

In regard to the number of days necessary to reach the maximum germination, there were non-significant differences (Figure 1). The initial germination time of seeds soaked in sulphuric acid and sanded in the present research is very similar to that registered by Hernández *et al.* (2001) in the species of interest (seventh day vs. sixth day), although the maximum germination time in this research was longer than recorded by Hernández *et al.* (2001) (approximately 65 and 50 vs. 13 to 16 days, respectively). Both the controls and the seeds soaked in water at room temperature during 96 hours began germinating on the twelfthth and thirteenthth day, respectively; Chakko and Chandrasekhara (1997) point out that freshly harvested seeds without any pre-germination treatment (controls) began germinating on the fourteenth day, and the seeds soaked in running water germinated four days after they were sown. The difference between their research and the present one may be derived from the fact that they used "fresh" seeds, while this study was carried out with seeds under conservation and therefore agrees with the statement by Buch *et al.* (1997) in the sense that the germination speed of the *E. cyclocarpum* seeds diminishes after three months of storage.

decimotercer día, respectivamente; Chakco y Chandrasekhara (1997) indican que para material recién recolectado de la especie y sin ningún tratamiento pregerminativo (testigo) este momento se verificó a los 14 días y en el tratamiento de remojo en agua potable, a los cuatro días a partir de la siembra; la diferencia entre tal trabajo y el actual puede deber a que ellos utilizaron semillas "frescas" y en este estudio se manejaron semillas bajo conservación, lo que coincide con lo planteado por Buch *et al.* (1997) en el sentido de que la velocidad de germinación de la semilla de *E. cyclocarpum* disminuye después de tres meses de almacenamiento.

En lo referente a la capacidad germinativa, los tratamientos de remojo en ácido sulfúrico, agua caliente y lijado tuvieron

In regard to the germination capacity, soaking in sulphuric acid or in hot water and sanding were the treatments that yielded the highest percentages. Although the second scored an acceptable value, it was not as effective as the first and the third, having taken longer to attain that value, while the control had the lowest percentages (Table 1). Hernández *et al.* (2001) confirmed that the best results came from sanding and soaking into sulphuric acid for 35 min; and from soaking into sulphuric acid for 45 min with a germinative capacity of 98, 92 and 87 %, respectively. These data are similar to those found in the present research, particularly if we consider that did not include soaking in hot water. Somarriba and Ferreiro (1984) also registered similar values, namely, 87 and 83 %, respectively for seeds soaked in sulphuric acid and in boiling water; they found no significant differences between the seeds soaked in water at room temperature during 24 hours and the controls. Buch

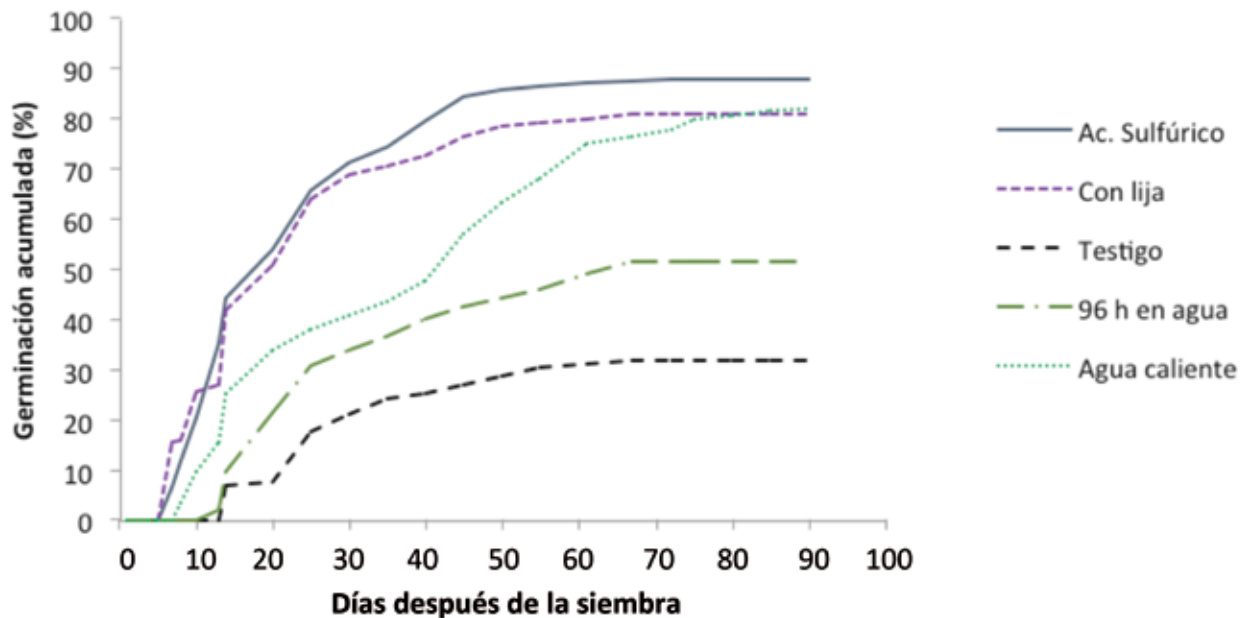


Figura 1. Germinación diaria acumulada de la semilla de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. procedente de la Costa de Oaxaca.

Figure 1. Daily accumulated germination of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. seeds from the Coast of Oaxaca.

los mayores porcentajes. El segundo, aunque registró un valor aceptable, no resultó tan efectivo como los otros dos por el tiempo requerido para alcanzar tal valor, mientras que el testigo tuvo los porcentajes más bajos (Cuadro 1). Hernández *et al.* (2001) confirmaron que los mejores resultados se obtuvieron con el lijado de la semilla y la inmersión en ácido sulfúrico por 35 min; y la inmersión de ácido sulfúrico por 45 min, con una capacidad germinativa de 98, 92 y 87 %, respectivamente, lo cual es similar a los porcentajes del presente trabajo, sobre todo si se considera que ellos no incluyeron el remojo en agua caliente. Algo semejante registran Somarriba y Ferreiro (1984), que la inmersión de semillas en ácido sulfúrico y en agua en ebullición, tratamientos con los cuales se alcanzó una capacidad

et al. (1997) declared that *E. cyclocarpum* seeds soaked in hot water (100 °C) exhibited a germination capacity of 44 to 53 %, vs. 6 to 11 % for the controls (seeds without treatment).

Soaking the seeds in sulphuric acid was the treatment that yielded the highest mean daily germination, while the control had the lowest value (Table 1). Sulphuric acid and sanding exhibited the highest peak values and germinative values in the estimates of both Czabator (1962) and Diavanshir and Pourbeik (1976). The results for seeds soaked in water at room temperature during 96 hours did not differ from those obtained with the controls and generated the lowest peak values according to Czabator (1962) and to Diavanshir and Pourbeik

germinativa de 87 y 83 %, respectivamente; además no detectaron diferencias significativas entre el remojo de semillas en agua a temperatura ambiente por 24 h y el testigo. Buch *et al.* (1997) declararon que las semillas de *E. cyclocarpum* remojadas en agua caliente a 100 °C tuvieron una capacidad germinativa de 44 a 53 % vs. de 6 a 11 % para el testigo (sin tratamiento).

El remojo de la semilla en ácido sulfúrico propició la mayor germinación media diaria, mientras que el testigo fue el del valor más bajo (Cuadro 1). El de ácido sulfúrico y el de lijado presentaron los más altos valores pico y valores germinativos, tanto los estimados según Czabator (1962) como los de Diavanshir y Pourbeik (1976). El de remojo de semilla por 96 h en agua a temperatura ambiente no se diferenció del testigo, y generaron los menores valores pico y los germinativos según Czabator (1962) y Diavanshir y Pourbeik (1976) (Cuadro 1). Buch *et al.* (1997) calcularon valores germinativos [estimados según Diavanshir y Pourbeik (1976)] superiores en semilla remojada en agua caliente (100 °C) que en el material sin tratamiento alguno (testigo).

(1976) (Table 1). Buch *et al.* (1997) found higher germinative values [estimated based on the findings of Diavanshir and Pourbeik (1976)] in seeds soaked in hot water (100 °C) than in those seeds that received no treatment (controls).

The good results yielded by the pre-germination treatments of immersion of the seeds in sulphuric acid, sanding and soaking in hot water may be explained by the fact that the acid thins the seed coat, sanding reduces its mechanical resistance, and hot water softens it and puts pressure on the physical barrier of macrosclereids, connecting the intercellular spaces. These treatments allow or facilitate the contact between the water and the embryo and stimulate the development of the latter. Furthermore, sulphuric acid and hot water can eliminate and wash away the germination inhibitors that are present in the seed coat, thus favoring seed germination (Kramer and Kozlowski, 1979).



Cuadro 1. Valores promedios de los parámetros germinativos y agrupamiento Tukey ($\alpha = 0.05$) de seis tratamientos pregerminativos en semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Tratamientos pregerminativos	Parámetros germinativos				
	CG	GMD	VP	VGI	VG2
Ácido sulfúrico	83.00a	1.10a	3.21a	3.52a	0.38a
Agua caliente	82.00a	0.91b	2.08b	1.89b	0.15b
Lijado	81.00a	0.90b	3.34a	2.98a	0.31a
96 h en agua	51.75b	0.57c	1.37bc	0.80c	0.07c
Testigo	33.00c	0.35d	0.83c	0.30c	0.01c

Los tratamientos se ordenaron de mayor a menor capacidad germinativa; CG = Capacidad germinativa; GMD = Germinación media diaria; VP = Valor pico; VGI = Valor germinativo según Czabator (1962); VG2 = Valor germinativo según Diavanshir y Pourbeik (1976).

Table 1. Average values for the germination parameters and Tukey grouping ($\alpha = 0.05$) of six pre-germination treatments in *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. seeds.

Pre-germination treatments	Germination parameters				
	GC	MDG	PV	GV1	GV2
Sulphuric acid	83.00a	1.10a	3.21a	3.52a	0.38a
Hot water	82.00a	0.91b	2.08b	1.89b	0.15b
Sanding	81.00a	0.90b	3.34a	2.98a	0.31a
96 h in water	51.75b	0.57c	1.37bc	0.80c	0.07c
Control	33.00c	0.35d	0.83c	0.30c	0.01c

The treatments are listed in descending order of germination capacity; GC = Germination capacity; MDG = Mean daily germination; PV = Peak value; GV1 = Germinative value according to Czabator (1962); GV2 = Germinative value according to Diavanshir and Pourbeik (1976).

Los buenos resultados que arrojaron los tratamientos pregerminativos de inmersión de la semilla en ácido sulfúrico, lijado y remojo en agua caliente se pueden explicar porque el ácido adelgaza la testa de la semilla, el lijado reduce la resistencia mecánica de la testa y el agua caliente ablanda la testa al mismo tiempo que presiona la barrera física de las macroesclereidas, de modo que los espacios intercelulares quedan conectados; estos tratamientos, por lo tanto, permiten o facilitan el contacto del agua con el embrión y estimulan su desarrollo. Además, el ácido sulfúrico y el agua caliente elimina y lava los inhibidores de los inhibidores de la germinación presentes en la cubierta de la semilla, lo que favorece la germinación (Kramer y Kozlowski, 1979).

Crecimiento de plántulas

Existieron diferencias significativas entre los tratamientos pregerminativos para las variables del crecimiento ($p < 0.0001$). De manera similar, Sánchez y Ramírez (2006) confirmaron lo anterior en el crecimiento en altura de plántulas de *Leucaena leucocephala* evaluadas al mes de edad.

El lijado mostró el mayor promedio a los seis meses de edad, mientras que el remojo de la semilla en agua caliente tuvo los valores más bajos (Cuadro 2). Es interesante observar que a pesar de que la semilla lijada y la remojada en ácido sulfúrico por 30 min germinan al mismo tiempo, las plántulas que se originaron a partir de las primeras superaron en altura a las segundas; no obstante que el testigo comenzó a germinar siete días más tarde que la semilla remojada en ácido sulfúrico, en agua caliente y la lijada, las plántulas que surgieron de ellas se reponen al retraso en la germinación, y no mostraron diferencias significativas en el crecimiento en altura con respecto a las plántulas procedentes de las semillas remojadas en ácido, lo que se puede deber a que el testigo, al tener menor capacidad germinativa, dio lugar a una menor cantidad de plántulas, con lo que se favoreció el crecimiento de las mismas al tener menor competencia por la luz.

De igual forma, en lo referente al crecimiento en diámetro basal, la semilla lijada favoreció las plántulas con el mayor valor promedio, seguido por el testigo, y el remojo de la semilla en agua caliente presentó los menores valores (Cuadro 2). Las diferencias existentes en el crecimiento de las plántulas según el tratamiento pregerminativo, se explican como una consecuencia de estos sobre la velocidad de germinación: es decir, en los primeros meses las plantas provenientes de semillas que germinaron más rápido tuvieron una altura mayor, sin embargo con el tiempo el crecimiento se va homogenizando y van desapareciendo las diferencias, debido a la buena calidad de la semilla que origina plántulas normales y con el tiempo tiende a homogenizar el crecimiento (Sánchez y Ramírez, 2006). Las diferencias se evidencian durante la primera etapa de crecimiento de las plántulas, pero tal superioridad no persiste en los periodos de crecimiento posterior.

Seedling growth

There were significant differences between the pre-germination treatments for the growth variables ($p < 0.0001$). Likewise, Sánchez and Ramírez (2006) confirmed differences in growth in height between *Leucaena leucocephala* seedlings evaluated at the age of one month.

Sanding exhibited the highest average at the age of six months, while the soaking of the seeds in hot water had the lowest values (Table 2). It is interesting to observe that, although both the sanded seeds and the seeds soaked in sulphuric acid during 30 minutes germinated at the same time, the seedlings from the former grew higher than those of the latter, and although the controls began to germinate seven days later than the seeds that were sanded or soaked in sulphuric acid or hot water, the seedlings from the controls caught up from the delay in their germination and showed no significant differences in growth in height compared to the seedlings from seeds soaked in acid; this may be due to the fact that the controls, having a lower germination capacity, yielded a smaller number of seedlings, which favored the growth of these, as they had less competition for sunlight.

Likewise, in regard to basal diameter growth, the sanded seeds yielded the seedlings with the highest average value, followed by the controls, while the seeds soaked in hot water exhibited the lowest values (Table 2). The differences in seedling growth according to the pre-germination treatment may be explained as a consequence of these treatments on the germination speed, i.e. during the first months the plants from those seeds that germinated most quickly attained the largest height; however, with the passage of time the growth becomes homogenous and these differences disappear, due to the good quality of the seeds that yield normal seedlings and whose growth is homogenized in time (Sánchez and Ramírez, 2006). Thus, differences are visible during the first stage of growth of the seedlings but do not persist during the later stages. Finally, the results found in this work may be helpful for making decisions when initiating *E. cyclocarpum* production in the nursery and for the establishment of plantations or reforestation programs, as well as for future research.

Multivariate analysis

All the statistics of the multivariate analysis showed highly significant statistical differences ($p < 0.0001$) between the germination treatments (Table 3), which confirms the results generated by the univariate analysis (ANOVA) carried out separately for each variable. This means that, based on the germination parameters including the initial date and the maximum germination date, as well as the height and diameter at the age of six months, the pre-germination treatments are statistically different.

Cuadro 2. Valores promedio del crecimiento en altura, en diámetro basal a los seis meses de edad y agrupamiento Tukey ($\alpha = 0.05$) de seis tratamientos pregerminativos en semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Tratamientos pre-germinativos	Parámetros del crecimiento	
	Altura (cm)	Diámetro (mm)
Lijado	16.33a	3.33a
Testigo	15.09b	3.08b
Ácido sulfúrico	14.89b	2.73c
96 h en agua	14.70bc	2.64c
Agua caliente	14.01c	2.62c

Table 2. Average values for growth in height and in basal diameter at the age of six months and Tukey grouping ($\alpha = 0.05$) of six pre-germination treatments in *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. seeds.

Pre-germination treatments	Growth parameters	
	Height (cm)	Diameter (mm)
Sanding	16.33a	3.33a
Control	15.09b	3.08b
Sulphuric acid	14.89b	2.73c
96 h in water	14.70bc	2.64c
Hot water	14.01c	2.62c

Análisis multivariado

Todos los estadísticos del análisis multivariado mostraron diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0.0001$) entre los tratamientos germinativos (Cuadro 3), lo que reafirma los resultados generados por el análisis univariado (ANOVA) de cada variable por separado. Esto significa que, con base en los parámetros germinativos, incluidos los días de inicio y de máxima germinación, así como la altura y diámetro a los seis meses, los tratamientos pregerminativos son estadísticamente diferentes entre sí.

Principal component one, considered as a new variable resulting from the multivariate principal component analysis, included 64.44 % of the total variability of the original variables. The analysis of variance of this component showed statistically significant differences ($p < 0.0001$) between the pre-germination treatments. Tukey's mean comparison for this component suggests that sanding was the best treatment, although it was statistically equal to soaking in sulphuric acid, while the other treatments yielded lower values (Table 4).

Cuadro 3. Análisis multivariado de varianza (MANOVA) de parámetros germinativos y de crecimiento de seis tratamientos pregerminativos en semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Estadístico	Valor	F	gl (numerador)	gl (denominador)	P
Lambda de Wilks	0.248E-5	17.980	45	47.835	<0.0001
Traza de Pillai	3.862	5.280	45	70.000	<0.0001
Traza de Hotelling-Lawley	351.746	69.800	45	19.198	<0.0001
Raíz mayor de Roy	307.034	477.610	9	14.000	<0.0001



Table 3. Multivariate analysis of variance (MANOVA) of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. seed germination and growth parameters for six pre-germination treatments.

Statistic	Value	F	fd (numerator)	fd (denominator)	P
Wilks' Lambda	0.248E-5	17.980	45	47.835	<0.0001
Pillai's trace	3.862	5.280	45	70.000	<0.0001
Hotelling-Lawley trace	351.746	69.800	45	19.198	<0.0001
Roy's largest root	307.034	477.610	9	14.000	<0.0001

El componente principal uno, como nueva variable, resultado del análisis multivariado de componentes principales, incluyó 64.44 % de la variabilidad total de las variables originales. El análisis de varianza de dicho componente mostró diferencias estadísticas significativas ($p < 0.0001$) entre los tratamientos pregerminativos. La comparación de medias de Tukey del mismo sugiere que el lijado fue el mejor, aunque fue estadísticamente igual que el ácido sulfúrico, mientras que los demás tratamientos tuvieron valores inferiores (Cuadro 4).

En el análisis univariado, el tratamiento de ácido sulfúrico tuvo los mayores valores en los parámetros germinativos, comparado con el de lijado; sin embargo, este último tuvo los valores más altos para las variables de altura y diámetro basal. Dichas diferencias hacen que al tratamiento de lijado le corresponda el valor máximo en la variable componente principal uno.

El resultado de la comparación de medias de Tukey del componente principal uno, permite recomendar al lijado como el mejor tratamiento pregerminativo para semillas de *E. cyclocarpum*, aunque presenta menores valores de los parámetros germinativos, comparados con el tratamiento de ácido sulfúrico, presenta mayores valores en crecimiento de altura y diámetro basal. Asimismo, el tratamiento de lijado presenta mayores ventajas ecológicas sobre el tratamiento de ácido sulfúrico.

Cuadro 4. Valores promedios del componente principal uno y agrupamiento de Tukey ($\alpha = 0.05$) de seis tratamientos pre-germinativos en semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Tratamiento	Componente principal uno	
Lijado	3.003	A
Ácido sulfúrico	2.748	A
Agua caliente	0.523	B
96 h en agua	-1.254	C
Testigo	-1.872	C

In the univariate analysis, the pre-germination treatment with sulphuric acid exhibited the highest values in the germination parameters, compared to sanding. However, sanding yielded the highest values for the variables of height and basal diameter. Because of these differences, the sanding pre-germination treatment has a higher value for principal component one.


The result of Tukey's mean comparison for principal component one allows recommending sanding as the best pre-germination treatment for *E. cyclocarpum* seeds, for, although it exhibits lower values for the germination parameters compared to the treatment with sulphuric acid, it shows higher values for growth in height and in basal diameter. Furthermore, the sanding treatment provides higher environmental benefits than the treatment with sulphuric acid.

Table 4. Average values of principal component one and Tukey grouping ($\alpha = 0.05$) of six pre-germination treatments in *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. seeds.

Treatment	Principal component one	
Sanding	3.003	A
Sulphuric acid	2.748	A
Hot water	0.523	B
96 h in water	-1.254	C
Control	-1.872	C



Conclusiones

Los mejores tratamientos fueron el lijado y el remojo de la semilla en ácido sulfúrico para efectos de germinación. Para crecimiento en diámetro basal y altura de la plántula, el primero fue el más exitoso. Por lo tanto, al integrar los resultados de la germinación y el crecimiento de las plántulas, se puede establecer que el mejor tratamiento fue el lijado de la semilla, por lo cual puede ser utilizado como una alternativa por los viveristas para el manejo de *Enterolobium cyclocarpum*. Finalmente, los resultados encontrados en este trabajo pueden servir para la toma de decisiones al momento de iniciar la producción de *E. cyclocarpum* en vivero y para el establecimiento de plantaciones o programas de reforestación, además de futuras investigaciones. 

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución por autor

Héctor Viveros Viveros: director y responsable del experimento, contribución en la idea inicial del experimento, definición de los tratamientos por probar y del diseño experimental, establecimiento del experimento, realización de los análisis estadísticos univariados, estructuración del manuscrito; Juan Diego Hernández Palmeros: establecimiento del experimento y realización de las mediciones en vivero; Mario Valerio Velasco García: Co-responsable del experimento, contribución en la idea inicial del experimento, definición de los tratamientos a probar y realización de los análisis estadísticos multivariados; René Robles Silva: recolección y beneficio de la semilla; César Ruiz Montiel: definición de los tratamientos por probar, encargado de conseguir el sitio del experimento además del sustrato y de las sustancias químicas utilizadas en los tratamientos aplicados; Armando Aparicio Rentería: encargado de conseguir el sustrato y las sustancias químicas utilizadas en los tratamientos aplicados; María de Jesús Martínez Hernández: mediciones en vivero; Julia Hernández Villa: realización de las pruebas de laboratorio; María Luisa Hernández Hernández: recolección y beneficio de la semilla.


Agradecimientos

Los autores agradecen a la Comisión Nacional Forestal en el estado de Veracruz por su apoyo con instalaciones, material y asesoría en la realización de las pruebas de viabilidad, peso y contenido de humedad de las semillas. A los dueños y poseedores de los predios por permitir la recolecta de semillas.

Referencias

- Baskin, J. M. and C. C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-17.
- Benítez B., G., M. T. P. Pulido S. y M. Equihua Z. 2004. Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación: restauración y plantaciones. Instituto de Ecología, A.C. SIGOLFO, Comisión Nacional Forestal. Xalapa, Ver., México. 288 p.
- Bonner, F. T., J. A. Vozzo, W. W. Elam and S. B. Land. 1994. Tree seed technology training course. Instructor's Manual. USDA Forest Service. Southern Forest Experiment Station. New Orleans, LA, USA. General Technical Report SO-106. 160 p.
- Buch, M. S., L. F. Jara y E. Franco. 1997. Viabilidad de semillas pre tratadas de *Caesalpinia velutina* (B. & R.) Standl., *Enterolobium cyclocarpum* (L.) Griseb. y *Leucaena leucocephala* (Lamb.) de Wit. *Boletín de Mejoramiento Genético y Semillas Forestales* 18: 8-14.

Conclusions

The best treatments to enhance germination were sanding and soaking the seeds in sulphuric acid. The first treatment proved the more successful of the two for seedling growth in basal diameter and height. Therefore, integration of the results for seed germination with those for seedling growth may establish seed sanding as the best treatment. Sanding may therefore be used by nursery farmers as an option for the management of *Enterolobium cyclocarpum*. 

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Contribution by author

Héctor Viveros Viveros: director and responsible for the experiment, contribution to its original conception, definition of treatments to be proved and of the experimental design; establishment of the experiment, performance of the univariate statistical analysis and structuring of the manuscript; Juan Diego Hernández Palmeros: establishment of the experiment and measurements at the nursery; Mario Valerio Velasco García: Co-responsible of the experiment, contribution to its original conception, definition of treatments to be proved and of the experimental design; establishment of the experiment, performance of the multivariate statistical analysis; René Robles Silva: seed collection and handling; César Ruiz Montiel: definition of treatments to be proved, in charge of finding the place to carry out the experiment as well as the substrate and the chemicals used in the treatments; Armando Aparicio Rentería: in charge of getting the substrates and the chemicals for the treatments; María de Jesús Martínez Hernández: measurements at the nursery; Julia Hernández Villa: laboratory tests; María Luisa Hernández Hernández: seed collection and handling.

Acknowledgements

The authors wish to express our gratitude to the *Comisión Nacional Forestal del estado de Veracruz* for their support with facilities, materials and counseling in the conduction of seed viability, weight and moisture content tests, and to the owners and holders of the plots for having allowed us to harvest the seeds.

End of the English version



- Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanzas (CATIE). 2000. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. In: Salazar R., F. (coord. téc.). C. Soihet y M. J. Méndez (comps. téc.). Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Sanidad Forest Seed Centre. Nota Técnica No. 25. Turrialba, Costa Rica. pp. 49-50.
- Chacko, K. C. and P. K. Chandrasekhara P. 1997. Storage and hot-water treatments enhance germination of Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) seeds. *International Tree Crops Journal* 9:103-107.
- Come, D. 1982. Germination. In: Mazliak, P. (ed.). *Croissance et développement. Collection méthodes*. Paris, France. pp. 129-225.
- Czabator, F. J. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science* 8 (4):386-396.

- Diavanshir, K. and H. Pourbeik. 1976. Germination value -a new formula. *Silvae Genetica* 25 (2):79-83.
- Espejel, I. y E. Martínez. 1979. El guanacaste. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Botánicos. Comunicado 33. Jalapa, Ver., México. 4 p.
- Hernández G., R. and F. García. 1980. Anatomical changes and in the storage substances during the process of water uptake of *Enterolobium cyclocarpum* seeds. *Acta Científica Venezolana* 31 (2):167-73.
- Hernández V., G., L. R. Sánchez V. y F. Aragón. 2001. Tratamientos pregerminativos en cuatro especies arbóreas de uso forrajero de la selva baja caducifolia de la sierra de Mazatlán. *Foresta Veracruzana* 3 (1):9-15.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1993. International Rules for Seed Testing Rules 1993. *Seed Science and Technology* 21: Supplement. pp.1-75.
- Johnson, D. E. 2000. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. International Thomson Editores, S. A. de C. V. México, D. F., México. 566 p.
- Kramer, P. J. and T. Kozłowski. 1979. *Physiology of woody plants*. Academic Press. New York, NY, USA. 826 p.
- Kolotelo, D., E. V. Steenis, M. Peterson, R. Bennett, D. Trotter and J. Dennis. 2001. Seed handling guidebook. Ministry of Forests. British Columbia, Canada. 106 p.
- Manzanilla B., H., M. Martínez D. y A. Moreno M. 2001. Monografías de especies nativas promisorias para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales en Jalisco: cedro rojo y rosa morada. Programa de Desarrollo Forestal de Jalisco. Documento Técnico 31. Guadalajara, Jal., México. pp. 51-73.
- Napier, I. 1985. Técnicas de viveros forestales con referencia especial a Centroamérica. Escuela Nacional de Ciencias Forestales. Siguatepeque, Honduras. 274 p.
- Padilla, M. 1995. Tratamientos pregerminativos. In: Trujillo, E. (ed.). Memoria del curso nacional de recolección y procesamiento de semillas forestales. CATIE-PROSEFOR. Turrialba, Costa Rica. pp. 1-6.
- Sánchez P., Y. y M. Ramírez V. 2006. Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía Luz* 23: 257-262.
- Statistical Analysis System (SAS). 2004. SAS/STAT 9.1 User's guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. n/p.
- Sauto, A., J. M. Baskin, C. C. Baskin and R. Condit. 2006. Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Forest Ecology and Management* 234:245-263.
- Serratos A., J. C. 2000. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis de doctorado. Universidad de Colima. Postgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Tecoman, Col., México. 76 p.
- Shannon, D. A., L. Isaac and F. E. Brockman. 1997. Assessment of hedgerow species for seed size, stand establishment and seedling height. *Agroforestry Systems* 35: 95-110.
- Somarriba, E. y O. Ferreira. 1984. Efecto de tres tratamientos pregerminativos sobre la germinación y viabilidad de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. *Turrialba* 34 (1):99-101.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis M., M. I. Alcocer S., M. Cual D. y C. Sánchez D. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto JO84. CONABIO - Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., México. pp. 161-164.
- Vázquez-Yanes, C. y B. Pérez G. 1977. Notas sobre la morfología, la anatomía de la testa y la fisiología de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*. *Turrialba* 27:427-430.
- Young J. A. and C. G. Young. 1992. *Seeds of woody plants in North America*. Dioscorides Press, Portland, OR, USA. 407 p.

